

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



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA  
IN VITRO DE LA INFUSIÓN DE HOJA DE GUAYABA  
(*Psidium guajava*, L.) SOBRE LAS PRINCIPALES  
BACTERIAS QUE CAUSAN ENTERITIS EN LECHONES”**

**ANA GABRIELA SURUY ECHEVERRÍA**

**Médica Veterinaria**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2013**



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



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO*  
DE LA INFUSIÓN DE HOJA DE GUAYABA (*Psidium guajava*, L.)  
SOBRE LAS PRINCIPALES BACTERIAS QUE CAUSAN  
ENTERITIS EN LECHONES”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

**POR**

**ANA GABRIELA SURUY ECHEVERRÍA**

Al conferírsele el título profesional de

**MÉDICA VETERINARIA**

En el grado de Licenciado

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2013**

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

DECANO: MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez  
SECRETARIA: M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo  
VOCAL I: Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo  
VOCAL II: MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno  
VOCAL III: M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco  
VOCAL IV: Br. Javier Augusto Castro Vásquez  
VOCAL V: Br. Juan René Cifuentes López

**ASESORES**

M.A. DORA ELENA CHANG CHANG DE JO  
M.V. BLANCA JOSEFINA ZELAYA DE ROMILLO  
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 ANTIMICROBIANA *IN VITRO*  
DE LA INFUSIÓN DE HOJA DE GUAYABA (*Psidium guajava*, L.)  
SOBRE LAS PRINCIPALES BACTERIAS QUE CAUSAN  
ENTERITIS EN LECHONES”**

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

Como requisito previo a optar al título profesional de:

**MÉDICA VETERINARIA**

## DEDICATORIAS

### **A DIOS:**

Nuestro Señor, por guiarme en cada uno de los pasos que he dado en todo este tiempo y permitirme en este día hacer realidad mi sueño, porque ha estado conmigo siempre como mi fiel amigo y consejero.

### **A MIS PADRES:**

Verónica Echeverría de Suruy y Juan Suruy (†), porque además de ser mis amigos me brindaron su gran apoyo en este largo camino que un día en su compañía decidí empezar, y que hoy culmina; y porque a pesar de las pruebas en nuestras vidas son dos personas luchadoras y valientes que me han demostrado su amor incondicional. Gracias por todos los sacrificios realizados a lo largo de mi carrera y que el día de hoy tienen un fruto.

### **A MI HERMANA:**

Sarvia, por ser mi amiga y consejera a lo largo de este camino; y por enseñarme el valor de seguir adelante en todo momento.

### **A MIS HERMANOS:**

En especial a Andrés Gabriel (†) por haberme enseñado el verdadero amor, paciencia y bondad, así como el valor para luchar por lo que nos proponemos. También a Ariel Esaú, Aziel Isaí y Aziel Isaac Suruy Echeverría por su inmenso amor, apoyo y paciencia.

**A MIS TÍOS:**

Roxana y Nino Contreras, Elvira Soto-Vilar, por su apoyo y cariño incondicional a lo largo de mi carrera.

**A MIS AMIGOS:**

Por brindarme su amistad, gran cariño y apoyo en los momentos alegres y difíciles en el cumplimiento de esta meta y por enseñarme el verdadero valor de la amistad, en especial a Marisol y Mariluz Pineda, Sofía Torres, Deborah Llerena, Carlos Pimentel, Diego Portillo, Margarita Cifuentes, Abraham Nieves, Cristina Flores, Ana Lucia Soto, Karla Cruz, Alejandra Salazar, Víctor Girón, Andrea Polanco y Conrado Marroquín.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS:**

Nuestro Señor, por enseñarme que de Él depende mi vida y por permitirme este día llegar al final de mi meta propuesta.

### **A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:**

Por haberme abierto sus puertas dándome la oportunidad de estudiar Medicina Veterinaria

### **A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA:**

Por ser mi lugar de estudios durante este tiempo así como proporcionarme los instrumentos necesarios para iniciar y concluir mi carrera; así como abrirme sus puertas y darme la oportunidad de un empleo.

### **A MIS PADRES Y HERMANOS:**

Por haberme enseñado a estar en los caminos de Dios; por enseñarme a ser valiente y descansar en los brazos de Nuestro Señor Jesucristo. Porque son mi apoyo moral e incondicional.

### **A MIS CATEDRÁTICOS Y AMIGOS:**

Quienes compartieron conmigo sus conocimientos y experiencias; así como brindarme su apoyo en cada momento, especial a M.V. Griselda Arizandieta, M.V. Fredy González, Lic. Zoot. Amílcar Dávila, M.V. Beatriz Santizo, M.V. Wilson Valdéz y M.V. Renato Saravia.

**A MIS ASESORES DE TESIS:**

M.V. Dora Elena Chang, M.V. Blanca Josefina de Romillo y M.A. Jaime Méndez Sosa, por su tiempo, apoyo y paciencia para la realización de este estudio.

**A MIS PADRINOS DE GRADUACIÓN:**

M.V. Mario Llerena Quan, M.V. Leonardo Estrada Girón y M.C. Manuel Román Miranda por su amistad y apoyo incondicional, así como de las enseñanzas y experiencias compartidas.

**A LABORATORIO DE CITOHIISTOLOGIA (FCQF):**

En especial a Lic. QB. Armando Cáceres y Licda. QB. Isabel Gaitán por brindarme su asesoría y apoyo en la realización de mi estudio.

**A LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA (FMVZ):**

En especial al técnico Martín Cutzán por su ayuda y colaboración en la realización de este trabajo.

**A LABORATORIO DE ANATOMIA (FMVZ):**

Que más que un lugar de trabajo, es un lugar de donde me llevo amistad y enseñanzas; agradezco el apoyo que me brindaron especialmente a M.V. Mario Llerena y M.V. Leonardo Estrada.

**A:**

Wendy Maldonado, Moisés Alvarado, José Castañeda, Cory Cardona, Francisco Fuentes y Eduardo Andrés Rivera por su amistad.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	HIPÓTESIS.....	3
III.	OBJETIVOS.....	4
	3.1 General.....	4
	3.2 Específicos.....	4
IV.	REVISION DE LITERATURA.....	5
	4.1 Enteritis en lechones.....	5
	4.1.1 Adquisición de la inmunidad pasiva.....	6
	4.1.2 Establecimiento y composición de las especies de la microflora intestinal del cerdo: Desarrollo de la microflora en lechón.....	8
	4.1.3 Destete.....	9
	4.2 Colibacilosis neonatal.....	10
	4.2.1 Sinónimos.....	11
	4.2.2 Epidemiología.....	11
	4.2.3 Prevalencia.....	12
	4.2.4 Características microbiológicas.....	12
	4.2.5 Patogénesis.....	13
	4.2.6 Enterotoxinas y mecanismo de acción.....	14
	4.2.7 Signos clínicos.....	15
	4.2.8 Lesiones.....	16
	4.2.9 Diagnóstico.....	16
	4.2.10 Diagnóstico Diferencial.....	17
	4.2.11 Tratamiento.....	18
	4.2.12 Prevención.....	18
	4.2.13 Inmunidad.....	19
	4.3 Salmonelosis.....	20

4.3.1	Sinónimos.....	21
4.3.2	Epidemiología.....	22
4.3.3	Características microbiológicas.....	23
4.3.4	Patogénesis.....	24
4.3.5	Signos clínicos.....	24
4.3.6	Lesiones.....	25
4.3.7	Diagnóstico.....	26
4.3.8	Diagnóstico Diferencial.....	26
4.3.9	Tratamiento.....	27
4.3.10	Control y Prevención.....	27
4.3.11	Inmunidad.....	28
4.4	Infección por <i>Clostridium perfringens</i> (Enterotoxemia).....	29
4.4.1	Sinónimos.....	29
4.4.2	Epidemiología.....	29
4.4.3	Características microbiológicas.....	30
4.4.4	Enterotoxinas y mecanismo de acción.....	30
4.4.5	Patogénesis.....	31
4.4.6	Signos clínicos.....	31
4.4.7	Lesiones.....	33
4.4.8	Diagnóstico.....	33
4.4.9	Tratamiento.....	34
4.4.10	Prevención (Inmunidad).....	34
4.5	Guayaba.....	36
4.5.1	Sinónimos.....	36
4.5.2	Nombres populares.....	36
4.5.3	Descripción botánica.....	36
4.5.4	Hábitat.....	37
4.5.5	Historia.....	37
4.5.6	Agricultura.....	38

4.5.7	Antecedentes históricos.....	39
4.5.8	Composición química.....	39
4.5.9	Mecanismo de acción.....	40
4.5.10	Usos medicinales atribuidos.....	42
4.5.11	Infusión de hojas.....	42
4.5.12	Antecedentes experimentales.....	43
4.5.13	Farmacología Experimental.....	44
4.5.14	Actividad antimicrobiana.....	45
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
5.1	Materiales.....	46
5.1.1	Material microbiológico.....	46
5.1.2	Material vegetal.....	46
5.1.3	Materiales de Laboratorio.....	46
5.1.4	Reactivos.....	47
5.1.5	Material farmacológico.....	47
5.1.6	Equipo de laboratorio.....	47
5.1.7	Área de trabajo.....	48
5.1.8	Recursos humanos.....	48
5.2	Métodos.....	49
5.3	Diseño estadístico.....	56
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
VII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	62
VIII.	CONCLUSIONES.....	68
IX.	RECOMENDACIONES.....	69
X.	RESUMEN.....	70
	SUMMARY.....	71
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	72
XII.	ANEXOS.....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.....	78
FIGURA 2.....	78

## ÍNDICE DE FOTOS

FOTO 1.....	79
FOTO 2.....	79
FOTO 3.....	79
FOTO 4.....	79
FOTO 5.....	80
FOTO 6.....	80
FOTO 7.....	80
FOTO 8.....	81
FOTO 9.....	81
FOTO 10.....	81
FOTO 11.....	82
FOTO 12.....	82
FOTO 13.....	82
FOTO 14.....	82

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas son una de las principales causas de pérdidas económicas en la industria porcina, ya que la mayoría son de origen infeccioso causadas por diferentes agentes etiológicos. Su impacto económico es muy importante debido al incremento en la tasa de mortalidad, retardo en el crecimiento, mala conversión alimenticia y adicional a ello por los costos en medicación.

En nuestro país, este problema representa una de las mayores pérdidas económicas en el sector porcino, debido a la presencia de factores que desencadenan la infección dentro de los que podemos mencionar factores externos como ingestión de heces maternas (a través de pezones contaminados), humedad, falta de ingestión de calostro, falta de higiene, estrés, destete, así como madres primerizas que carecen de inmunoglobulinas A (IgA), las cuales protegen al neonato de enfermedades entéricas, razones por las cuales los lechones desde el nacimiento y antes del destete resultan ser la población más vulnerable, aunque algunos individuos pueden padecerlas aún después de esta etapa.

Las plantas medicinales, desde épocas antiguas se han utilizado como tratamiento de enfermedades, debido a la necesidad del hombre de mantener una vida saludable y buscar respuesta en la misma naturaleza. Actualmente la fitoterapia ha desempeñado una función importante en el campo de la Medicina Veterinaria, que brinda terapias naturales para el control de distintas enfermedades y además de ofrecer terapias alternativas más económicas que puedan ser aplicadas a la población animal de las comunidades de escasos recursos.

En muchos países de Latinoamérica, se han realizado estudios en donde se ha demostrado por medio de extractos, tinturas o suspensiones la eficacia antimicrobiana de la hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) para el tratamiento de infecciones bacterianas (principalmente diarreas) tanto, en el área de la Medicina Veterinaria como en Medicina humana; en este estudio se comprobó la eficacia *in vitro* de la hoja de Guayaba con el objetivo de ofrecer una alternativa natural, económica y accesible para el tratamiento de diarreas infecciosas en lechones de las comunidades de escasos recursos, y de esta forma disminuir las tasas de mortalidad en la producción porcina de nuestro país.

## II. HIPÓTESIS

La infusión de la hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) es efectiva *in vitro* contra las principales bacterias que causan enteritis en lechones.

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Generar información científica respecto al uso de infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) para el control de las principales bacterias que causan enteritis en lechones.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Comprobar la eficacia *in vitro* de la infusión de la hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.), en diferentes concentraciones contra las principales bacterias causantes de diarrea en lechones.

Determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la infusión de la hoja de Guayaba contra las principales bacterias causantes de diarrea en lechones.

Determinar la bacteria que presenta mayor sensibilidad *in vitro* a la infusión de la hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.)

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 Enteritis en Lechones

Las enteritis constituyen una de las infecciones más comunes en las explotaciones porcinas a nivel mundial. Su etiología es multifactorial y compleja en donde interactúan microorganismos, medio ambiente y condiciones del hospedador, principalmente en sus primeras semanas de vida, produciendo altos índices de morbilidad y mortalidad, en donde su significado económico varía entre granjas y muchas veces depende del sistema de manejo y grado de intensificación de la cría (26).

Las pérdidas económicas por este concepto son considerables no solo debido a las muertes mismas, sino también por los costos de tratamiento. Por lo que se considera que las medidas para el control radican fundamentalmente en un buen manejo y adecuadas condiciones sanitarias. Los estudios de virulencia bacteriana en los últimos años han demostrado claramente que la patogenicidad de una especie bacteriana no puede ser reducida a un sólo factor de virulencia debido a que existe una fuerte interacción de una serie de factores bacterianos, del huésped y del ambiente. Muchos son los agentes bacterianos responsables de diarrea en cerdos entre los que se destacan *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella cholerae suis* y otros serotipos, entre otros. El hecho de que el síndrome diarreico esté constituido por la incidencia de varios factores patogénicos, con más o menos grado de participación y que a su vez sea una entidad polietiológica, ha significado un gran reto para la farmacología y la terapéutica médica (23) (26).

#### **4.1.1 Adquisición de la inmunidad pasiva**

En el ganado porcino los anticuerpos maternos que se encuentren en el suero no atraviesan la placenta si no que son concentrados de forma selectiva en el calostro hacia el final de la gestación. Como el estado funcional del sistema inmune del lechón neonato esta infradesarrollado, los anticuerpos calostrales proporcionan la primera fuente de protección inmune. En consecuencia, la inmunidad del lechón neonato, está en principio limitada por la calidad de anticuerpos en el calostro, así como por la cantidad que el neonato es capaz de consumir y absorber (31).

Ya que la IgG constituye el isotipo de inmunoglobulinas más importante del suero, también supone el principal isotipo del calostro (31).

Aunque la protección frente a muchos agentes patógenos sistémicos será suministrada por este mecanismo, la inmunidad estará aún más limitada por el hecho de que muchos de los agentes patógenos a los que se enfrenta el lechón neonato se encuentran en las superficies de las mucosas donde raramente se encuentran los anticuerpos IgG y donde son ampliamente ineficaces (31).

