

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red robe and white collar, holding a book. Above him is a golden crown. The background is light blue with golden lions and castles. The outer ring contains the Latin text "ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CETERA".

**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**

JUAN JOSÉ CHÁVEZ LÓPEZ

GUATEMALA, MARZO 2010

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

**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

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

POR

JUAN JOSÉ CHÁVEZ LÓPEZ

COMO REQUISITO PREVIO A CONFERÍRSELE EL TÍTULO
ACADÉMICO DE

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, MARZO DE 2010

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

DECANO: Med. Vet. LEONIDAS ÁVILA PALMA
SECRETARIO: Med. Vet. MARCO VINICIO GARCÍA URBINA
VOCAL I: Med. Vet. YERI EDGARDO VÉLIZ PORRAS
VOCAL II: MSc. Med. Vet. FREDY ROLANDO GONZÁLEZ GUERRERO
VOCAL III: Med. Vet. MARIO ANTONIO MOTTA GONZÁLEZ
VOCAL IV: Br. ZET LEVÍ SAMAYOA LÓPEZ
VOCAL V: Br. LUIS ALBERTO VILLEDA LANUZA

ASESORES: Lic. ARMANDO CÁCERES
MSc. Med. Vet. DENNIS SIGFRIED GUERRA CENTENO
Med. Vet. JULIA VIRGINIA BOLAÑOS DE CORZO

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

EN CUMPLIMIENTO CON LO ESTABLECIDO POR LOS ESTATUTOS DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, PRESENTO A SU
CONSIDERACIÓN EL TRABAJO DE TESIS TITULADO:

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *in vitro* DE SEIS PLANTAS DE USO MEDICINAL
SOBRE LAS PRINCIPALES CEPAS DE BACTERIAS Y HONGOS QUE AFECTAN
PIEL Y OÍDO EN PERROS**

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

COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS:** Por su amor, fidelidad y misericordia. Gracias por la vida, las pruebas y bendiciones que me permitieron alcanzar este logro.
- A MIS PADRES:** Sandra Liceth López de Chávez, la mejor madre que nuestro Señor pudo darme, y Juan Alfonso Chávez de León (Q.E.P.D.) por ser mi inspiración y ejemplo, los amo.
- A MI FAMILIA:** Brenda Lissette Chávez López, Estela Manrique Polanco, Martha Julia Chávez de León, Luis Palemón Chávez Galicia (Q.E.P.D.) y María Angela de León de Chávez (Q.E.P.D.) por estar a mi lado apoyándome incondicionalmente con su cariño y amor.
- A MI NOVIA:** Maritza Yaquián, por completarme, guiarme y llenar mis días de luz, amor y felicidad.
- A MIS AMIGOS:** Mercedes, Gandy, Ana Cristina, Daniela, Mónica, Gloria Marisol, Rosa Marisol, Jenny, Raúl Alberto, David Isaac (Q.E.P.D.) Carlos Alfredo, Mario Estuardo, Marco Antonio, Juan René, Dennis Fernando y César Rodolfo, con cariño.
- A MIS COMPAÑEROS** Por compartir estos años a mi lado, brindándome su estima, cariño y respeto.
- A MIS PADRINOS:** Isabel Gaitán y Rolando Gudiel, por brindarme su amistad, por guiarme, y ser un ejemplo e inspiración para mi vida personal y profesional.

AGRADECIMIENTOS

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

A todos los catedráticos de esta casa de estudios que me ofrecieron sus conocimientos y algunos su amistad.

A mis asesores Lic. Armando Cáceres, MSc. Dennis Guerra y M.V. Virginia de Corzo, por su tiempo, dedicación, amabilidad y paciencia invertidas en este estudio.

Al Centro de Investigación de Etnoveterinaria y Terapias Alternativas (CIETA), en especial a la Dra. Jeannette Urdiales y la Dra. Karen Calderón, por brindarme las herramientas y facilidades para la realización de esta investigación.

Al personal del Departamento de Citohistología y del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, en especial a Isabel, Keila y Vinicio, por su apoyo, paciencia y disposición a ayudarme cada vez que lo necesité.

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

Al personal del Hospital Veterinario de Especies Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por la formación, amistad y buenos recuerdos.

A todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo de graduación.