Quizás en respuesta a esta limitación, a medida que termina la formación de calostro y continúa la lactación, las concentraciones de IgG descienden rápidamente y la IgA se convierte en el isotipo de inmuglobulinas más importante en la leche de la cerda. El cambio a un predominio de IgA es el reflejo de que la glándula mamaria pasa a ser el lugar más importante de síntesis y secreción de anticuerpos de la leche (31).

Como la IgA es en su mayoría resistente a la degradación intestinal, la alta concentración de IgA proporciona una protección entérica a corto plazo neutralizando virus, inhibiendo la adherencia de bacterias y opsonizando o lisando bacterias (31).

Incluso con un cambio a IgA en la leche, hasta que no se establezcan los mecanismos de la inmunidad activa, el neonato estará protegido solo contra aquellos antígenos frente a los cuales la cerda haya desarrollado inmunidad previamente. Sin embargo, un mejor conocimiento de los mecanismos que regulan la síntesis de IgA y su secreción por la glándula mamaria puede proporcionar un método práctico de asegurar que haya en la leche suficientes cantidades de anticuerpos IgA específicos durante el período crítico previo al establecimiento de la inmunidad activa (31).

La adquisición de anticuerpos maternos y, por consiguiente, el estado inmune de algunos individuos se puede ver afectado por alteraciones anatómicas que tienen lugar en el intestino del lechón recién nacido. Por ejemplo, la absorción máxima de inmunoglobulinas en los lechones neonatos tiene lugar entre 4 y 12 horas tras el primer amamantamiento, descendiendo después rápidamente debido a un proceso gradual y progresivo conocido habitualmente por cierre del intestino. Durante este período, las inmunoglobulinas calostrales se absorben a través del epitelio del yeyuno y se dirigen a los vasos linfáticos luego van a la circulación (31).

Los anticuerpos séricos se han detectado a partir de las tres horas después del nacimiento y si se realizan con éxito el amamantamiento y la absorción de inmunoglobulinas calostrales los títulos de anticuerpos séricos del neonato serán similares a los de la cerda dentro de las 24 horas post parto (31).

A las 48 horas del nacimiento el cierre intestinal es completo, aunque el cierre impide la absorción de anticuerpos, el proceso es crítico para prevenir una absorción sistémica de otras macromoléculas que podrían ser de carácter patógeno (31).

Se cree que factores no caracterizados del calostro estimulan el cierre intestinal. La falta de un amamantamiento adecuado en las primeras 24 horas tras el nacimiento podría retrasar el cierre intestinal, por consiguiente, aumentaría la posibilidad que agentes patógenos alcanzasen el torrente circulatorio. Por lo tanto, hay un período corto pero crítico tras el nacimiento en que la toma de calostro es crucial para la futura supervivencia del lechón (31).

#### **4.1.2 Establecimiento y composición de las especies de la microflora intestinal del cerdo: Desarrollo de la microflora en lechones**

En la mayoría de las especies los primeros organismos colonizadores son: cepas no patógenas de *Escherichia coli*, estreptococos, clostridios y lactobacilos. Más tarde, a medida que las bacterias aerobias facultativas utilizan el oxígeno, los anaerobios se convierten en dominantes. Normalmente, predominan de forma eventual *bacteroidaceas*, *eubacterias*, *bifidobacterias*, peptococos y bacilos anaerobios (31).

Los principales microorganismos presentes en el quimo de los lechones son *E. coli*, *Clostridium welchii*, estreptococos, lactobacilos y Bacteroides. Según estudios, los lactobacilos consiguieron establecerse como principales habitantes del estómago e intestino delgado después del primer día (31).

El recién nacido está expuesto sucesivamente al canal del parto, a las heces maternas y al ambiente de crianza, todos ellos fuentes potenciales de microorganismos. El tracto vaginal contiene normalmente una flora mixta compuesta por *bifidobacterias*, *lactobacilos*, *estafilococos* y *corinebacterias*. Hay evidencia que la flora vaginal y fecal materna son transmitidas a la cría, sin embargo, la mayor fuente de bacterias para el lechón posiblemente son las heces maternas (31).

#### **4.1.3 Destete**

El destete natural es gradual, pero en los sistemas de producción moderna puede convertirse en un acontecimiento repentino. Por ello, la flora intestinal así como el propio animal deben adaptarse rápidamente a un cambio abrupto en la dieta. Este período está caracterizado por una alta mortalidad asociada a diarreas (31).

Algunos otros autores han encontrado que el número de *E. coli* hemolíticos y rotavirus aumentaban considerablemente en el intestino delgado de los lechones al destete (31).

La principal causa de diarreas bacterianas en el lechón lactante a nivel mundial es la colibacilosis enterotoxigénica causada por *E. coli* enterotoxigénicos, pero otras bacterias como *Salmonella*, *Campylobacter* y *Clostridium perfringens*. Durante las primeras semanas de vida el lechón está protegido por anticuerpos presentes en la leche materna, sin embargo, el destete priva al lechón de dicha protección (31).

## 4.2 Colibacilosis neonatal

El término colibacilosis es un nombre genérico que abarca varios procesos asociados con cepas patógenas de *Escherichia coli*. En lechones, *E. coli* es responsable de septicemia, diarrea y enfermedad de los edemas. La septicemia colibacilar no tiene importancia económica real, pero la diarrea colibacilar y la enfermedad de los edemas son de gran relevancia. Los lechones son susceptibles a *E. coli* desde el nacimiento hasta el destete. Las cepas de *E. coli* productoras de diarrea se clasifican según sus factores de virulencia y su patogenia. Los *E. coli* que provocan la diarrea en el lechón se denominan *E. coli* enterotoxigénicos (ECET), *E. coli* adherentes (ECAD), destructores y cepas mal caracterizadas. Los ECET son sin duda los responsables de la mayoría de colibacilosis entéricas pre-destete, provocan una diarrea secretora por medio de enterotoxinas. Muy frecuentemente (en más del 50% de los casos) este tipo de cepas son asimismo aisladas en animales afectados con diarreas en el engorde (6).

Los ECAD son un grupo de *E. coli* reconocidos recientemente como productores de diarrea. Se fijan firmemente al epitelio intestinal y destruyen las microvellosidades originando diarreas osmóticas por mala absorción. Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el que provocan la diarrea (6).

Existen otros tipos de *E. coli* productores de diarrea pero su importancia aparece reducida en comparación con los ECET. *Escherichia coli* es muy común en las granjas porcinas, ya que es habitante normal en la flora intestinal se elimina en grandes cantidades por las heces (30) (31).

La mayor parte de los *E. coli* presentes en un animal son cepas comensales y apatógenas e incluso tienen un papel beneficioso, ya que compiten de diversas formas con las cepas patógenas en el nicho ecológico de la luz intestinal (30) (31).

#### 4.2.1 Sinónimos

Diarrea neonatal, diarrea blanca de los lechones, diarrea neonatal por *Escherichia coli* (15).

#### 4.2.2 Epidemiología

Epidemiológicamente, se debe distinguir la colibacilosis previa y posterior al final del primer día de vida. La diarrea observada durante el primer día se debe probablemente a un síndrome precoz de disgalaxia muy temporal de la cerda, que a menudo es autolimitante o debido a falta de ingesta de calostro por algún lechón en particular (31).

Tras el primer día de vida, la colibacilosis puede ser la consecuencia de una falta de inmunidad calostrual adecuada desde un punto de vista cualitativo (principalmente en primíparas no vacunadas) o cuantitativo (problemas de lactación por parte de la cerda, camada numerosa, etc.) los ECET están presentes en la mayoría, si no en todas las granjas. Probablemente sea el agente productor más importante de diarrea en lechones (31).

Un animal requiere ingerir una cantidad abundante de patógenos de *E. coli* para enfermarse; esta situación se da regularmente en ambientes con higiene deficiente y una alta contaminación con heces fecales (30).

El calostro puede tener factores antimicrobianos inespecíficos y anticuerpos que inhiben la adherencia de las bacterias, por lo que si no están presentes, los lechones quedan susceptibles a la infección (30).

La temperatura para el lechón en la maternidad influye en el proceso de infección, ya que por debajo de 25°C la actividad peristáltica del lechón recién nacido disminuye, el pasaje de calostro y bacterias se retrasa (30).

#### **4.2.3 Prevalencia**

Es muy variable y va en función de: 1) la calidad de las instalaciones, 2) la inmunidad de las cerdas y 3) virulencia de las cepas (30).

La gravedad de la diarrea disminuye a medida que aumenta la edad de los lechones y la mortalidad también es muy variable, pero puede ser muy elevada especialmente en lechones de pocos días de edad hijos de cerdas sin inmunidad y cuando se retrasa el tratamiento (30)

#### **4.2.4 Características microbiológicas**

La bacteria *E. coli* es un bacilo pequeño, gram negativo, flagelado que crece fácilmente en los medios habituales de cultivo del laboratorio y no forma esporas. Forma colonias características con centro negrozco en agar eosina-azul de metileno y en rojo de metileno positivo, indol positivo, Voges-Proskauer negativo y citrato negativo (9).

Una de las características principales de *E. coli* es su gran capacidad de adaptarse a las condiciones ambientales y de experimentar cambios. Por ello, adquiere resistencia a los antibióticos con mucha mayor facilidad que otras bacterias (30)

#### 4.2.5 Patogénesis

Dentro de la capacidad adaptativa de *E. coli* está la posibilidad que tiene de utilizar numerosos factores de virulencia que explican la patogenia de las enfermedades que pueden causar las cepas patógenas. Estos factores de virulencia permiten a las cepas patógenas colonizar el intestino y competir en condiciones ventajosas con otras bacterias o con las cepas beneficiosas de *E. coli* (1).

Entre los factores de virulencia principales en la patogenia de las diarreas en lactantes destacan los antígenos fimbriales, que son adhesinas que permiten a *E. coli* fijarse a la pared intestinal, multiplicarse masivamente, y dar lugar a la producción de Enterotoxinas (1).

Las fimbrias se clasifican por reactividad serológica o por especificidad a receptor, por lo que su nomenclatura es diversa. Clasificaciones anteriores referían a K88, K99, etc., pero han cambiado a designación F por pruebas de inmunoelectroforesis cruzada. Existen 4 adhesinas de fimbria importantes en cepas ETEC que provocan DNN: F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P) y F41. F4 tiene 3 variantes: F4ab, F4ac y F4ad. Las cepas ETEC producen más de una adhesina de fimbria y las combinaciones más comunes son: F5+F6, F5+F41, F4+F6 (1).

La producción de adhesinas de fimbria está controlada por genes cromosomales o plásmidos. La fimbria se adhiere a receptores específicos en la membrana celular del epitelio intestinal (CEI) y al moco. Las cepas ETEC con F5, F6 y F41 colonizan el yeyuno posterior e íleon, mientras que F4 todo el yeyuno e íleon. Algunos cerdos no presentan receptores para F4, lo que les confiere resistencia mediada genéticamente a la acción de estos patotipos. Se presenta resistencia por edad para aislamientos F5 positivos (lechones recién nacidos son

más susceptibles) y que se relaciona con la reducción en el número normal de receptores en las células epiteliales por la edad (1).

#### 4.2.6 Enterotoxinas y mecanismo de acción

Los *E. coli* enterotoxigénicos (ECET) se caracterizan por su capacidad para producir enterotoxinas que alteran el flujo de líquidos y electrolitos en el intestino dando lugar a diarrea acuosa. Los ECET implicados en la diarrea neonatal producen una o más enterotoxinas (31).

Las enterotoxinas producidas por estos incluyen una toxina termolábil (LT) y dos termoestables (STa y STb). La LT es una proteína inmunógena de gran tamaño con muchas subunidades similar a la colerotoxina producida por *Vibrio cholerae*. Las Enterotoxinas se unen a receptores específicos localizados en la membrana apical de los enterocitos. Alteran los procesos fisiológicos de secreción y absorción de agua y electrolitos dando lugar a una salida neta de líquido a la luz intestinal y a diarrea acuosa. La LT activa la adenilciclase de los enterocito dando lugar a la producción de adenosin monofosfato cíclico (AMPc) (31).

En las células de la vellosidad el AMPc inhibe el transporte de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  a través de la membrana apical, pero no el transporte de  $\text{Na}^+$  /glucosa/aminoácidos o la bomba de  $\text{Na}^+$ . En las células de la cripta, el AMPc aumenta la permeabilidad de la membrana apical al  $\text{Cl}^-$  y estimula el transporte de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  y el  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  a través de la membrana apical (31).

Los lechones de más de dos semanas de edad son menos susceptibles a la acción de las tóxicas (STb). El modo de acción de la STb es desconocido, pero parece ser diferente al de LT y STa. Sin embargo, se ha reportado que STb provoca hipersecreción de  $\text{HCO}_3^-$  e induce también atrofia de las vellosidades intestinales (31).

La diarrea hipersecretora provocada por los *E. coli* enterotoxigenicos (ECET) se caracteriza por las heces acuosas muy abundantes que son isotónicas con el plasma de reacción alcalina por la secreción de  $\text{HCO}^-$  (31).

El efecto resultante es que los animales afectados se deshidratan rápidamente y sufren acidosis. Sin embargo, no se ve afectado el mecanismo que enlaza la absorción de sodio con la de glucosa y aminoácidos. Por consiguiente, los animales diarreicos se pueden mantener mediante la administración oral de líquidos que contengan sodio y glucosa (31)

#### **4.2.7 Signos clínicos**

El signo principal es diarrea; otros signos dependen de tres factores principalmente: 1) la edad de los lechones; 2) factores de virulencia; 3) estado inmune del animal (1).

Pocos días después del nacimiento, los cerdos infectados con cepas patógenas de *E. coli* se atontan y maman sin vigor o se rehúsan a mamar. Por lo general, presentan diarrea acuosa, amarillenta o de color grisácea aunque a veces se encuentran estreñidos, se desmedran y se debilitan con rapidez, no se mueven con facilidad de la nidada y no viven por mucho tiempo (1).

En casos agudos los lechones mueren antes de que los signos clínicos aparezcan, la colibacilosis neonatal afecta generalmente a los lechones antes de los siete días de nacidos. En casos subagudos se observan lechones deprimidos y lentos, piel azulada o gris (similar a la salmonelosis por la septicemia) (9), proyección de huesos por la deshidratación, abdomen flácido y hundido, pelo hirsuto y vómito en algunas ocasiones (1).

En casos severos se aprecia deshidratación, acidosis metabólica y muerte. La diarrea neonatal se puede presentar a las 2-3 horas posteriores al parto y es más común en uno o varios lechones que provienen de cerdas primerizas, se caracteriza por ser de color amarillo pálido, profusa, aguada y gaseosa (1) (9).