ÍNDICE

I.	Introducción	01
II.	Objetivos	02
III.	Hipótesis	03
IV.	Revisión de literatura	04
	4.1 <i>Smilax dominguensis</i> Willd	04
	4.1.1 Nombres comunes	04
	4.1.2 Hábitat	04
	4.1.3 Etnobotánica	04
	4.1.4 Etnofarmacología	05
	4.1.5 Fitoquímica	05
	4.1.6 Principios activos	05
	4.2 <i>Acalypha guatemalensis</i> Pax & Hoffm	06
	4.2.1 Nombres comunes	06
	4.2.2 Hábitat	06
	4.2.3 Etnobotánica	06
	4.2.4 Etnofarmacología	06
	4.2.5 Fitoquímica	07
	4.2.6 Principios activos	07
	4.3 <i>Solanum americanum</i> Miller	07
	4.3.1 Nombres comunes	07
	4.3.2 Hábitat	07
	4.3.3 Etnobotánica	07
	4.3.4 Etnofarmacología	08
	4.3.5 Fitoquímica	08
	4.3.6 Principios activos	08
	4.4 <i>Lippia graveolens</i> HBCK	08
	4.4.1 Nombres comunes	08

4.4.2 Hábitat	08
4.4.3 Etnobotánica	09
4.4.4 Etnofarmacología	09
4.4.5 Fitoquímica	09
4.4.6 Principios activos	09
4.5 <i>Psidium guajava</i> L.	10
4.5.1 Nombres comunes	10
4.5.2 Hábitat	10
4.5.3 Etnobotánica	10
4.5.4 Etnofarmacología	10
4.5.5 Fitoquímica	11
4.5.6 Principios activos	11
4.6 <i>Piper jacquemontianum</i> Kunth	11
4.6.1 Nombres comunes	11
4.6.2 Hábitat	11
4.6.3 Etnobotánica	11
4.6.4 Etnofarmacología	12
4.6.5 Fitoquímica	12
4.6.6 Principios activos	12
4.7 Otitis externa	12
4.7.1 Definición	12
4.7.2 Etiología	13
4.7.3 Tratamiento convencional	14
4.7.4 Estudios realizados con plantas medicinales en Guatemala aplicados a otitis externa	14
4.8 Pioderma	15
4.8.1 Definición	15
4.8.2 Etiología	15
4.8.3 Tratamiento convencional	15
4.8.4 Estudios realizados con plantas medicinales en Guatemala aplicados al tratamiento de pioderma	16
4.9 Dermatofitosis	16

4.9.1	Definición	16
4.9.2	Etiología	16
4.9.3	Tratamiento convencional	17
4.9.4	Estudios realizados con plantas medicinales aplicados al tratamiento de dermatofitosis	17
V.	Materiales y métodos	18
5.1	Área de trabajo	18
5.2	Recursos humanos	18
5.3	Material biológico	18
5.4	Materiales y equipo	19
5.5	Métodos	20
5.5.1	Obtención y selección de las cepas	20
5.5.2	Selección de las plantas	21
5.5.3	Obtención de los extractos	21
5.5.4	Determinación de la actividad antibacteriana y antilevadura	22
5.5.5	Determinación de la actividad antimicótica	24
5.5.6	Análisis estadístico	24
VI.	Resultados	25
6.1	Determinación de la actividad antibacteriana	
6.1.1	Determinación de la relación dosis-efecto de antibióticos utilizados en el control positivo	25
6.1.2	Fase de tamizaje	26
6.1.3	Determinación de la CIM	28
6.2	Determinación de la actividad antilevadura	30
6.2.1	Determinación de la relación dosis-efecto de antimicótico utilizado en el control positivo	30
6.2.2	Fase de tamizaje	30
6.2.3	Determinación de la CIM	31

6.3	Determinación de la actividad antimicótica	32
6.3.1	Fase de tamizaje	32
6.3.2	Determinación de la CIM	33
VII.	Discusión	34
VIII.	Conclusiones	41
IX.	Recomendaciones	42
X.	Resumen	43
XI.	Summary	44
XII.	Bibliografía	45
XI.	Anexos	53

I. INTRODUCCIÓN

La fitoterapia es el uso de medicina natural de origen vegetal, para el tratamiento de diversas afecciones. Los beneficios de esta práctica incluyen la facilidad de obtención del material vegetal, la diversidad de propiedades medicinales presentes en las plantas y el aprovechamiento de los recursos naturales del país. En medicina humana se ha estudiado ampliamente el uso de plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades, mientras que en medicina veterinaria es poca la información con la que se cuenta. Hasta la fecha se han realizado estudios que evaluaron la actividad antibacteriana del achiote (*Bixa orellana*) contra bacterias aisladas de otitis externa canina (Espino, 1997), tratamientos homeopáticos de enfermedades de piel en felinos (Espinoza y Gudiel, 2005) y recopilaciones de información sobre tratamientos de enfermedades pecuarias a base de plantas (Loarca *et al.*, 2004).

Las infecciones bacterianas y micóticas de la piel y oído de los caninos, son patologías observadas frecuentemente en clínica. Los tratamientos generalmente tienen un costo económico considerable, observando en ocasiones recidivas debido a resistencia de los patógenos hacia los fármacos. Por ello, se ve afectado el paciente porque no logra sanar; el propietario, por los gastos médicos en que incurre; y el médico veterinario, debido a que no resuelve el cuadro clínico. Por lo tanto, es necesario buscar tratamientos alternativos que sean eficaces y de costo relativamente económico. La fitoterapia constituye una alternativa prometedora, por lo que es necesario realizar estudios en el campo de medicina veterinaria que validen su uso.