En casos crónicos los lechones pueden tener el ano y perineo inflamados sin restos de heces, ya que estas no suelen manchar mucho esta zona y a veces solo se observa en éstos irritación (30).

#### **4.2.8 Lesiones**

Deshidratación, enteritis catarral, que puede ser moderada o grave y que se caracteriza por congestión de los vasos mesentéricos anteriores y posteriores. El estómago puede contener cantidades de leche coagulada, pero por lo general no presenta alteraciones hemorrágicas notables, sin embargo, en algunas ocasiones se pueden observar infartos venosos en la curvatura mayor (9).

El intestino contiene a menudo una sustancia acuosa, amarillenta y gaseosa. Los ganglios linfáticos mesentéricos pueden estar aumentados de tamaño y edematosos. Se han reportado casos de enteritis hemorrágicas, pero son poco frecuentes (30).

#### **4.2.9 Diagnóstico**

Un diagnóstico tentativo puede hacerse basado en los signos clínicos y lesiones. La presencia de enteritis o de gastroenteritis moderada del recién nacido, sin signos de enfermedad en las cerdas, es muy sugestivo de infección por *E. coli*.

La ausencia de lesiones hemorrágicas en el estómago de los cerdos infectados puede ayudar a diferenciarla de la gastroenteritis transmisible (9).

Los cultivos del duodeno de los cerdos vivos, pero enfermos, permitirán obtener *E. coli* cuando dicho organismo sea el factor primario de la enfermedad. También se puede aislar con frecuencia, el microorganismo del estómago (1).

Debe tomarse en cuenta que el patógeno puede invadir la corriente sanguínea rápidamente después de la muerte, y que en menos de una hora se realiza la contaminación de la corriente sanguínea a partir del contenido intestinal (1).

El determinar el tipo serológico de los gérmenes permite mayor grado de seguridad en la confirmación del diagnóstico, si es que se encuentra un serotipo patógeno. El pH de las heces también puede proveernos un diagnóstico. Dado que la *E. coli* es un patógeno secundario común, es importante descartar la presencia de otros patógenos involucrados (30).

#### **4.2.10 Diagnóstico diferencial**

El diagnóstico diferencial debe hacerse con Gastroenteritis Transmisible, Rotavirus, Clostridiasis y Coccidiosis (30).

El pH de las heces, con papel indicador resulta ser de ayuda, debido a que en la diarrea neonatal es alcalino, mientras que con Gastroenteritis transmisible y Rotavirus la diarrea es ácida (30).

#### **4.2.11 Tratamiento**

Los animales que desarrollan la enfermedad deben ser tratados con antimicrobianos lo más pronto posible. Sin embargo, después que los lechones hayan sido tratados pueden morir o presentar un considerable atraso en su desarrollo (7).

Existen antibióticos que, teóricamente, tienen una actividad positiva contra *E. coli*, sin embargo, la resistencia a ellos es frecuente. Por esto, es conveniente realizar antibiogramas periódicos en las granjas, que permitan elegir los antibióticos adecuados. En general, las quinolonas, cefalosporinas, sulfonamidas y la furazolidina tienen una buena actividad sobre esta bacteria (7).

La administración por vía oral o intraperitoneal de fluidos con glucosa y electrolitos contribuye a paliar la deshidratación, la acidosis y el empleo de probióticos ayuda a la recuperación de los lechones afectados (30).

Los tratamientos pierden eficacia en muchas ocasiones porque no se utiliza la dosis adecuada del antibiótico, no se administra con el intervalo de tiempo necesario o el tratamiento no tiene la duración suficiente. Estos errores además contribuyen notablemente a que aparezcan resistencias (1).

#### **4.2.12 Prevención**

La vacunación de las cerdas es una de las medidas más eficaces para prevenir la colibacilosis de los lechones lactantes (8).

En el mercado existen bacterinas que contienen cepas de los principales serogrupos O, antígenos fimbriales y enterotoxinas, otras son vacunas de subunidades que contienen antígenos fimbriales y enterotoxinas purificados (8).

La vacunación de las cerdas a las 6-8 semanas antes del parto y la revacunación 2-3 semanas antes del mismo induce una buena inmunidad lactogénica capaz de proteger adecuadamente al lechón durante las primeras semanas de vida, que es cuando es más receptivo (8).

Adicional a ello las buenas medidas de higiene y el ambiente de lechones son fundamentales. Se debe controlar la temperatura para lechones en lactación (entre 30 a 34 °C) sobre todo en animales de bajo peso (8).

El uso de jaulas de maternidad bien diseñadas, ajustables, con piso perforado, fácil de lavar, reducen la contaminación con heces fecales. La cuarentena de reemplazos ayuda a limitar la introducción de nuevas cepas, así como el uso de los sistemas “Todo Dentro Todo Fuera” también son útiles (8).

El uso de antibióticos y probióticos ayudan a reducir colonización y aumentar la superficie de absorción (8).

#### **4.2.13 Inmunidad**

La inmunidad humoral es útil, primero por calostro y luego activa. Las IgG inhiben adherencia y neutralizan enterotoxinas o citotoxinas (8).

La vacunación en cerdas es una vía efectiva para el control de las DNN. Se pueden usar como un programa alternativo, sobre todo en primerizas. El uso de

inmunoglobulinas heterólogas en lechones se justifica si se toma en cuenta que en una granja porcina con frecuencia se presentan hembras con problemas de mastitis y falla en lactación, hembras con distocia que mueren o se descartan al parto, por lo cual se utilizan hembras nodrizas, así como partos prolongados en los que el consumo de calostro es irregular (8).

## 4.2 Salmonelosis

Hasta los primeros años de este siglo se incluía la salmonelosis en la peste porcina. En 1885 describieron *Salmon* y *Smith* el *Bacterium suis pestifer* (ahora *Salmonella cholerae o typhisuis*) como causante de la peste porcina, lo que más tarde se comprendió que era erróneo, al descubrirse la etiología vírica de la peste del cerdo (7).

El amplio y numeroso grupo de bacterias que son las salmonelas, presentes en muchas especies animales y causantes de enfermedades en las mismas (en especial en los bóvidos y aves), así como en el hombre al provocar las temidas intoxicaciones cárnicas, solo revisten algunas especies importancia como causantes de la enfermedad del cerdo, en particular la *Salmonella choleraesuis* y aun más rara vez las *Salmonella typhisuis*, *dublin typhimurium* (7).

Para que se origine la salmonelosis en el cerdo se precisa siempre una merma en la resistencia de los animales, así como una proliferación de los gérmenes, sin embargo, con el pienso pueden los cerdos ingerir otras especies de *salmonellas* (7).

En algunas explotaciones de cebo de grandes dimensiones, se presentan salmonelosis crónicas que no solo motivan trastornos en la salud de los animales

(muertes y sacrificios de urgencia), sino también decomisos de cerdos de carnicería enfermos de salmonelosis (7).

Este género afecta el sistema intestinal de animales de sangre caliente y fría, siendo una de las zoonosis más frecuentes. En mamíferos se pueden desarrollar varios cuadros en forma independiente como el septicémico, respiratorio, abortivo y digestivo. Al género *Salmonella* pertenecen más de 2400 serotipos (4) (29).

Para el cerdo el serotipo específico es *Salmonella choleraesuis*, la pueden albergar por largos períodos convirtiéndose así en portadores subclínicos a largo plazo pero en cuadros digestivos es común encontrar *Salmonella typhimurium* (4) (29).

La salmonelosis en el cerdo tiene una importancia doble. Esta bacteria puede causar enfermedades en el cerdo, por otra parte, la infección de los cerdos es la principal fuente de contaminación de la carne y de los productos cárnicos, a través de los cuales puede llegar al hombre. Es una de las zoonosis principales de origen alimentario (30).

#### **4.3.1 Sinónimos**

Paratifosis o aborto salmonelósico (15).

La salmonelosis puede ocurrir a cualquier edad pero es más común en cerdos en crecimiento de más de ocho semanas de edad. La infección por *S. choleraesuis* se produce normalmente alrededor de 12 a 14 semanas (29).

### 4.3.2 Epidemiología

Aunque la enfermedad es poco frecuente en cerdos adultos y lechones, no lo es la infección. La baja frecuencia de salmonelosis en lechones probablemente se debe a la inmunidad lactogénica. La enterocolitis es más frecuente en cerdos desde el destete hasta aproximadamente los 4 meses de edad. Puede ser aguda o crónica. La vía fecal-oral es el modo más probable de transmisión (30).

Las bacterias *Salmonella* están muy extendidas en las poblaciones humanas y animales a nivel mundial. Se multiplican principalmente en los intestinos de los pequeños cerdos en crecimiento, así como en algunas cerdas (29).

Estas bacterias pueden ser excretadas mediante las heces durante varias semanas o meses sin presentarse la enfermedad de forma clínica. La salmonelosis puede ocurrir a cualquier edad pero es más común en cerdos en crecimiento de más de ocho semanas de edad. La infección por *S. choleraesuis* se produce normalmente alrededor de 12 a 14 semanas (29).

La diarrea en los casos agudos dura 3-7 días y se pueden producir recaídas. La infección se adquiere en las primeras semanas después de la llegada de cerdos a una galera o de la mezcla de grupos de cerdos dentro de la instalación, alcanza un máximo del 80-100% (30).

Las fuentes de infección incluyen el hacinamiento, estrés por transporte, fómites, vectores, contaminación de los alimentos por los pájaros, ratas y ratones movimiento de equipos contaminados da origen a la infección, existe el riesgo de transmisión de ésta al personal (30).

Afectan de un 5 a 20 % de los animales y la letalidad va a depender de la cepa y del tratamiento estando entre un 10 a 50 % (4).

#### **4.3.3 Características microbiológicas**

Es producida por el género *Salmonella*, pertenece a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo gram negativo, no esporulado, aerobio facultativo, fermentativo y es móvil gracias a que posee flagelos peritricos, siempre se encuentra aislado. La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C. No licúa la gelatina. En el agar las colonias son húmedas, translúcidas y grisáceas. En la leche tornasolada produce ligera acidez que es seguida por marcada alcalinidad (7).

La *Salmonella choleraesuis* no produce hidrogeno sulfurado, produce acido y gas con la glucosa, manosa xilosa, maltosa, glicerol, manitol, dulcita, sorbitol y dextrina, sin tener efecto sobre la lactosa sucrosa, inositol y salicilina (7).

La clasificación de las salmonelas se basa principalmente en la estructura antigénica, en las propiedades bioquímicas de grupo las cuales fueron determinadas por Bruner y Edwards en 1940 (7).

El organismo se destruye en una hora a 56°C; en veinte minutos a 58°C y en quince o veinte por los desinfectantes comunes (7).

Son productores de gas y relativamente resistentes a los ácidos biliares, esta característica se utiliza para los medios de aislamiento selectivo; así mismo fermentan la glucosa y son oxidasa negativo (7).

#### 4.3.4 Patogénesis

Las *Salmonellas* más patógenas tienen fimbrias y flagelos, ambos implicados en la fijación y la invasión. El organismo se multiplica en el intestino delgado. La diarrea se produce como resultado del defecto de absorción y de la pérdida de líquido por el intestino necrótico inflamado (30).

#### 4.3.5 Signos clínicos

Por lo general solo resultan afectados los cerdos jóvenes en particular los lechones lactantes de más edad y los próximos al destete, así como los cerdos de recría hasta los cinco meses. En la mayoría de las granjas porcinas la infección es subclínica. Cuando se produce los cerdos presentan una diarrea líquida amarillenta, inicialmente, que pasa a pastosa verdosa, raramente puede presentar sangre. Este cuadro dura entre 3 y 7 días y el animal recuperado puede volver a manifestar los signos luego de 10 a 20 días (30).

La enfermedad *aguda*, cursa como una septicemia (presencia de bacterias patógenas en la sangre). Los animales atacados presentan pérdida de apetito, se esconden entre la paja de la cama, tienen fiebre (40.6-41.7°C), los flancos hundidos, a veces diarrea y coloración rojo azulada de las orejas, patas y abdomen; la muerte se produce entre uno y cuatro días (8).

También es posible un curso más *crónico*, en el cual los cerdos muestran diarrea castaño amarillenta, que muchas veces es hemorrágica y fétida, tosen y enflaquecen. Suelen morir o bien superar la enfermedad con prolongado desmedro subsiguiente en cuya fase los animales expulsan gérmenes patógenos (7).

Los animales que sobreviven quedan como portadores asintomáticos, ya que la bacteria se aloja en la vesícula biliar y nódulos linfáticos mesentéricos, con lo que el hospedero elimina la bacteria en forma intermitente. La enterocolitis crónica se manifiesta por enterorrea persistente, fiebre, anorexia y emaciación progresiva (15).

La septicemia aguda y la neumonía, que ocurre con *S. choleraesuis* causa fiebre, inapetencia, dificultad respiratoria, depresión, tos, enrojecimiento de la piel. La piel de las extremidades (cola, orejas, nariz y pezuñas) se vuelven azules. También se puede observar ictericia que es consecuencia de daño hepático y la cojera de la artritis (29)

En cualquier caso, la pérdida de peso inmediata y retardada, es una de las consecuencias más importantes de pérdidas económicas, los animales permanecen como portadores del agente hasta su envío a faena (4).

#### **4.3.6 Lesiones**

Los hallazgos de necropsia más importantes se encuentran en ciego y colon (tiflocolitis), aunque el intestino delgado puede estar afectado, se observan restos adherentes gris amarillentos sobre una mucosa roja y úlceras en botón (4).

La manifestación de salmonelosis crónica es enteritis ulcerosa caseificante junto con un infarto ganglionar y neumonía (7).

#### **4.3.7 Diagnóstico**

El diagnóstico seguro de salmonelosis solo puede efectuarlo el veterinario, realizando esta la necropsia de los animales muertos y enviando cadáveres a los centros sanitarios correspondientes para su examen bacteriológico. La remisión de animales muertos es de gran importancia para excluir las enfermedades que cursan un cuadro clínico parecido sobre todo la peste porcina, mal rojo, disentería, pasteurelisis (30).

Los síntomas son de gran ayuda diagnóstica. El aislamiento de algunas colonias especialmente después de cultivo en medio de enriquecimiento, por sí solo no es suficiente para confirmar una salmonelosis como la causa de la enfermedad (30).

Para hacer un diagnóstico específico, es necesario llevar al laboratorio muestras de heces frescas de cerdos no tratados o bien, cuando se disponga de un lechón muerto (29).

En el campo se realizan frotis rectales y deben transportarse en medios adecuados y sembradas inmediatamente en medios como XLD o verde brillante; las colonias sospechosas se confirman realizando pruebas bioquímicas (29).