En el presente estudio, evalué la actividad antimicrobiana de seis especies de plantas de uso medicinal sobre las principales cepas de bacterias y hongos que afectan piel y oído en perros, con el fin de determinar la actividad de cada extracto sobre las cepas aisladas, y la concentración inhibitoria mínima de los extractos efectivos; para generar información científica que respalde la fitoterapia como alternativa terapéutica en la clínica de especies menores.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- 2.1.1 Generar información científica, que respalde la fitoterapia como alternativa terapéutica en la clínica de especies menores.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de seis especies de plantas de uso medicinal (*Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum*, *Psidium guajava*, *Acalypha guatemalensis*, *Smilax domingensis* y *Solanum americanum*) contra las bacterias *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* sp, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*.
- 2.2.2 Determinar la actividad antimicótica *in vitro* de las seis especies de plantas de uso medicinal contra los hongos dermatofitos *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*.
- 2.2.3 Determinar la actividad antilevadura *in vitro* de las seis especies de plantas de uso medicinal contra el hongo levaduriforme *Malassezia pachydermatis*.
- 2.2.4 Determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de los extractos activos, contra las bacterias y hongos estudiados.

III. HIPÓTESIS

Ho: No existe actividad antibacteriana y antimicótica de las diferentes plantas de uso medicinal a evaluar, sobre las principales cepas de bacterias y hongos que afectan piel y oído en perros.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 *Smilax domingensis* Willd

Familia Smilacaceae

4.1.2 Nombres comunes

Zarzaparrilla, Alcacatza, Bejuco chino, Bejuco de membrillo, Chiquihuite, Corona de Cristo, Dunguey, Dunguez blanco, Raíz de China, Tietie, Zarza, Zarzaparrilla de la tierra (Mora, 1988), Bejuco de la vida, Cocolmeca, Cuculmeca, Diente de Chucho, Palo de la vida (Cáceres, 1999).

4.1.2 Hábitat

Nativa de bosques húmedos hasta 1,300 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Izabal, Petén, San Marcos y Santa Rosa (Stanley y Steyermark, 1952).

4.1.3 Etnobotánica

Popularmente se utilizan sus rizomas como alimento o saborizante; las hojas pueden comerse, fumarse o beberse en infusión. Se ha utilizado para el tratamiento de reumatismo, gota, artritis, inflamación, problemas abdominales, anemia, problemas de piel, enfermedades venéreas, vaginitis, mordedura de serpiente, falta de libido, menopausia, cáncer, enfermedad renal e intoxicación (Domínguez *et al.*, 1989).

Se le atribuye propiedad antiinflamatoria, antifúngica, antiprurítica, antirreumática, antiséptica, cicatrizante, desinflamante, estimulante, diurética, diaforética, depurativa, sudorífica y tónica. (Cáceres, 1999).

4.1.4 Etnofarmacología

Experimentalmente se demostró que la tintura de raíz es activa contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri* (Cáceres *et al.*, 1990a), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* (Cáceres *et al.*, 1991b), *Proteus vulgaris*, y *Bacillus subtilis* (Arriaza, 1983; Cáceres *et al.*, 1987). La decocción y extracto metanólico son activos contra *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *Epidermophyton floccosum* y *Tricophyton mentagropytes* (Cáceres *et al.*, 1991c). El extracto etanólico de tallo presentó actividad contra *S. schenckii* (Gaitán *et al.*, 2005). La decocción de raíz y rizoma demostró actividad diurética (Arriaza, 1983; Cáceres *et al.*, 1987) y posee cierta actividad inmunomoduladora sobre los linfocitos y anticuerpos séricos (Lara *et al.*, 1991). El rizoma de la planta no posee acción tóxica aguda ni acción tóxica subcrónica a dosis de 500 mg/kg, 1,000 mg/kg y 1,500 mg/kg (Sánchez, 2003).

Clínicamente se ha demostrado su utilidad en tratamientos de vaginitis micótica (Urizar, 1989), pie de atleta (Fuentes, 1989), gota, eczema, psoriasis (Hobbs, 1988) y lepra (Martínez, 1984).

4.1.5 Fitoquímica

Se ha detectado la presencia de saponinas, sapogeninas, esteroides, fenilpropanoides, cromonas, alcanos, bencenoides (piperonal, éter metílico de la vainillina), flavonoides, taninos, iridoides, xantonas, colina, acetilcolina, lecitina, hule y carotenoides (Mora, 1988).

4.1.6 Principios activos

La actividad antimicrobiana y antiinflamatoria se atribuye a las saponinas sintéticas (Mora, 1988). La parillina es la responsable de la actividad antimicrobiana y antitumoral (Martindale, 1982); mientras que la sarsapogenina es la responsable de la actividad antiinflamatoria (Lewis, 1989).

4.2 *Acalypha guatemalensis* Pax & Hoffm

Familia Euphorbiaceae

4.2.1 Nombres comunes

Hierba del cáncer (Gentry y Standley, 1974).

4.2.2 Habitat

Encontrada en campos secos y bosque abierto, entre los 750-2,500 msnm. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Jalapa, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Huehuetenango, y Quetzaltenango (Gentry y Standley, 1974).

4.2.3 Etnobotánica

Popularmente las hojas se utilizan vía oral en decocción para el tratamiento de la tos, dolores menstruales, diarrea e infecciones de piel (Martínez, 1984; Zamora y Martínez, 1992).

4.2.4 Etnofarmacología

Se demostró que la tintura de hojas es activa *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* en una concentración de 30 µL/placa, pero inactiva contra bacterias Gram negativo y levaduras. Posee actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania* spp, así como actividad antioxidante contra dos de tres radicales ensayados (Martínez, 1984; Zamora y Martínez, 1992). El extracto etanólico mostró actividad contra *P. aeruginosa* (1 mg/mL) y *Cryptococcus neoformans* (0.5 mg/mL) (Jiménez, 2004). La decocción de hojas no es diurética en dosis de 1 g/kg, ni antitumoral contra carcinoma de colon humano (Martínez, 1984; Zamora y Martínez, 1992).

4.2.5 Fitoquímica

Se ha reportado la presencia de cianogenéticos, específicamente alcalifina, acompañada de una enzima β -glucosidasa potente y cianuro de hidrógeno (Martínez, 1984; Zamora y Martínez, 1992). Los metabolitos secundarios incluyen flavonoides, fenoles, taninos, antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, principios amargos y cardenólidos (Jiménez, 2004; Navarro *et al.*, 2003).

4.2.6 Principios activos

El efecto antibacteriano se relaciona al contenido de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y flavonoles (Navarro *et al.*, 2003).

4.3 *Solanum americanum* Miller

Familia Solanaceae

4.3.1 Nombres comunes

Quilete, Macuy, Hierba mora (Gentry y Standley, 1974).

4.3.2 Habitat

Se distribuye en toda América, en matorrales y sembradíos a alturas que van de 350-1,500 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (Gentry y Standley, 1974).

4.3.3 Etnobotánica

La decocción de hojas maduras se utiliza para realizar lavados vaginales en caso de flujo vaginal, o vía oral para tratamiento de la anemia (Cáceres, 1999). Se ha utilizado en el tratamiento de abscesos, mezquinos, pústulas, tiña (Instituto Indigenista Nacional, 1978; Mejía, 1927), dolor de cabeza, dolor de oídos e inflamación de ojos, leucorrea y menstruación excesiva, hemorroides y aftas. Se ha utiliza como febrífugo, emético y diurético (Morton, 1981).

4.3.4 Etnofarmacología

La decocción de hojas presentó actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* (Cáceres et al., 1990a). La decocción y tintura de hojas posee actividad antimicótica contra *Candida albicans* (Méndez, 1991), *Cryptococcus neoformans* (Cooney et al., 1991) y seis dermatofitos ensayados (Cáceres et al., 1991c). El extracto etanólico de la planta es activo frente a *Gardenerella vaginalis* a una concentración de 0.5 mg/mL (Palacios et al., 2004).

4.3.5 Fitoquímica

Contiene los alcaloides solasodina, solasonina, glucoalcaloides y alcaminas (Morton, 1981). Además, se demostró la presencia de esteroides policíclicos insaturados, saponinas, azúcares 2-desoxigenados, taninos, cardenólidos, ácido málico, riboflavina, tiamina, ácido ascórbico y sales minerales (Duke y Atchly, 1986).

4.3.6 Principios activos

La actividad antibiótica se atribuye a la α -solanina (alcaloide esteroideal básico); que presenta además actividad fungicida, insecticida y antiinflamatoria (Cáceres, 1999). La cantalasaponina (glicósido de spirostanol) es el principio responsable de la actividad antifúngica (He et al., 1994).

4.4 *Lippia graveolens* HBK

Familia Verbenaceae

4.4.1 Nombres comunes

Orégano, Mejorana, Orégano de monte (Cáceres, 1999).

4.4.2 Habitat

Es nativa de bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes secas, matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en El Progreso, Petén y Zacapa (CEMAT y Cáceres, 1992; Standley, 1970).

4.4.3 Etnobotánica

La decocción o infusión de hojas se utiliza para tratar afecciones gastrointestinales y respiratorias, amenorrea, dismenorrea, reumatismo e histeria. Por vía tópica se utiliza para cicatrizar heridas, aliviar prurito y sarna, desinflamar la garganta, para madurar abscesos, calmar neuralgias, cáncer y tumores; y dolores reumáticos (Cáceres, 1999).