#### **4.3.8 Diagnóstico Diferencial**

Peste porcina, mal rojo, disentería, pasteurelisis por los signos digestivos, cutáneos y respiratorios (7).

#### **4.3.9 Tratamiento**

Es importante tener en cuenta la resistencia que *S. choleraesuis* y *S. typhimurium* han desarrollado a muchos de los antibióticos usados en cerdos (7).

A pesar que existan antibióticos efectivos en los diferentes ensayos, la efectividad terapéutica de los antibióticos dentro de los establecimientos se ve disminuido debido a la diferencia de carga bacteriana infecciosa al que son sometidos los animales de ensayo con respecto a los casos de campo (7).

Una de las formas de administración de los antibióticos más usado es con el alimento o en el agua de bebida preferentemente, usando dosis con máximos niveles permisibles, estas logran disminuir la eficacia de la transmisión y tener efecto profiláctico sobre los animales aun no infectados (7).

La elección del antibiótico debe basarse en la susceptibilidad del agente por medio de un antibiograma, dado que la medicación debe comenzarse antes (7).

Los cerdos enfermos y grupos afectados se trataran con antibióticos de amplio espectro como sulfonamidas o furazolidina. En algunas ocasiones se aplican antiinflamatorios a los animales extremadamente enfermos para combatir los efectos de la endotoxina (7).

#### **4.3.10 Control y Prevención**

El tratamiento exitoso se basa en procedimientos de manejo rutinarios recomendados para el control de enfermedades infecciosas como lo son: 1) Eliminación y aislamiento de animales enfermos. 2) El control también depende de

una buena higiene y manejo, movimiento de cerdos por lotes TD-TF, con limpieza y desinfección de los locales entre lotes (4).

Es muy importante el control de los roedores en la explotación, ya que transportan grandes cantidades de salmonelas en el intestino. 3) Limpieza frecuente de las fuentes de agua. 4) Restricción del movimiento de animales o de personas de áreas potencialmente contaminadas hacia áreas limpias. 5) Disminución del estrés, cambiando la ejecución de ciertas actividades y factores de manejo y medio ambiental (4).

Pero la disminución de la frecuencia de la salmonelosis en los cerdos de abasto exige también el acortamiento del transporte desde las granjas al matadero, de la permanencia en este y evitar en todo ese tiempo cualquier sobrecarga física. De todo esto se deduce que la lucha contra la salmonelosis es empresa preferentemente sanitaria, con el fin de proteger al hombre de alteraciones de la salud (30)

#### **4.3.11 Inmunidad**

La vacunación preventiva de los lechones se hace en dos aplicaciones a partir de la quinta semana de vida y eventualmente en las cerdas en gestión avanzada con vacuna de *Salmonella cholerae suis* acompañada de las medidas higiénicas, permite disminuir sustancialmente la cantidad de animales enfermos y muertos en los siguientes meses de vida (7).

El uso de esquemas de vigilancia de *salmonellas* basado en serología de jugo de carne de cerdos sacrificados ha sido introducido en varios países de Europa, después de la iniciativa establecida por Dinamarca (30).

Este esquema detecta las explotaciones que tienen una elevada incidencia de *salmonella*, después de lo cual se introducen medidas de higiene para combatir la infección. Se tiene cuidado para evitar la introducción de *salmonellas* de cualquier fuente, incluido el alimento (30).

### **4.3 Infección por *Clostridium perfringens* (Enterotoxemia)**

La enteritis asociada a *Clostridium perfringens* tipo A es un problema menos importante que la causada por *Cl. Perfringens* tipo C. Los *Clostridium* son bacterias Gram positivas con esporas que están presentes en el intestino grueso de todos los cerdos. Estas se multiplican rápidamente y producen toxinas que matan rápidamente al hospedero. La enteritis por *Cl. perfringens* es reconocida por tener la habilidad de ser fatal para los lechones recién nacidos (1) (31).

Hasta hace poco, el *C. perfringens* tipo C era el único considerado como causante de enterotoxemia (toxinas que son producidas en el intestino y que están presentes en la sangre), pero el tipo A ha sido implicado (1) (31).

#### **4.4.1 Sinónimos**

Se conoce como enteritis necrótica de los lechones, diarrea roja, enteritis necrosante (1) (7).

#### **4.4.2 Epidemiología**

El *Cl. perfringens* es una bacteria que permanece en el medio ambiente en estado vegetativo o en forma de spora. Las esporas pueden soportar ser congeladas, hervidas y conservarse viables a lo largo de un año. La morbilidad y

la mortalidad producidas por esta bacteria variaran tremendamente según el estado inmunológico de la camada (1).

La transmisión ocurre en forma oral, con cerdos infectados a pocos minutos o pocas horas de haber nacido. Los cerdos adquieren la bacteria a través de las heces o en las camas contaminadas (1).

#### **4.4.3 Características microbiológicas**

*Clostridium perfringens* tipo C, bacilo Gram positivo anaeróbico que puede formar esporas. Produce diversas toxinas, entre las que se halla la toxina-beta, cuya acción repercute mayoritariamente en el carácter patógeno del *Clostridium perfringens* (12).

La temperatura óptima de las toxinas es 43-47°, la máxima 50°, aunque la temperatura depende de la cepa; las toxinas necesitan un pH próximo a 7,5 y las especies vegetativas son muy sensibles al oxígeno (21).

#### **4.4.4 Enterotoxinas y mecanismo de acción**

No se conoce con exactitud, sin embargo, la literatura menciona que el *Cl. perfringens* produce la toxina alfa, que es una lecitinasa hemolítica, recientemente se ha encontrado otra toxina denominada beta-2 que está presente en la mayoría de las cepas aisladas de lechones enfermos que parece tener un papel fundamental en el desarrollo de la enfermedad (31).

La infección, en las condiciones adecuadas, provoca una multiplicación masiva de este clostridio en el íleon, el ciego y el colon sin que haya ni adhesión al

epitelio intestinal ni invasión del mismo. Todas las cepas de *Cl. Perfringes tipo A* producen una toxina alfa, algunas cepas formadoras de esporas, producen una potente enterotoxina durante la esporulación (30) (31).

#### **4.4.5 Patogénesis**

Una vez exacerbadas dentro del tracto gastrointestinal, estos organismos se multiplican rápidamente en el intestino, atacando las células epiteliales de las vellosidades intestinales.

Durante la multiplicación bacteriana, poderosas toxinas son liberadas en el intestino causando la diarrea característica.

Muchas de estas bacterias penetran en la pared intestinal y dañan el tejido muscular del abdomen, observándose después una coloración negruzca en el área (1).

Los microorganismos también pueden entrar al organismo por daño a la piel y músculos. Sus esporas pasan por el torrente sanguíneo del intestino al hígado, donde están latentes e inactivas durante largos períodos. El curso de la enfermedad es extremadamente corto, a menudo la única señal es un cerdo muerto (11).

#### **4.4.6 Signos clínicos**

Estos van a variar según el grado de infección y el estado del sistema inmunitario de los lechones. La forma en que se presenta esta enfermedad va desde una forma *hiperaguda* (extremadamente violenta y severa), *aguda*,

*subaguda* (moderadamente severa) hasta la forma *crónica*. La aparición de los signos clínicos de esta enfermedad usualmente comienzan a partir de los tres días de nacidos en los lechones desprotegidos (1).

***Enterotoxemia hiperaguda:*** Esta causará muerte en lechones entre las 12 y 36 horas de nacidos. En la mayoría de los casos, presentan una diarrea hemorrágica (sanguinolenta), pero algunos lechones mueren antes de que esto pueda observarse. Los lechones infectados se presentan aletargados y débiles, antes de morir se les ennegrece el abdomen (1).

***Enterotoxemia aguda:*** Los lechones con una infección aguda mueren entre el primer y el tercer día de edad. Los signos clínicos incluyen una diarrea marrón rojiza que contiene fragmentos de tejido necrótico (muerto) de color gris. Estos animales se hacen tan endebles o débiles que no maman y van adelgazando paulatinamente (1).

***Enterotoxemia subaguda:*** Esta forma se caracteriza por una diarrea persistente (no hemorrágica). Las heces son inicialmente amarillas y gradualmente van cambiando hasta ser un líquido claro. Los lechones que presentan esta forma de la infección usualmente mueren entre el quinto y el séptimo día de edad. Una severa emaciación (pérdida exagerada de peso) es muy común en esta fase (1).

***Enterotoxemia crónica:*** Los lechones con infección crónica presentan diarrea a lo largo de una semana. Estas heces son de color gris amarillento, los cerdos se ven aparentemente vigorosos, pero su ganancia de peso se encuentra significativamente baja, algunos eventualmente mueren (1).

Los signos clínicos de lechones infectados con *Cl. perfringens* tipo A son muy similares pero menos severos que en aquellos animales con tipo C. La recuperación usualmente ocurre pocos días después de la infección, aún cuando la tasa de crecimiento es muy baja (1).

#### **4.4.7 Lesiones**

Son principalmente intestinales donde se observa: enteritis necrótico-hemorrágica y fluido sanguinolento en la cavidad abdominal; los nódulos linfáticos mesentéricos se encuentran congestionados (12).

La pared intestinal presenta hemorragia y necrosis por coagulación, que afecta a las mucosas, a las criptas y a las placas de Peyer (12).

#### **4.4.8 Diagnóstico**

La confirmación se basa principalmente en el aislamiento del *Cl. Perfringens tipo A* y en la demostración de enterotoxina en el contenido intestinal, además de la eliminación de otras causas que dan un cuadro similar, tales como enteritis por *Cl. Perfringres tipo C* o coccidiosis (31).

La forma *aguda* de la enfermedad puede ser diagnosticada por la interpretación de los signos clínicos o por una inspección visual postmortem (1).

El diagnóstico de la forma *crónica* es más difícil, ayudado por la historia de la enfermedad dentro de la camada, descartando la presencia de otra posible enfermedad. La confirmación por laboratorio es de fácil realización, usualmente envuelve estudios microscópicos de frotis fecales (1).

Un rasgo característico es el cambio post-mortem muy rápido sobre todo en el hígado, el cual está lleno de gas y adquiere un color chocolate. La confirmación del diagnóstico debe ser realizado en un laboratorio mediante una prueba de anticuerpos fluorescentes para identificar la bacteria (11).

#### **4.4.9 Tratamiento**

Para controlar la enfermedad en lechones recién nacidos se puede emplear ampicilina y espectinomicina por vía oral o bien en el caso de un brote se recomienda el uso de una antitoxina (anticuerpos que pueden neutralizar las toxinas bacterianas) (1) (31).

El uso profiláctico de antibacterianos por vía oral podría ser de utilidad. Sin embargo, después del apareamiento de los signos clínicos no puede hacerse mucho para tratar la enfermedad (1) (31).

Para ese tiempo, el daño intestinal es usualmente suficiente para causar la muerte (1) (31).

#### **4.4.10 Prevención (Inmunidad)**

El tratamiento de infecciones activas no es económicamente viable. El manejo permanente de la enfermedad incluye la inmunización de hembras de reemplazo, de cerdas madres con un toxoide (toxina inactivada, pero con propiedades antigénicas). Se recomienda una primera vacunación con dos dosis, a las cinco y dos semanas preparto. En el caso de las cerdas multíparas la revacunación se hará tres o cuatro semanas antes del parto (1).

El tratamiento profiláctico de animales sanos es valioso en situaciones potenciales de brote, pero requiere un considerable esfuerzo para ser realizado. La prevención de la infección a través de la vacunación de cerdas madres es la mejor opción de manejo de esta enfermedad (1).

#### **4.4 Guayaba**

*Psidium guajava L.*

##### **4.5.1 Sinónimos**

*Psidium pyrifera L., Psidium pomiferum L.*

##### **4.5.2 Nombres populares**

Cak, Ch´amxuy, Coloc, Eanandi, Ikiec, Guava, Patá, Pataj, Pichi, Posh (3).

##### **4.5.3 Descripción botánica**

La especie *Psidium guajava L.*, denominada comúnmente guayaba, pertenece a la familia Myrtaceae (3) (18).

El árbol tiene forma perennifolio o caducifolio, de 3 a 10 m (hasta 20 m) de altura con un diámetro a la altura del pecho de 60 cm, de copa irregular (3) (18).

El tronco mide entre 20-25 centímetros de diámetro muy ramificado de ramas gruesas, ascendentes retorcidas, de corteza suave, delgada, rojo-café, produce escamas que caen (3) (18).

Sus hojas son simples con láminas de 3 a 13.5 cm de largo por 1.5 a 6 cm de ancho, opuestas, de peciolo corto, elípticas u oblongas, de 5-15 centímetros de largo, redondas en el ápice y en la base, múltiples venas horizontales, conspicuas,

provistas de glándulas, tienen aroma cuando se estrujan. Sus flores axilares son solitarias o se encuentran en las cimas, miden hasta 8 cm de longitud, tienen pétalos en número de 4 a 5 de color blanco. Sus frutos son aromáticos, ovales o piriformes de 2-10 centímetros de largo, cascara amarilla, carnoza rosada o amarilla, por fuera granular, firme, al centro suave, lleno de pulpa jugosa con muchas semillas de color café claro de 3-5 milímetros de largo, redondas y duras (3) (18).

#### **4.5.4 Hábitat**

Es nativo de América Tropical, se encuentra en bosques húmedos y secos, en pastos, bosquecillos puros del árbol; puede encontrarse en las montañas a considerables alturas y las hojas son aromáticas (3).

Se siembra comercialmente en zonas cálidas de África y Asia hasta 1800 metros sobre el nivel del mar. En Guatemala se ha descrito en todo el país, particularmente en Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa y Suchitepéquez (3).

#### **4.5.5 Historia**

En el siglo XIX continuó el uso de las hojas de la Guayaba como remedio herbolario para aliviar trastornos gastrointestinales, pero su estudio no se abordó si no hasta el siglo XX en que se realizaron las primeras investigaciones científicas tanto en México como en otros países. De acuerdo con los antiguos libros de herbolaria entre los siglos XVII a XVIII, la infusión elaborada con las hojas de Guayaba se le atribuyen, principalmente propiedades antidiarréicas (28).

Es difícil precisar el lugar de origen, se estima que es del sur de México o del Amazonas colombiano, pues su fruto es usado para preparar jaleas y postres (3).

Los españoles y portugueses llevaron semillas a sus colonias, que luego fueron mejoradas y cultivadas en Asia y África. Existen más de 90 variedades, la mayor producción se da en India, Brasil, Colombia, Cuba y México (3).

El uso medicinal de las hojas es precolombino, hay evidencia en De la Cruz y Badiano, Fernández de Oviedo y Hernández, quien indica que las hojas son “ácidas, astringentes y muy olorosas, curan la sarna y suelen usarlas en laboratorios. En 1799 Humboldt recomendó su siembra para proteger las tierras de cultivo del viento (3).