Se le atribuye propiedad antioxidante, antiséptica, aromática, calmante, carminativa, cicatrizante, desinflamante, diaforética, digestiva, diurética, emenagoga, espamolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, pectoral, sudorífica y tónica (Cáceres, 1999).

4.4.4 Etnofarmacología

La tintura e infusión de hojas es activa contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes* (Cecchini, 1978; Mendoza, 1995). Los extractos con diclorometano y etanol son activos contra los hongos *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton rubrum* (Cáceres et al., 1994; Mendoza, 1995).

4.4.5 Fitoquímica

Las hojas contienen aceite esencial, glicósidos saponínicos, taninos, triterpenos, celulosa, flavononas (pinocembrina, naringenina), lapachenol, pigmento y elementos minerales (Domínguez et al., 1989; Ortiz y Brower, 1985). La corteza y raíz contienen glicósidos saponínicos, aceite esencial y taninos (Planter, 1989).

4.4.6 Principios activos

La actividad desinfectante y antiinfecciosa se atribuye al carvacrol (Budavari, 1989).

4.5 *Psidium guajava* L.

Familia Myrtaceae

4.5.1 Nombres comunes

Guayaba, Cak, Ch'amxuy, Coloc, Eanandí, Ikiec, Guava, Patá, Pataj, Pichi, Posh (Cáceres, 1999).

4.5.2 Hábitat

Crece en bosques húmedos y secos, pastos y bosques puros del árbol; hasta 1,800 msnm. En Guatemala se ha descrito en todo el país, particularmente en: Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa y Suchitepéquez (Urizar, 1989).

4.5.3 Etnobotánica

La decocción de hojas y corteza vía oral se utiliza para tratar afecciones digestivas, anemia, artritis, diabetes, hemorragia, hinchazón, uretritis, asma y resfrío. La decocción de raíz se usa para tratar hidropesía. La decocción por vía tópica se usa para tratar enfermedades dermatomucosas (fístulas, leucorrea, piodermia, raspones, tinea, úlcera), glositis y fiebre palúdica (Cáceres, 1999).

Se le atribuye propiedad antibacteriana, antiemética, antiinflamatoria, antihelmíntica, antiséptica, antitusiva, astringente, carminativa, astringente, febrífuga, espasmolítica y tónica (Cáceres, 1999).

4.5.4 Etnofarmacología

La tintura de hojas es activa contra *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* (Cáceres et al., 1990b), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* (Cáceres et al., 1991b), *Shigella flexneri* y *Pseudomonas aeruginosa* (Jiménez et al., 1979). El extracto metanólico de fruto es activo contra *Shigella* spp. y *Vibrio cholerae* (Hills y Yakaki, 1974).

El extracto acuoso de hojas posee actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum* (Cáceres, 1999). La tintura de hojas es activa contra *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea*. La decocción de hojas es activa contra *Epidermophyton floccosum* (Cáceres *et al.*, 1991c).

4.5.5 Fitoquímica

El fruto contiene polifenoles, taninos, terpenos, glicósidos esteroidales (cardenolidos, bufadienólicos, saponinas) y antraquinonas. La raíz contiene leucoantocianinas, esteroides y ácido gálico (Morton, 1981). La corteza contiene elagitaninos: 4-6 hexahidroxidifenilglucosa, telimagrandina I y II, peduncularina, casuarinina, estaquicerina, estrictinitina, casuarina (Hills y Yakaki, 1974). El extracto etanólico de flores contiene ácido oleanólico, ácido elágico, quercetina y glicósidos flavonoides (guayaverina) (Ramachandran, 1987).

4.5.6 Principios activos

La actividad antibacteriana se atribuye a los flavonoides avicularina, guayaverina y quercetina (Bérdy *et al.*, 1982).

4.6 *Piper jacquemontianum* Kunth

Familia Piperaceae.

4.6.1 Nombres comunes

Cordoncillo, Ticual q'en, tiec q'em, sunum qie, rilo mi tzul (60).

4.6.2 Habitat

Crece en bosques húmedos, algunas veces de pino o pantanos de Mancarí a alturas de 900 msnm (Solis *et al.*, 2003).

4.6.3 Etnobotánica

Se utiliza para aliviar el dolor de corazón, tos, calentura y granos (Cleaves, 2000).

4.6.4 Etnofarmacología

El extracto etanólico es activo contra *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis*, a una concentración de 0.5 mg/mL. Posee actividad positiva contra epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* a una concentración de 1 mg/mL, y actividad citotóxica contra nauplios de *A. salina* a una concentración de 0.81 mg/mL (Cleaves, 2000). El aceite esencial es activo contra *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis* a una concentración menor a 0.1 mg/mL, y contra *Anopheles albimans*, *Aedes aegypti* y *Artemia salina* a una concentración menor de 0.5 mg/mL (Cruz, 2005).