#### **4.5.6 Agricultura**

Se adapta a una gran variedad de climas, desde tropical húmedo hasta mediterráneo, necesita 1000-4500 mm/año de lluvia, aunque resiste 6 meses de sequía, se adapta desde suelo arcilloso y compacto hasta arenoso, ligeramente ácido. La propagación puede hacerse por semillas, acodos, injerte, estacas e hijuelo. En la descendencia se observa mucha variación, lo que sugiere hibridación frecuente. Las semillas conservan su poder germinativo hasta un año; después de remojo se siembran en semilleros de arena desinfectados, se repican a bolsas al tener 4 centímetros y se trasplantan al campo al tener 30 centímetros. La propagación por acodos y estacas verdes se hace por medios convencionales. Se plantan a distancias de 5x5 metros en hoyos de 50 centímetros de profundidad, deben mantenerse libres de hierbas; cada 2 años se democha el árbol a 4/5 de su altura; fertilizar con NPK durante los primeros 3 años. La producción empieza a los 2-3 años (3).

Entre los insectos que lo atacan están la mosca blanca, cochinillas, thrips, áfidos y hormigas que favorecen el apareamiento de fumagina; las enfermedades más comunes son momificación del fruto, declinación, roya amarilla, chancro del tallo y algas de las hojas (3).

Las hojas se colectan al final de la época de calor y se secan a la sombra. Los frutos se colectan al ser maduros pero no blandos (3).

#### **4.5.7 Antecedentes históricos**

La acción antidiarréica de la guayaba fue demostrada por *Lutterodt*, en 1989, al evaluar un extracto alcohólico (10).

Señaló que la sustancia activa era la quercetina, extraída de las hojas de la planta, al inhibir las contracciones espontáneas y las inducidas por estímulo eléctrico en íleon aislado de curiel. En 1990, *Lozoya*, corroboró el efecto antidiarréico de extractos metanólicos y etanólicos de *P. guajava*, *L* al comprobar el efecto antimotílico en órgano aislado (10).

#### **4.5.8 Composición química**

Entre los compuestos químicos de la planta se reportan: vitamina C que es muy abundante en los frutos, aceite esencial, carbohidratos, taninos, esteroides, alcaloides y en las hojas hay flavonoides como quercetina (a quien se le ha atribuido el efecto antidiarréico), aviculatina y guaijaverina a los que se les atribuye el efecto antimicrobiano (18).

Otros compuestos químicos que han sido aislados en la hoja de guayaba son: un triterpenoidepentacíclico, el ácido guajanoico, así como,  $\beta$ -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido ursólico (10).

Los taninos son principalmente solubles en alcohol y agua, se identifican generalmente con el ácido tánico; cuentan con un importante efecto astringente sobre el tubo digestivo siendo buenos vulnerarios; también por su actividad sobre las proteínas cutáneas y mucosas transformadas por su acción en sustancias insolubles eliminan el sustrato sobre el que tienden a asentarse los procesos infecciosos (2).

#### **4.5.9 Mecanismo de acción**

El principio activo del efecto espasmolítico de la guayaba es la quercetina, la cual se forma a partir de los glucósidos contenidos en la planta (10).

El mecanismo de acción *in vitro* de la quercetina ha sido dilucidado, se ha comprobado en varios modelos experimentales, que posee efecto antagonista del calcio reversible y que impide el influjo de  $\text{Ca}^{+2}$  en el músculo liso, sin afectar la movilización intracelular del ión. El modo de actuar del *Psidium guajava* es semejante a otros antidiarréicos como la loperamida (10).

Se llevó a cabo un estudio para establecer el mecanismo de acción antidiarréico de extractos de *P. guajava*, L. mostró que la quercetina inhibió la contracción *in vitro* del íleon de cobayo y la movilidad peristáltica del intestino delgado del ratón; así como redujo la permeabilidad de los capilares abdominales (10).

Los flavonoides como tal no poseen un doble enlace entre C-2 y C-3, además aquellas que poseen un gran número de grupos hidroxilos (1,2 y 5) son las que provocan la inhibición de la duplicación bacteriana especialmente las que poseen un grupo metoxilo que aumenta la lipofilia del compuesto. Al cambiar el tipo de esqueleto del flavonoide puede formarse un doble enlace entre los radicales mencionados, de esta forma puede reducirse la capacidad de inhibición. Los requerimientos estructurales para la actividad antibacteriana aun no han sido bien definidos, sin embargo, existe un acuerdo que al menos debe haber presencia de un grupo hidroxilo y cierto grado de lipoficidad (22).

Estos mismos requerimientos se encuentran en los medicamentos comerciales, los cuales ejercen su toxicidad a través de la acidez del grupo hidroxilo por desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. Los protones son conducidos a través de la membrana mitocondrial destruyendo el diferencial de protones producidos en el transporte electrónico requerido para la formación de ATP. Para compuestos fenólicos con una lipoficidad, mientras mayor sea su número de grupos hidroxilos, resultarán más eficientes desacopladores, ya que, podrían transferir más protones por molécula. Dado que las bacterias no poseen mitocondrias, este mismo mecanismo es el que podría estar operando en la actividad antibacteriana ejercida por los flavonoides, pero a nivel de membrana citoplasmática (22).

Según estudios han comprobado que los flavonoides presentes en la hoja de Guayaba son capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona auriginosa* y *Candida albicans*, entre otros (28).

Rivera-Arce, 2003 menciona que debido a la propiedad antimicrobiana de los extractos de hoja de Guayaba, varios años después renació el interés por

conocer los efectos antibióticos de la mezcla de algunos flavonoides (efecto sinérgico) en comparación a la de cada uno de ellos por separado.

Ahora se sabe existen dos grupos de flavonoides de la hoja de esta planta, los derivados de la quercetina (guajaverina, 3-o-β-D-glucosil-quercetina, hiperósido, quercitrina, avicularina y 3-o-genciobilosil-quercetina) y los derivados de la morina, (3-o-α-L-arabopiranosil-morina); que la mezcla de quercetina, quercitrina y morina posee una potente actividad inhibitoria del crecimiento de los cultivos de *Salmonella enteritidis* y *Bacillus cereus*, efecto que es potenciado mediante la adición de otro flavonoide, la rutina; que los extractos de hoja de Guayaba que contienen mezclas de estos flavonoides son eficaces contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. También se sugiere que la capacidad antimicrobiana del extracto cuando es rico en los citados flavonoides, influye positivamente en su uso como antidiarréico (28).

#### **4.5.10 Usos medicinales atribuidos**

Se usa en la medicina herbolaria y sus hojas y corteza contienen una resina llamada “guafin” que tiene una acción marcada para combatir diferentes enfermedades como diabetes y asma así como también tiene propiedades antibacterianas, antiheméticas, antiinflamatorias, antihelmínticas, antitusiva, carnitiva, febrífuga, hemostático, antisépticas, cicatrizantes, astringentes, antidisentérica, febrífuga, laxativa, nutritiva, espasmolítica (3).

#### **4.5.11 Infusión de hojas**

Es utilizada con frecuencia por vía oral para tratar afecciones digestivas (amebiasis, diarrea, disentería, cólico, dolor de estómago, parasitismo intestinal) o

como agua de uso también puede tomarse con leche, bicarbonato, azúcar y hojas de hierbabuena (19).

También se ha utilizado para tratar la debilidad y vómito; y en la zona de la Huasteca sirve para la disentería, los cólicos, alivia también el malestar de pecho y garganta (19).

La infusión de las hojas y/o corteza se usa como un tratamiento efectivo para desordenes gastrointestinales (disentería, dispepsia, diarrea, dolores de estómago), vértigo, náusea y para regular los períodos menstruales (19).

Por otro lado, se recomienda para anemia, rinitis, diabetes, hemorragia, asma y resfrío. La cocción de raíz sirve para tratar hidropesía, caries, hinchazón, bilis, escarlatina, hemorragia vaginal, heridas y deshidratación. Las hojas estrujadas se usan para curar heridas, úlceras y reuma y masticadas para curar las heridas en la boca (19).

La raíz, corteza, hojas y frutos verdes son muy astringentes y se emplean contra disenterías atónicas, también como remedio para la sarna y la picazón (19).

La decocción por vía tópica se recomienda en baños lavados para tratar enfermedades dermatomucosas, fístulas, leucorrea, pioderma, raspones, tiña y úlceras (19).

#### **4.5.12 Antecedentes experimentales**

En Venezuela el cataplasma de hojas en el vientre se usa para combatir obstrucción del bazo y para hinchazones. Los extractos fenólicos (guaverina, ácido

psidiolico, quercetina) de hojas y flores han demostrado actividad antibiótica contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella flexneri* (19).

En Cuba, se han realizado estudios de estandarización de la planta cruda Guayaba (*Psidium guajava*, L.) para la elaboración de una suspensión con características antidiarréicas para su estudio en ratones. A la vez determinó la composición química de las hojas, en las cuales se encuentran las características curativas (19).

Asimismo, se estudió la actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 40% de *Psidium guajava* L., se utilizó una bacteria mínima de cepas de microorganismo que incluyen *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* como grampositivo, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* como Gram negativo, la levadura *Candida albicans* mediante el método de difusión en agar. Los resultados obtenidos indicaron una respuesta antibacteriana baja y un ausente efecto antifúngico (19).

#### **4.5.13 Farmacología Experimental**

En la literatura médica son abundantes los estudios farmacológicos y toxicológicos que se han realizado con esta planta, entre los que se encuentran la actividad antibacteriana de las hojas de extractos acuosos, salinos e hidroalcohólicos frente a *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhosa*, *Sarcina lutea*, *Neisseria gonorrhoea* y los extractos metanólicos, acetona, n-hexano, frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes*. El extracto acuoso de raíz y hojas es antibacteriano; el extracto metanólico de los frutos verdes es activo contra *Shigella spp.* y *Vibrio cholerae* (3).

Se ha demostrado la actividad positiva de un extracto acuoso (infusión) de esta planta frente a *Mycobacterium phole* (uno de los agentes causantes de tuberculosis) el efecto antiespasmódico e hipoglicemiante del fruto, así como los efectos antilipolíticos de las hojas (3).

#### **4.5.14 Actividad antimicrobiana**

Los estudios farmacológicos pre clínicos han demostrado su efecto antimicrobiano sobre patógenos gastrointestinales que incluye un efecto anti-giardiasis, contra diferentes bacterias Gram positivas y Gram negativas (19).

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. neumoniae*, *S. flexneri*, *P. aeruginosa*, es inactiva contra *V. cholera* y *N. gonorrhoea* (3) (18).

La tintura inhibe 80% de cepas de *E. coli*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *S. pyogenes*; el mejor disolvente es el etanol y la CIM 5mg/ml para *S. typhi* y *S. aureus*. Estudios *in vivo* no demuestran reducción del tiempo de curación en un modelo de keratoconjuntivitis en cobayo por *S. dysenteriae* (3) (18).

Además, se ha comprobado la actividad antimicrobiana de un extracto salino contra *Escherichia coli* y de un extracto hidroalcohólico frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (18).

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 MATERIALES**

#### **5.1.1 Material microbiológico**

Cepas de bacterias aisladas en casos de lechones con enteritis.

#### **5.1.2 Material vegetal**

- Infusión de hojas deshidratadas de Guayaba (*Psidium guajava*, L.)

#### **5.1.3 Materiales de laboratorio**

- Cajas de Petri descartables (simples y cuadrplete o cajas Petri de 4 compartimientos)
- Cristalería (probetas, beakers, erlenmeyers, tubos de ensayo)
- Tubos de ensayo
- Papel filtro
- Guantes
- Micropipetas automáticas unicanal
- Micropipetas automáticas multicanal
- Puntas amarillas de 200  $\mu$ L
- Plantilla para siembra
- Disolventes: agua desmineralizada
- Agua potable

#### **5.1.4 Reactivos**

- Agar McConkey
- Agar Sangre
- Agar Müeller-Hinton
- Agar BHI
- Agar Tripticasa soya
- Caldo Tripticasa soya
- Solución salina estéril

#### **5.1.5 Material farmacológico**

- Enrofloxacin

#### **5.1.6 Equipo de laboratorio**

- Autoclave
- Incubadora 35 y 36°C
- Campana bacteriológica con flujo laminar
- Balanza analítica
- Quemador de asas
- Asas de aislamiento
- Gradillas
- Refrigeradora
- Cámara fotográfica
- Útiles de oficina (lápiz, lapicero, computadora, impresora, hojas, tinta)

### **5.1.7 Área de trabajo**

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

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

### **5.1.8 Recursos humanos**

- Estudiante Investigadora
- Asesores para el análisis del caso
- Personal del Laboratorio

## **5.2 MÉTODOS**

### **5.2.1 Selección de las Bacterias**

La selección de las bacterias que se utilizaron en este estudio se realizó en base a:

- El elevado número de casos que se presentan de lechones con enteritis.
- La sensibilidad antibiótica que presentaron las cepas bacterianas obtenidas, causantes de enteritis en lechones frente a pruebas con antimicrobianos comerciales mediante agar Müller-Hinton.

### **5.2.2 Obtención de las Bacterias**

- Las cepas bacterianas se obtuvieron del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia provenientes de casos reportados de lechones con enteritis.

### **5.2.3 Selección de la Planta**

La selección de la planta que se utilizó para este estudio se realizó en base a:

- Que es nativa de Guatemala.

- Su amplia distribución en el país.
- La actividad antimicrobiana comprobada en estudios realizados en cultivos bacterianos de enfermedades entéricas en Medicina Humana.
- El amplio espectro que posee esta planta contra bacterias Gram positivas y/o Gram negativas.

#### 5.2.4 Obtención del material vegetal

El material vegetal lo obtuve del Laboratorio de Productos Naturales, FARMAYA, S.A en donde se encuentra la muestra de referencia del herbario institucional.

A continuación, se describe el nombre científico, nombre común, número de herbario, parte de la planta, disolvente y procedencia de la planta a estudiar:

Nombre científico	Nombre común	Numero de Herbario	Parte	Disolvente	Procedencia
<i>Psidium guajava, L.</i>	Guayaba	210	Hoja	Agua	San José Pinula
		210	Corteza	Agua	San José Pinula

(5)

### **5.2.5 Resiembra de cepas bacterianas**

Para la resiembra de bacterias se utilizó como medio de enriquecimiento agar sangre.

#### ***Escherichia coli:***

Para la resiembra de estas cepas bacterianas se tomó una azada del medio donde se encontraba (agar sangre) y fue sembrada por agotamiento en un nuevo agar sangre, se dejó incubar por 24 horas a 35°C.

#### ***Salmonella typhimurium:***

En este caso la bacteria estaba liofilizada y para ello se agregaron 3 ml de agua destilada, se homogenizó, tomó una azada, se sembró por agotamiento, dejándolos incubar por 24 horas a 35 °C.

#### ***Clostridium perfringes tipo A:***

Para la resiembra de esta bacteria se utilizó el método por anaerobiosis; se tomó una azada del medio donde se encontraba (agar sangre), se sembró agotamiento; para la incubación se colocó en una jarra de anaerobiosis 20 ml de ácido pirogálico al 20% y 20 ml de hidróxido de potasio al 5%, colocando las siembras dentro de la jarra, se sellaron con vaselina de modo que no existiera presencia de aire. Se dejaron incubar por 48 horas a 35°C. Al *Cl. perfringes* se le corrió la técnica de Gram para determinar en qué estado se encontraba la bacteria.

*Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* fueron resembradas en agar Müeller-Hinton, mientras que para *Clostridium perfringes* tipo A se utilizó BHI (Brain Heart Infusion); fueron aisladas 24 y 48 horas respectivamente antes de la realización del bioensayo e incubadas a 36 °C<sup>1</sup>. Transcurrido ese tiempo fueron sembradas en agar Müeller-Hinton, después en caldo tripticosa soya e incubadas nuevamente a 36 °C por 24 horas para la purificación de las mismas.

### 5.2.6 Obtención de la Infusión

La infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.), se preparó al 20 %. Se pesaron 20 gramos de material deshidratado de hoja de Guayaba, se calentaron 100 mililitros de agua destilada.

Para que fuera significativo por el agua que la planta absorbe, se calentaron 200 mililitros de agua destilada, se agregaron 40 gramos de hoja de guayaba y finalmente se obtuvieron 100 mililitros de infusión al 20 %.<sup>2</sup>

### 5.2.7 Validación del Estudio

Para la validación del ensayo se determinó la relación dosis-efecto en diferentes concentraciones con enrofloxacin al 5% (por su amplio espectro sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas). La enrofloxacin se utilizó como control positivo de inhibición y como control experimental, la infusión de hoja de Guayaba al 20% (*Psidium guajava*, L.).<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> De Romillo, B. 2012 (Comunicación personal)

<sup>2</sup> Gaitán, I. 2012. (Comunicación personal)

<sup>3</sup> Cáceres, A; Gaitán, I. 2011. (Comunicación personal)

### **5.2.8 Preparación de los controles:**

Se prepararon 6 tubos con 9 mililitros de agar Müeller-Hinton (previamente esterilizados). Asimismo, fueron preparados 5 tubos con 5 concentraciones 1:2 con enrofloxacin iniciando con 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, 0.0325% y 0.01625%.

Luego se colocó 1 ml de cada una de las concentraciones en diferentes cajas de petri y se agregaron 9 ml de agar Müeller-Hinton, se homogenizaron dejándolos enfriar a temperatura ambiente posteriormente incubándolos por 24 horas a 36 °C (13).

### **5.2.9 Demostración de la eficacia antibacteriana de la infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) por el método de macrodilución**

#### **5.2.9.1 Preparación del agar planta**

Para determinar la actividad antimicrobiana de la infusión de hoja de guayaba, se tomó como base el método de dilución descrito por Mitscher *et al.* 1972. Para la elaboración del agar planta se prepararon tubos (se esterilizó y enfrió) con 9 ml de agar Müeller-Hinton y 1 ml de extracto de hoja de *Psidium guajava*, L., para una concentración de 10 mg/ml para finalmente obtener 1 mg/ml. A continuación, fueron agitados y vertidos en cajas de Petri estériles; se dejaron incubar a 36°C por 24 horas para determinar la esterilidad.

#### **5.2.9.2 Purificación de las cepas bacterianas y preparación del inóculo**

Para la purificación de las cepas bacterianas se utilizó agar Müeller-Hinton en donde se hizo una siembra por agotamiento para las bacterias *Escherichia coli*

y *Salmonella typhimurium*, se dejaron incubar a 35°C por 24 horas; para *Clostridium perfringes* tipo A se utilizó agar BHI incubé a 35°C 48 horas.

Luego se tomó de cada uno de los cultivos, una asada y fueron inoculados en caldo tripticasa soya, nuevamente se incubaron a 36°C por 24 y 48 horas. (14).

### **5.2.9.3 Inoculación**

Transcurridas las horas de incubación para cada una de las bacterias se tomaron 50 µl (0.05 ml) de caldo tripticasa soya con las bacterias, se colocaron en un tubo con 4.95 ml de solución salina estéril (0.85%) para finalmente obtener una concentración 1:100. Inmediatamente, fueron agitados y con el asa flameada se tomó una asada, se inocularon en el agar, planta haciendo 5 repeticiones en forma radial por microorganismo, quedando de la siguiente forma: en las posiciones 2, 4, 8 9 y 10 *Escherichia coli*, en las posiciones 1, 3, 5, 11 y 12 *Salmonella typhimurium*; en el caso de *Clostridium perfringes* tipo A, se realizaron las repeticiones 24 horas después por el tiempo de crecimiento utilizando en el agar, las posiciones 1, 4, 7, 8, 11; dejándolas incubar a 35°C por 24 y 48 horas respectivamente, se obtuvieron resultados (14).

### **5.2.10 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por medio de la técnica de macrodilución**

Para determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la infusión con actividad positiva, se utilizaron cajas cuadrilate, realizando diluciones seriadas (20%, 10%, 5%, 2.5% 1.25%, 0.625%) hasta encontrar la concentración mínima a la que las bacterias fueron inhibidas e incubándolas a 36°C por 24 horas y 48 horas (14).

### **5.2.10.1 Preparación del agar planta**

Se prepararon tubos de ensayo con 4, 3.6, 3.8 y 3.9 ml de agar Müeller-Hinton, posteriormente fueron esterilizados y enfriados. Mientras tanto, fueron preparados la infusión de hoja de guayaba (*Psidium guajava L.*) al 20% (arriba se menciona la forma de preparación de la misma). Inmediatamente, se colocaron 4 ml de agar Müeller-Hinton en el cuarto superior derecho de la caja cuadriplate como control; en el cuarto inferior derecho se colocaron 3.6 ml de agar Müeller-Hinton más 0.4 ml (400 µl) de extracto de hoja de guayaba, eso corresponde al 20%; en el cuarto inferior izquierdo se colocaron 3.8 ml de agar Müeller-Hinton más 0.2 ml (200 µl) de extracto de guayaba y corresponde al 10% y en el cuarto superior izquierdo se colocaron 3.9 ml de agar Müeller-Hinton más 0.5 ml (100 µl) de extracto de guayaba.

Las concentraciones se hicieron en dirección del movimiento de las agujas del reloj (14).

El procedimiento que se empleó para la purificación de las cepas bacterianas y preparación del inóculo es el mismo.

### **5.2.10.2 Inoculación**

La inoculación se llevó a cabo tomando tres azadas de la solución salina estéril (arriba se describe la preparación) con el microorganismo, se inoculó tres veces en cada uno de los cuartos con las diferentes concentraciones del agar, se dejó incubar a 36°C por 24 para *E. coli* y *S. typhimurium* y 48 horas para *Clostridium perfringes* tipo A, se obtuvieron resultados.

### **5.2.10.3 Los resultados se interpretaron de la siguiente forma:**

**Actividad negativa:** hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Actividad positiva:** no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Contaminación:** hubo crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación (14).

### **5.2.11 Determinación de la bacteria que presentó mayor sensibilidad *in vitro* a la infusión de la hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.)**

Para la determinación de la bacteria que presentó mayor sensibilidad a la infusión de hoja de guayaba (*Psidium guajava*, L.), se tomaron como base los resultados obtenidos en la concentración inhibitoria mínima (CIM).<sup>4</sup>

## **5.3 Diseño estadístico**

Para este estudio se utilizó un diseño no probabilístico.

### **5.3.1 Análisis estadístico**

El análisis estadístico se desarrolló por medio de tablas.

---

<sup>4</sup> Chang, DE. 2012. (Comunicación personal)

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Tabla No. 1: Resultados obtenidos de la eficacia antibacteriana de la infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) al 20% por el método de macrodilución (agar planta)

Control experimental					
Extracto: Infusión de hoja de Guayaba 20%					
Posiciones inoculadas	<i>Escherichia coli</i>	Posiciones inoculadas	<i>Salmonella typhimurium</i>	Posiciones inoculadas	<i>Clostridium perfringes tipo A</i>
2	+	1	+	2	+
4	+	3	+	4	+
8	-	5	+	6	+
9	-	11	+	8	+
10	-	12	+	12	+

### Interpretación de resultados:

**Actividad negativa:** hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Actividad positiva:** no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Contaminación:** hubo crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación (13).

**6.1.2 Tabla No. 2: Resultados obtenidos de la eficacia antibacteriana del antibiótico de referencia por el método de macrodilución (Enrofloxacina 5%)**

Antimicrobiano: Enrofloxacina 5%					
Posiciones inoculadas	<i>Escherichia coli</i>	Posiciones inoculadas	<i>Salmonella typhimurium</i>	Posiciones inoculadas	<i>Clostridium perfringens tipo A</i>
2	+	1	+	2	+
4	+	3	+	4	+
8	+	5	+	6	+
9	+	11	+	8	+
10	+	12	+	12	+

**Interpretación de resultados:**

**Actividad negativa:** hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Actividad positiva:** no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Contaminación:** hubo crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación (13).

**6.2 Tabla No. 3: Resultados obtenidos de la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) por el método de macrodilución (agar planta)**

Concentraciones del extracto	Control experimental		
	Extracto: Infusión de Hoja de Guayaba al 20%		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Clostridium perfringes tipo A</i>
Control	-	-	-
20%	-	+	+
10%	-	-	+
5%	-	-	+
2.5%	NSR	NSR	+
1.25%	NSR	NSR	-
0.625%	NSR	NSR	-

**Interpretación de resultados:**

**Actividad negativa:** hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Actividad positiva:** no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Contaminación:** hubo crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación (14).

**6.2.1 Tabla No. 4: Resultados obtenidos de la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del antibiótico de referencia por el método de macrodilución (Enrofloxacin 5%)**

Concentraciones del AB	Antimicrobiano: Enrofloxacin 5%		
	<i>Escheirchia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Clostridium perfringes tipo A</i>
5%	+	+	+
2.50%	+	+	+
1.25%	+	+	+
0.625%	-	-	-
0.3125%	-	-	-
0.1562%	-	-	-

**Interpretación de resultados:**

**Actividad negativa:** hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Actividad positiva:** no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Contaminación:** hubo crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación (14).

**6.3 Tabla No. 5: Resultados obtenidos de la determinación de la bacteria que presentó mayor sensibilidad *in vitro* a la infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) por el método de macrodilución (agar planta)**

	Control experimental		
	Extracto: Infusión de Hoja de Guayaba al 20%		
Concentraciones del extracto	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Clostridium perfringes</i> tipo A
Control	-	-	-
20%	-	+	+
10%	-	-	+
5%	-	-	+
2.5%	NSR	NSR	+
1.25%	NSR	NSR	-
0.625%	NSR	NSR	-

**Interpretación de resultados:**

**Actividad negativa:** hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Actividad positiva:** no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

**Contaminación:** hubo crecimiento de microorganismos fuera de la inoculación (14).

## VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La guayaba (*Psidium guajava L.*), tiene diversos usos medicinales y son numerosas las investigaciones científicas de las propiedades antimicrobianas, antidiarréicas, espasmolíticas, antisecretoras, antiinflamatorias así como de la inhibición de la motilidad intestinal sobre los extractos acuosos de las hojas de esta planta en donde los flavonoides presentes son de gran importancia; también se mencionan propiedades antihelmínticas, antisépticas, astringentes, laxativa (3) (28).

Cáceres y Martínez, mencionan que dentro de las propiedades antibacterianas reportadas es el efecto positivo contra bacterias que causan enteritis y han demostrado que, mediante estudios realizados tanto *in vitro* como *in vivo* en medicina humana la guayaba (*Psidium guajava L.*) por medio de tinturas y extractos etanólicos y fenólicos de diversas partes de la planta incluyendo las hojas, actúa contra patógenos bacterianos tanto gram positivos como gram negativos, causantes de diarreas bacterianas. Sin embargo, existen escasos estudios donde se reporta el uso de la infusión de las hojas de esta planta (3) (18).

Para este estudio se decidió comprobar la eficacia antibacteriana de la infusión de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) por medio de la técnica de macrodilución, tomando como base el método de dilución descrito por Mitscher *et al.* 1972 (ver desde pág. No. 53)

La técnica de dilución se compone de dos fases: la etapa de tamizaje y la etapa de diluciones seriadas para la concentración inhibitoria mínima (CIM).

La primera en mención consiste en poner de manifiesto la inhibición del crecimiento de una bacteria determinada en condiciones estándar con una concentración previamente determinada como punto de corte (500-1000 mg/ml) de un extracto, fracción o compuesto de una droga vegetal; y la segunda consiste en la cuantificación de la concentración mínima de un extracto, fracción o compuesto (originado de una droga vegetal) que previene el crecimiento visible de microorganismos, es decir, que ha demostrado su actividad en una prueba de tamizaje previo (13).

Para su realización se emplean diluciones seriadas del extracto y concentraciones constantes del microorganismo y se evalúa el crecimiento del mismo en un ensayo estandarizado similar al que sirvió el tamizaje (13).

Dentro de los resultados obtenidos en relación a la determinación de la eficacia de la infusión obtuve que, para *Escherichia coli* no es completamente efectiva como antimicrobiano debido a que de las cinco posiciones inoculadas (2, 4, 8, 9 y 10), en tres de ellas (8, 9 y 10) hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo (ver tabla 1).

Dannenber, Richter, Wesche, 1975 mencionan que *E. coli* por ser una bacteria bastante común causante de diarreas en lechones de temprana edad y por la administración de antibióticos comerciales ha desarrollado resistencia a ellos; Thomson, 2002 también hace referencia que por su capacidad de adaptarse a las condiciones ambientales adquiere resistencia a los antibióticos con mucha mayor facilidad que otras bacterias; es por eso que en este estudio resultó ser resistente a la infusión de hoja de Guayaba.

Sin embargo, para *Salmonella typhimurium* obtuve 100% de efectividad antimicrobiana debido a que no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del

inóculo en ninguna de las cinco posiciones (1, 3, 5, 11, 12: ver tabla No. 1); esto quiere decir que la infusión tiene efecto sobre *S. typhimurium* y, por ser esta una bacteria comúnmente reportada en casos de diarreas en lechones, puede ser administrada en el campo.