4.6.5 Fitoquímica

Contiene flavonoides, saponinas, principios amargos, alcaloides, aceite esencial y poca cantidad de cumarinas (Cruz, 2005).

4.6.6 Principios activos

La actividad antibacteriana a menor concentración se ha obtenido del aceite esencial, por lo que se atribuye a algún compuesto o compuestos presentes en este. (Cruz, 2005). Se sabe que actúa a nivel de la pared celular, inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram positivo pero no de las Gram negativo debido a las características de su pared celular (Cleaves, 2000).

4.7 Otitis externa

4.7.1 Definición

Inflamación de los tejidos blandos del meato auditivo externo. Puede ser una enfermedad primaria o secundaria, frecuentemente ocurre como manifestación de un trastorno dermatológico generalizado. Constituye uno de los problemas más comunes y frustrantes en la práctica de pequeñas especies (Noxon, 1996).

4.7.2 Etiología

La otitis externa puede ser una enfermedad primaria o secundaria, los factores primarios que inician el proceso inflamatorio del conducto auditivo externo incluyen ectoparásitos (*Otodectes cynotis*, *Demodex*), hipersensibilidades, cuerpos extraños, trastornos de la queratinización y glándulas sebáceas, enfermedades autoinmunes, y dermatosis que responde al zinc. Puede ocurrir por extensión de enfermedad de la oreja, otitis media o interna (Noxon, 1996; Rosychuk y Luttgen, 2002).

Las hipersensibilidades incluyen atopia, sensibilidad alimentaria, hipersensibilidad a la picadura de pulga, hipersensibilidad por contacto, reacciones a irritantes (neomicina, propilen glicol, alcohol, glicerina, yodopovidona, ácido acético) y reacciones medicamentosas a fármacos de administración sistémica. Las enfermedades que causan trastornos de la queratinización y glándulas sebáceas incluyen hipotiroidismo, hiperestrogenismo, adenitis sebácea y seborreas idiopáticas. Las enfermedades autoinmunes como el complejo pénfigo y lupus eritematoso sistémico y discoide pueden provocar inflamación y encostradura del pabellón auricular (Rosychuk y Luttgen, 2002).

Los factores predisponentes son aquellos que hacen al oído más susceptible a la inflamación iniciada por los primarios, pero que no ocasionan otitis por sí mismos. Incluyen temperatura y humedad alta, lluvias, natación, predisposición anatómica (oreja pendulosa), hipertrichosis, estenosis congénita (Chow Chow, Bulldog inglés, Shar Pei), hiperplasia glandular (Cocker spaniel) y neoplasias (Rosychuk y Luttgen, 2002).

Los factores perpetuantes son aquellos que continúan estimulando la respuesta inflamatoria, aunque el factor primario original ya no esté presente. Incluyen colonización bacteriana (*Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus* sp, *Escherichia coli* y *Corynebacterium* spp), infección por *Malassezia pachydermatis*, cambios proliferativos, otitis media, hipersensibilidad por contacto, errores terapéuticos, subtratamiento o terapia

excesiva (Noxon, 1996; Rosychuk y Luttgen, 2002). La medicación puede actuar como factor perpetuante por irritación secundaria por contacto o alergia (neomicina, anestésicos tópicos, preparaciones oleosas) (Noxon, 1996).

4.7.3 Tratamiento convencional

La terapia se enfoca a controlar el proceso inflamatorio, los factores perpetuantes y eliminar los factores predisponentes y subyacentes primarios. Para esto, según el cuadro clínico, se utilizan ceruminolíticos, queratolíticos, antiinflamatorios, antiparasitarios, anestésicos tópicos, antimicóticos y antibacterianos (Noxon, 1996).

Los antimicóticos tópicos utilizados incluyen nistatina, tiabendazol, miconazol, clotrimazol y cuprimixina. Los antibacterianos tópicos utilizados son aminoglucósidos, cloranfenicol, clorhexidina, yodóforos, propilenglicol, sulfadiacina con plata 1%, TRIS-EDTA, colistina, polimixina B, penicilina G, bacitracina, sulfacetamida y azufre (Noxon, 1996).

La antibioterapia sistémica se indica en pacientes con otitis externa bacteriana cuando hay rotura de la membrana timpánica, epitelio del conducto ulcerado o cuando en el examen citológico se descubren células inflamatorias que contienen bacterias. El tratamiento antimicótico sistémico se utiliza rara vez; utilizando ketoconazol para controlar la infección o sobrecrecimiento de *M. pachydermatis* (Noxon, 1996).