En el caso de *Clostridium perfringes* tipo A, se utilizó agar BHI (Brain Heart Infusion) como medio de cultivo el cual llena los requerimientos nutritivos de esta bacteria, así como de 48 horas de incubación para lograr resultados confiables.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la efectividad fue 100% debido a que no hubo crecimiento alrededor del inóculo en ninguna de las cinco posiciones inoculadas (2, 4, 6, 8, 12: ver tabla No. 1). La infusión de hoja de Guayaba dio un efecto positivo sobre esta bacteria en la fase *in vitro* y se espera que se presente de la misma manera *in vivo*.

Con respecto a la Concentración inhibitoria mínima (CIM) de la infusión de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) sobre *E. coli* no se determinó, debido a que la bacteria creció en las diferentes concentraciones de la infusión siendo estas 20%, 10% y 5%. (Ver tabla No. 3).

En el caso de *S. typhimurium* el resultado fue positivo en relación a la actividad antibacteriana, porque no hubo crecimiento homogéneo alrededor del inóculo en la concentración del 20%, esto quiere decir que la CIM para esta bacteria es 20% por lo que se necesitan 200 mg/ml de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) para dar un tratamiento (Ver tabla No. 3).

Para *Clostridium perfringes* tipo A, requerí de realizar diluciones abajo del 5% por lo que necesité más tiempo para llevarlo a cabo. Finalmente obtuve que la CIM para esta bacteria fue del 2.5% lo que significa que se necesitan 25 mg/ml de

hoja de Guayaba para controlar una diarrea causada por este microorganismo. (Ver tabla No. 3).

Estudios han comprobado que los flavonoides presentes en la hoja de Guayaba son capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona auriginosa* y *Candida albicans*, entre otros.

Rivera-Arce, 2003 menciona que debido a la propiedad antimicrobiana de los extractos de hoja de Guayaba, varios años después renació el interés por conocer los efectos antibióticos de la mezcla de algunos flavonoides (efecto sinérgico) en comparación a la de cada uno de ellos por separado. Ahora se sabe existen dos grupos de flavonoides de la hoja de esta planta, los derivados de la quercetina (guajaverina, 3-o- $\beta$ -D-glucosil-quercetina, hiperósido, quercitrina, avicularina y 3-o-genciobilosil-quercetina) y los derivados de la morina, (3-o- $\alpha$ -L-arabopiranosil-morina); que la mezcla de quercetina, quercitrina y morina posee una potente actividad inhibitoria del crecimiento de los cultivos de *Salmonella enteritidis* y *Bacillus cereus*, efecto que es potenciado mediante la adición de otro flavonoide, la rutina.

En este estudio en donde se utilizó una infusión (extracto acuoso) y no un extracto metanólico, es probable que los flavonoides contenidos en la hoja de esta planta no hayan sido liberados completamente y se consideró que en el caso de la bacteria *E. coli* se requiere una concentración mayor al 20% para poder obtener la eficacia antimicrobiana de la misma.

Sin embargo, en el caso de *S. typhimurium* y *Cl. perfringes* tipo A, el efecto antimicrobiano fue comprobado por medio de diferentes concentraciones que

pueden ser utilizadas en el campo como un antidiarréico natural, en los animales que padezcan de diarreas causadas por bacterias.

Para determinar cuál de las tres bacterias (*E. coli*, *S. typhimurium*, *Cl. perfringes* tipo A) en estudio resultó ser la más sensible a la infusión de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava* L.), tomé como base los resultados obtenidos de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y determiné que la bacteria con mayor sensibilidad a la infusión fue *Cl. perfringes* tipo A, debido a que requirió la menor concentración para el control su crecimiento.

Los resultados que obtuve en el control del antibiótico para las bacterias *E. coli*, *S. typhimurium* y *Cl. perfringes* tipo A, que corresponde a las diferentes concentraciones de enrofloxacin fue positivo en relación a la actividad antibacteriana debido a que al 5%, 2.5%, 1.25%, no hubo crecimiento homogéneo alrededor del inóculo, sin embargo, en concentraciones de 0.625%, 0.3125% y 0.1562% el resultado obtenido fue negativo debido a que hubo crecimiento homogéneo alrededor de la inoculación.

Dannenber, 1975, menciona que para hacer la elección del antibiótico debe basarse en la susceptibilidad del agente por medio de un antibiograma, dado que la medicación debe comenzarse antes. En este estudio el antibiótico de referencia para las 3 bacterias fue Enrofloxacin al 5%.

Rivera-Arce, 2003 menciona que los componentes de la hoja en los extractos acuosos (infusiones) y metanólicos demuestran que los flavonoides también son los responsables de los efectos antiespasmódicos e inhibidores del peristaltismo; también se sugiere que la capacidad antimicrobiana del extracto acuoso, cuando es rico en flavonoides, influye positivamente en su uso como antidiarréico.

Los estudios realizados han reconocido científicamente que las hojas de guayaba pueden ser utilizadas para el desarrollo de fitofármacos para el tratamiento de las disfunciones más comunes del aparato gastrointestinal, principalmente las diarreas bacterianas (28).

En este estudio se comprobó que la infusión de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) es una alternativa económica, de fácil acceso y preparación en las comunidades en donde pueda implementarse la medicina alternativa en los animales; ya que se obtuvo un efecto antibacteriano sobre las principales bacterias que causan enteritis en lechones.

## VIII. CONCLUSIONES

1. La actividad antibacteriana de la infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) *in vitro* fue eficaz sobre *Salmonella typhimurium* y *Clostridium perfringes* tipo A, las principales bacterias que causan diarrea en lechones, sin embargo, no resultó eficaz contra *Escherichia coli*.
2. La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la infusión de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) para *Escherichia coli* no pudo ser determinada ya que hubo crecimiento bacteriano en todas las diluciones evaluadas (5%, 10% 20%).
3. La CIM de la infusión de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) para *Salmonella typhimurium* fue del 20% (200 mg/ml) y, para *Clostridium perfringes* tipo A fue de 2.5% (25 mg/ml).
4. *Clostridium perfringes* tipo A fue la bacteria con más sensibilidad a la infusión de Hoja de Guayaba (*Psidium guajava L.*) debido a que fue inhibida con la concentración más baja.

## IX. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio para comprobar la eficacia *in vitro* de la infusión de hoja de Guayaba a una concentración mayor al 20% sobre la bacteria *Escherichia coli*.
2. Realizar un estudio *in vivo* para comprobar la eficacia antibacteriana de la infusión de Hoja de Guayaba para el control de enteritis bacteriana en lechones.

## X. RESUMEN

Las enteritis constituyen una de las infecciones más comunes en las explotaciones porcinas a nivel mundial. Su etiología es multifactorial y compleja en donde interactúan microorganismos, medio ambiente y condiciones del hospedador causando un alto impacto económico.

Las plantas medicinales se han utilizado como tratamiento de enfermedades en humanos, sin embargo, en la actualidad la fitoterapia ha desempeñado una función importante en el campo de la Medicina Veterinaria, que brinda terapias naturales y económicas para el control de distintas enfermedades.

Estudios realizados demuestran la eficacia antibacteriana de la hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) utilizados para tratamiento de infecciones bacterianas (principalmente diarreas) en el área de la Medicina Veterinaria y por ser una alternativa poco común, se comprobó la eficacia antibacteriana *in vitro* de la infusión de hojas de la misma.

Los resultados obtenidos revelan que la infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava*, L.) es efectiva sobre *S. tiphymurium* y *Cl. perfringes* tipo A, sin embargo, sobre *E. coli* no tuvo efecto positivo. La CIM para *S. tiphymurium* fue de 20% y *Cl. perfringes* tipo A fue de 2.5%, mientras que para *E. coli* no hubo actividad. La bacteria más sensible resultó ser *Cl. perfringes* tipo A porque su crecimiento fue inhibido con la concentración más baja de 5% (25 mg/ml).

## SUMMARY

The enteritis are one of the most common infections in pig farms around the world. Its etiology is multifactorial and complex where microorganisms, environment and host conditions interact causing high economic impact.

Medicinal plants have been used as treatment of disease in humans, however, currently phytotherapy has played an important role in the field of Veterinary Medicine, which provides economic and natural therapies to control various diseases.

Some studies have demonstrated the antibacterial efficacy of guava leaf (*Psidium guajava*, L.) used for treating bacterial infections (specially diarrhea) in the area of veterinary medicine and for being a commonplace alternative was tested in vitro antibacterial efficacy infusion of leaves thereof.

The results show that infusion of guava leaf (*Psidium guajava* L.) is effective on *S. typhimurium* and *Cl. perfringens* type A, however, on *E. coli* had no positive effect. The MIC for *S. typhimurium* was 20% and *Cl. perfringens* type A was 2.5%, whereas *E. coli* was not active. Bacteria proved to be more sensitive *Cl. perfringens* type A because their growth was inhibited with the lowest concentration of 5% (25 mg / ml).

## XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso, MJ; Casique, SM. ¿Diarrea en sus lechones? s.f. (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.veterinaria.org/revistas/vet\\_inf\\_inf\\_tripod/porcinos/enter/coliclost.htm](http://www.veterinaria.org/revistas/vet_inf_inf_tripod/porcinos/enter/coliclost.htm)
2. Ara Roldán, A. 1997. Cien plantas medicinales escogidas: Guía terapéutica. 4 ed. Madrid, ES, EDAF. 411 p.
3. Cáceres, A. 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala, GT, Universitaria. p. 194-197
4. Carranza AI; Corrales JP. 2006. Enfermedades que producen diarrea en cerdos en las etapas de desarrollo y terminación (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_porcina/00-v-congreso\\_prod\\_porcina/13-carranza\\_101.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_porcina/00-v-congreso_prod_porcina/13-carranza_101.pdf).
5. Chávez López, JJ. 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 Lic. Med. Vet.* Guatemala, GT USAC/FMVZ. p. 23
6. Consejo General de Colegios Veterinarios, Esp. s.f. Enfermedades entéricas en porcino (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet\\_inf\\_inf\\_tripod/porcinos/enter/enfermedadesentéricaspor.htm](http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet_inf_inf_tripod/porcinos/enter/enfermedadesentéricaspor.htm)



7. Dannenberg, HD; Richter, W; Wesche, WD. 1975. Enfermedades del Cerdo. Trad. JE Escobar. 2 ed. Zaragoza, ES, Acribia. p. 146-156
8. Diarrea Neonatal por *Escherichia coli*: Enfermedades de los porcinos. 2005 (en línea). Consultado 10 oct. 2010. Disponible en [http://www.aacporcinos.com.ar/porcinos\\_sistema\\_productivo/porcinos\\_sanidad/diarrea\\_neonatal\\_por\\_escherichia\\_coli.html](http://www.aacporcinos.com.ar/porcinos_sistema_productivo/porcinos_sanidad/diarrea_neonatal_por_escherichia_coli.html)
9. Dunne, HW. 1967. Enfermedades del Cerdo. Trad. J Pérez Lías, A Beltrán. 2 ed. México, D.F., Hispanoamericana. p. 421-430, 499-504
10. Echemendía, Salix CE; Morón Rodríguez F; 2004. Tintura de hojas de *Psidium guajava* L. en pacientes con diarrea aguda simple (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9\\_3\\_04/pla08304.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_3_04/pla08304.htm)
11. Enfermedades Clostridiales. s.f. (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet\\_enf\\_inf\\_tripod/porcinos/enter/clostridia.htm](http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet_enf_inf_tripod/porcinos/enter/clostridia.htm)
12. Enteritis Necrótica de los lechones. s.f. (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.hipra.com/wps/portal/web/inicio/conocimientoHipra/patologias/lut/p/c4/04\\_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3gDU8dASydDRwMLpwADA09PC2cXA3MnA28LE\\_2CbEdFAIQWwfY!/?WCM\\_GLOBAL\\_CONTEXT=/web\\_es/hipra/secciones/conocimientodehipra/patologias/porcinos/pt20100707170730](http://www.hipra.com/wps/portal/web/inicio/conocimientoHipra/patologias/lut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3gDU8dASydDRwMLpwADA09PC2cXA3MnA28LE_2CbEdFAIQWwfY!/?WCM_GLOBAL_CONTEXT=/web_es/hipra/secciones/conocimientodehipra/patologias/porcinos/pt20100707170730)
13. Gaitán, I. 2005. Tamizaje de la actividad antibacteriana *in vitro*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 30 p.



14. Gaitán, I. 2005. Concentración inhibitoria mínima (CIM). Guatemala, GT, Universitaria. 25 p.
15. García Lemus, HA; Zea de Hernández, J. 2004. Patología Veterinaria. Guatemala, GT, Universitaria. 198 p.
16. Gutiérrez, YI; Miranda M; Bilbao, O. 1999. Suspensión Oral Antidiarréica de *Psidium guajava*, L. (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol34\\_1\\_00/far06100.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol34_1_00/far06100.htm)
17. Hypor finaliza el acuerdo de adquisición de France Hybrides. 2008. (en línea). Consultado 16 dic. 2010. Disponible en: <http://www.hypor.es/dbdocs//48bbfe3564ce4.pdf>
18. Martínez, MJ; Molina, N; Boucourt, E. 1997. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba). (en línea). Consultado 08 oct. 2010. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v2n1/pla03197.pdf>
19. Martínez, MJ *et al.* 2001. Estudio Toxicológico preclínico de la *Psidium guajava* L. (guayaba) (en línea). Consultado 08 oct. 2010. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111107/110703.pdf>
20. Martínez López, VM. 2009. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de seis especies de plantas de uso medicinal sobre bacterias causantes de mastitis en vacas lecheras. *Tesis Lic. Med. Vet.* Guatemala, GT USAC/FMVZ. p. 19
21. Microbiología. s. f. (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en <http://www.elergonomista.com/microbiologia/perfri.htm>