4.7.4 Estudios realizados con plantas medicinales en Guatemala aplicados a otitis externa

Espino (1997) evaluó la actividad antibacteriana del Achiote (*Bixa orellana*) sobre aislados bacterianos de otitis externa en caninos. Los extractos a las concentraciones de 0.5, 1, 2 y 4 g/mL fueron efectivos contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

4.8 Pioderma

4.8.1 Definición

Infección piogénica de la piel, particularmente bacteriana. Estas infecciones pueden ser primarias o secundarias a otro problema subyacente que altera la resistencia de la piel a la infección (Kwochka, 1996).

4.8.2 Etiología

Las piodermas están ocasionadas por estafilococos coagulasa positivos, generalmente *S. intermedius*, quien es el organismo iniciador. En piodermas crónicas, recurrentes o profundas puede haber invasores bacterianos secundarios, especialmente *Pseudomonas* spp, *Proteus* spp y *E. coli* (Kwochka, 1996).

Entre las causas que predisponen el desarrollo de pioderma se encuentran el auto-traumatismo de piel debido a procesos pruríticos o dolorosos subyacentes; y los pliegues profundos que crean un medio húmedo, oscuro y tibio con poca circulación de aire y crecimiento bacteriano e inflamación subsecuente (Kwochka, 1996).

4.8.3 Tratamiento convencional

La farmacoterapia puede ser tópica y/o sistémica, y varía según el tipo de pioderma. Los fármacos antibacterianos de uso tópico más utilizados son yodopovidona, clorhexidina, peróxido de benzoilo, y aminoglucósidos. Los fármacos comúnmente utilizados para la terapia sistémica son oxacilina, eritromicina, cloranfenicol, cefadroxil, cefalexina, amoxicilina/ácido clavulánico, trimetoprim/sulfadiazina y fluoroquinolonas (Kwochka, 1996).

4.8.4 Estudios realizados con plantas medicinales en Guatemala aplicados al tratamiento de pioderma

Cáceres y López (1991) evaluaron la propiedad de extractos de semilla de *Moringa oleifera* como tratamiento de pioderma experimental en ratones. El tiempo de resolución de la enfermedad fue similar al de la droga control (neomicina) y más corto que el de animales no tratados.

4.9 Dermatofitosis

4.9.1 Definición

Infección de tejidos queratinizados, en general ocasionada por una de tres especies de hongos dermatofitos: *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton* (Beale, 1996).

4.9.2 Etiología

- *M. canis* es un dermatofito zoofílico, es la causa mayor de dermatofitosis en perros y gatos (Beale, 1996).
- *M. gypseum*, es un dermatofito geofílico, es la segunda causa más común de dermatofitosis en el perro. Afecta las áreas con mucho contacto con la tierra como patas y hocico (Beale, 1996).
- *T. mentagrophytes*, es un dermatofito zoofílico, es la tercera causa más común de dermatofitosis en perros, poco común en gatos. Afecta comúnmente roedores y conejos, quienes se consideran reservorios (Beale, 1996).

Otros dermatofitos que afectan al perro en menor frecuencia son *M. audouini*, *T. equinum*, *T. verrucosum* y *M. nanum*, pero los animales deben estar en contacto con ganado, que es el reservorio natural de estos microorganismos (Beale, 1996).

4.9.3 Tratamiento convencional

La terapia sistémica no se indica en todos los casos, y a menudo la terapia tópica apropiada es todo lo que se necesita. Los fármacos utilizados para terapia tópica son clorhexidina, yodopovidona, ketoconazole, miconazol, clotrimazol, tiabendazol, enilconazol, captan, azufre e hipoclorito de sodio. Para la farmacoterapia sistémica son utilizados griseofulvina, ketoconazole e itraconazole. (Beale, 1996).

4.9.4 Estudios realizados con plantas medicinales aplicados al tratamiento de dermatofitosis

- Urizar (1989) realizó un ensayo clínico sobre la efectividad de *Smilax lundellii* en el tratamiento de candidosis vaginal, obteniendo buenos resultados.
- Fuentes (1989) evaluó el tratamiento de la tinea pedis con Zarzaparrilla (*Smilax*).
- En Nigeria, Oyelami *et al.* (2003) evaluaron la eficacia y seguridad de un ungüento de *Acalypha wilkesiana* en enfermedades micóticas superficiales de piel, siendo efectiva contra la *Tinea pedis*, *Pityriasis versicolor* y el intertrigo por *Candida*.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de Trabajo

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

5.2 Recursos Humanos

- 01 Estudiante tesista
- 03 Asesores
- Colaboradores: Licda. Isabel Gaitán, Asesor de Veterinarios Sin Fronteras y personal de los laboratorios en donde se realizó la fase experimental.