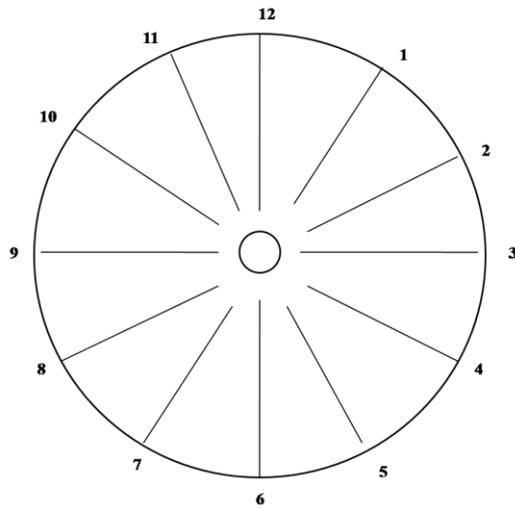
22. Modak B, *et al.* 2001. Actividad antibacteriana de flavonoides aislados del exudado resinoso de *heliotropium sinuatum*: efecto del tipo de estructura. (en línea). Consultado 19 mar. 2011. Disponible en [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0366-16442002000100005](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-16442002000100005)
23. Montejo Cuenca, E *et al.* 2001. Tratamiento alternativo de la diarrea producida por *Cándida albicans* en el cerdito (en línea). Consultado 28 ene. 2011. Disponible en <http://grciencia.idict.cu/index.php/grancien/article/viewArticle/39>
24. Ostrosky, EA *et al.* 2008. Métodos para evaluación antimicrobiana y determinación de concentración Inhibitoria Mínima. (en línea). Consultado 23 ene. 2011. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n2/26.pdf>
25. Ozaeta Gordillo, CM; Guancín Pérez, MJ; Flores Argueta, PA. 2008. Comparación de procedimientos macro y micro para evaluar la actividad inhibitoria de hongos y levaduras patógenos al hombre. *Tesis Lic. QB.* Guatemala, GT USAC/FCQF. p. 61
26. Pineda, Y. 1992. Etiología bacteriana de la diarrea en cerdos de Venezuela (en línea). Consultado 31 ene. 2011. Disponible en [http://sian.inia.gov.ve/repositorio/revistas\\_ci/VeterinariaTropical/vt17/texto/ypineda.htm](http://sian.inia.gov.ve/repositorio/revistas_ci/VeterinariaTropical/vt17/texto/ypineda.htm)
27. *Psidium guajava* L. s.f. (en línea). Consultado 08 oct. 2010. Disponible en [http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/52myrta3m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/52myrta3m.pdf)



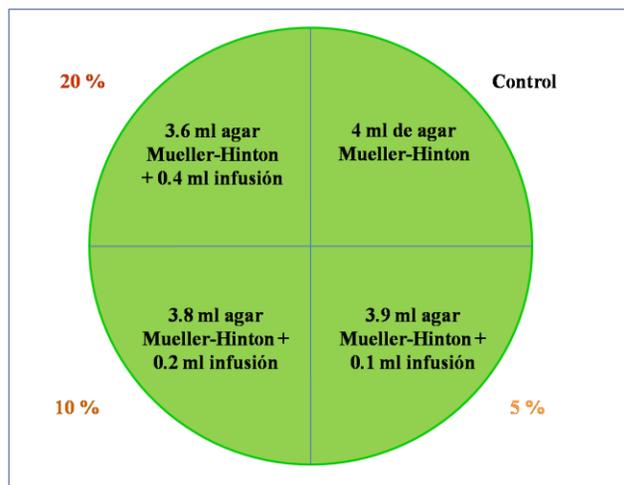
28. Rivera-Arce, E. 2003. La hoja de guayabo en el tratamiento de afecciones gastrointestinales (en línea). Consultado 14 may. 2013. Disponible en [http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/R\\_DF3\\_2\\_GUAYABO.pdf](http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/R_DF3_2_GUAYABO.pdf)
29. Salmonelosis. s.f. (en línea). Consultado 22 ene. 2011. Disponible en [http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet\\_enf\\_inf\\_tripod/porcinos/enter/salmonelosis.htm](http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet_enf_inf_tripod/porcinos/enter/salmonelosis.htm)
30. Thomson, J. 2002. Colitis: Enteropatía Proliferativa, Salmonelosis y Parásitos. (en línea). Consultado 10 oct. 2010. Disponible en [http://www.3tres3.com/diarr-eas-en-lactacion/index.php?id\\_ficha=347&id\\_rel=334](http://www.3tres3.com/diarr-eas-en-lactacion/index.php?id_ficha=347&id_rel=334)
31. Varley, MA. 1995. El lechón recién nacido: Desarrollo y supervivencia. Zaragoza, ES, Acribia. p. 18-20, 159-272



## **XII. ANEXOS**



**FIGURA 1:** Plantilla utilizada como guía para la inoculación en el agar para la técnica de macrodilución (25).



**FIGURA 2:** Esquema para la inoculación de las cepas para determinación de la CIM<sup>5</sup>

<sup>5</sup> Gaitán, I. 2012. (Comunicación personal)

## FOTOGRAFÍAS



Foto 1. Aislamiento de cepas bacterianas, Laboratorio Microbiología, FMVZ-USAC

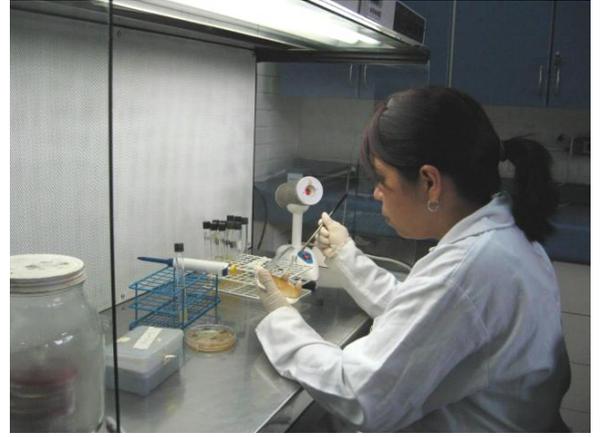


Foto 2. Inoculación en placas para determinación de CIM



Foto 3. Infusión de hoja de Guayaba (*Psidium guajava* L.)

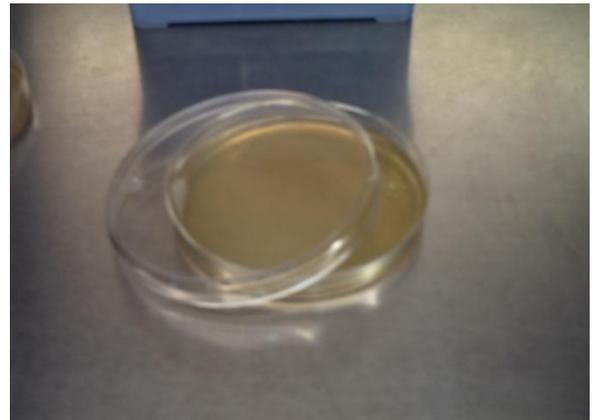


Foto 4. Agar planta

**Bacteria: *Escherichia coli***



Foto 5. *E. coli* en agar Muller-Hinton

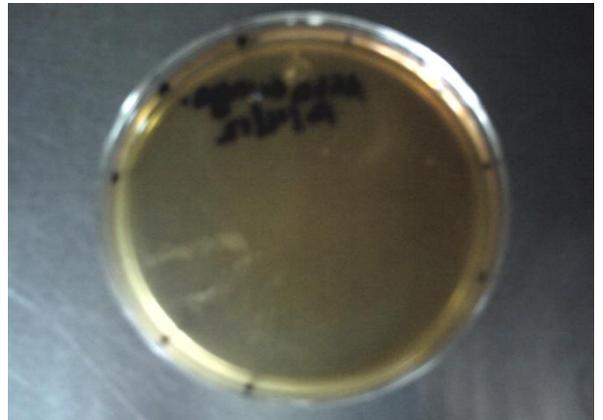


Foto 6. Placa inoculada con *E. coli* para determinación de eficacia antibacteriana

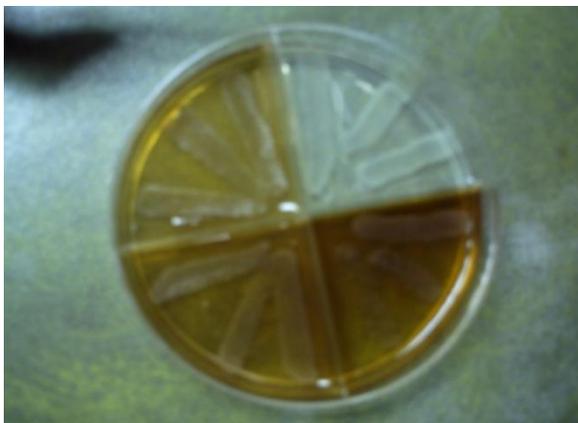


Foto 7. Resultado de *E. coli* para CIM. Resultado negativo porque hubo crecimiento alrededor del inóculo

**Bacteria: *Salmonella typhimurium***

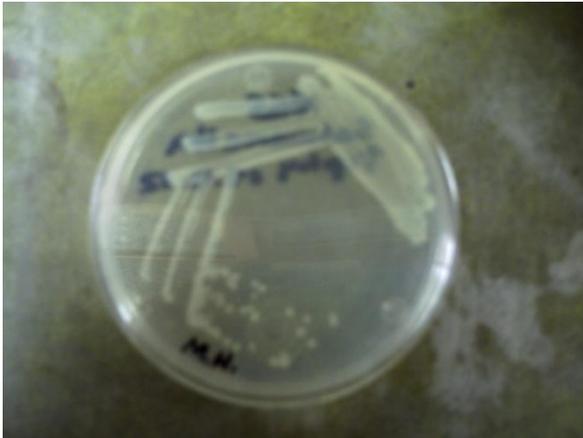


Foto 8. *S. typhimurium* en agar Müller-Hinton



Foto 9. Placa inoculada con *S. typhimurium* para determinación de eficacia antibacteriana.

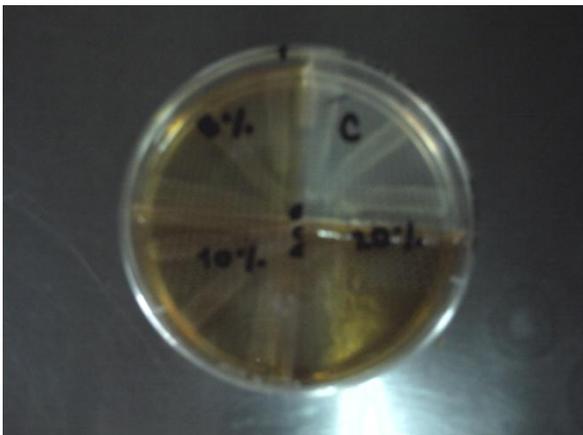


Foto 10. Resultado de *S. typhimurium* para CIM. Resultado positivo en la concentración al 20% de la infusión.

**Bacteria: *Clostridium perfringens* tipo A:**

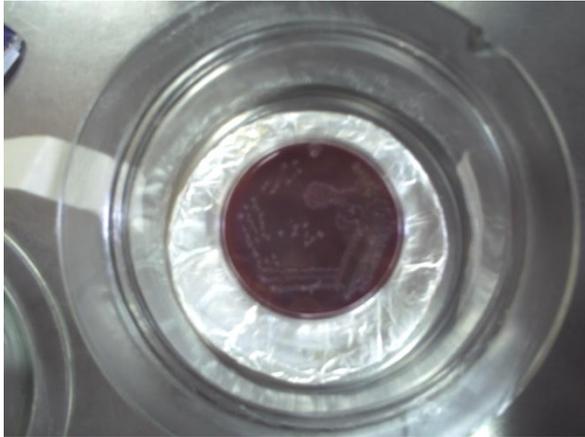


Foto 11. *Cl. Perfringes* tipo A en agar sangre

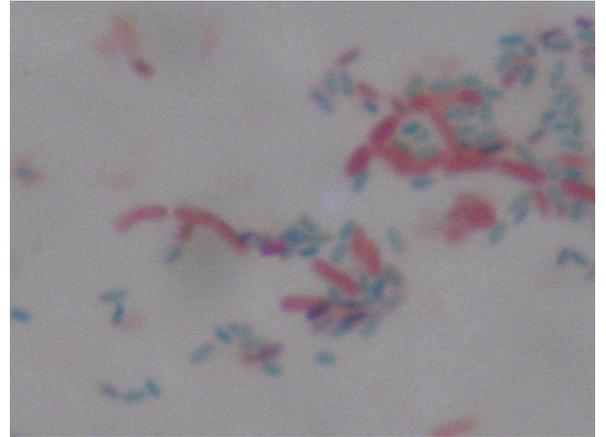


Foto 12. *Clostridium. perfringes* Tipo A, mediante la técnica Sheiffer y Fullton (para ver esporas)

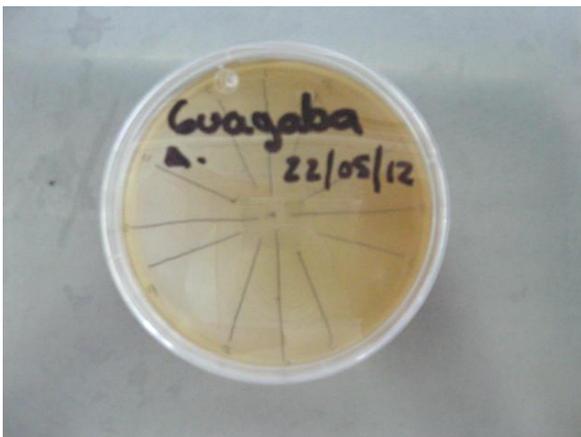


Foto 13. Placa inoculada con *Clostridium perfringes* Tipo A para determinación de eficacia antibacteriana.

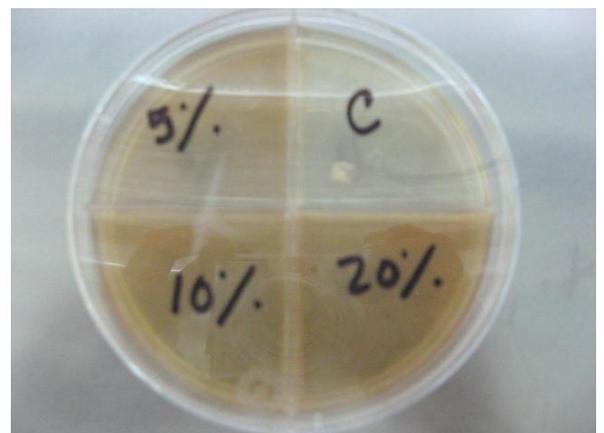
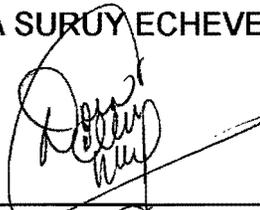
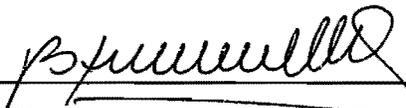


Foto 14. Resultado de *Cl. perfringes* Tipo A para CIM. Resultado positivo en la concentración al 2.5% de la infusión

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA DE "MEDICINA VETERINARIA"**  
**"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO***  
**DE LA INFUSIÓN DE HOJA DE GUAYABA (*Psidium guajava*, L.)**  
**SOBRE LAS PRINCIPALES BACTERIAS QUE CAUSAN**  
**ENTERITIS EN LECHONES"**

f   
ANA GABRIELA SURUY ECHEVERRÍA

f   
M.A. Dora Elena Chang Chang de Jo  
ASESOR PRINCIPAL

f   
M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo  
ASESOR

f   
M.A. Jaime Rolando Méndez Sosa  
ASESOR

**IMPRÍMASE:**

f   
MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez  
DECANO