5.3 Material biológico

- Extractos etanólicos de las plantas: *Lippia graveolens* (hojas), *Piper jacquemontianum* (hojas), *Psidium guajava* (hojas), *Acalypha guatemalensis* (hojas), *Solanum americanum* (hojas) y *Smilax domingensis* (rizomas).
- Extractos metanólico y diclorometánico de la planta *Piper jacquemontianum* (hojas).
- Cepas de bacterias aisladas de otitis externa canina: *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Proteus mirabilis*, y de pioderma canina: *S. intermedius*, *Streptococcus* sp.
- Cepas de los hongos dermatofitos aislados de dermatofitosis canina: *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*, y del hongo levaduriforme *Malassezia pachydermatis* aislado de otitis externa canina.

5.4 Materiales y equipo

Materiales

- Algodón
- Asa de nicromo
- Cajas de Petri simples y cuadriplate
- Camapanillas de Durham
- Cámara de Neubauer
- Equipo de percolación de acero inoxidable
- Guantes de examen clínico
- Hisopos estériles para toma de muestra
- Mechero
- Papel filtro
- Papel parafilm
- Pipetas automáticas
- Plantilla para siembra
- Puntas de 200 y 1000 μL
- Regla graduada en mm

Reactivos

- Medios de cultivo: Caldo tripticasa soya, agar Muller Hinton, agar sabouraud, agar-agar
- Dextrosa, fosfato diácido de potasio, peptona, y sulfato de sodio.
- Solución salina isotónica
- Solventes: Agua desmineralizada, etanol al 50% , 70 y 95%.

Equipo

- Agitador
- Autoclave
- Balanza analítica

- Campanas bacteriológicas con y sin flujo laminar
- Equipo de rotavapor
- Incubadoras a 27°C y 37°C.
- Refrigeradora a 5°C

Cristalería

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

5.5 Métodos

5.5.1 Obtención y selección de las cepas

Utilicé aislamientos de las bacterias *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Proteus mirabilis*, así como de los hongos dermatofitos *Mricosporum canis*, *M. gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes* y levaduriforme *Malassezia pachydermatis*, provenientes de muestras clínicas de perros con patología de piel u oído, proporcionados por el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Llevé a cabo la selección de las cepas a utilizar en el presente estudio en base a dos criterios:

- Incidencia: Seleccioné las cepas con predominio en los diferentes aislamientos de piel y oído, conservadas en el Laboratorio de Microbiología de la FMVZ, USAC.
- Resistencia antimicrobiana: Seleccioné las cepas que presentaron resistencia a los fármacos antimicrobianos, en base a pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

5.5.2 Selección de las plantas

Utilicé los siguientes criterios de selección:

- Actividad antimicrobiana comprobada mediante estudios contra géneros bacterianos y micóticos similares, aislados de material patológico humano.
- Ausencia de estudios de la utilización de extractos de las plantas a evaluar sobre cultivos de bacterias y hongos que afecten la piel y oído del perro.
- Ser nativas de Guatemala.

5.5.3 Obtención de los extractos

Los extractos fueron proporcionados por el departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC, a excepción del extracto etanólico de *Psidium guajava*. Se identificó la procedencia y número de herbario del material vegetal utilizado (Tabla 1).

Tabla 1. Procedencia y número de herbario de las plantas utilizadas en el estudio

Nombre de la planta	Nombre común	No. de herbario	Procedencia
<i>Lippia graveolens</i> HBK	Orégano	604	San José Calderas, Chimaltenango
<i>P. jacquemontianum</i> Kunt	Cordoncillo	959	Parque Nacional Lachuá, Alta Verapaz
<i>P. guajava</i> L.	Guayaba	210	San José Pinula, Guatemala
<i>S. americanum</i> Millar	Macuy	294	Quiché, Quiché
<i>S. domingensis</i> Willd	Zarzaparrilla	662	El Cacastal, Samayac, Suchitepéquez
<i>A. guatemalensis</i> Pax & Hoffm	Hierba del Cáncer	228	Guatemala, Guatemala

Obtuve comercialmente el material vegetal para la elaboración del extracto de *Psidium guajava* en el laboratorio FARMAYA S.A. Sequé el material vegetal, lo molí, y coloqué el polvo en el percolador, para realizar extracción etanólica por percolación siguiendo los criterios descritos por Kuklinski (2000) y Sharapin (2000).

Concentré el extracto en rotavapor y luego en desecadora según el procedimiento descrito por Sharapin (2000), en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Llevé a cabo la evaluación de las actividades antibacteriana, antilevadura y antimicótica en el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

5.5.4 Determinación de la actividad antibacteriana y antilevadura

Determiné la actividad antibacteriana y antilevadura por el método de dilución (Mitscher *et al.* 1972). Purifiqué los microorganismos a ensayar (*Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* y *Malassezia pachydermatis*) inoculándolos en cajas de Petri con 15 mL de agar tripticasa soya e incubando a 37°C durante 24 horas para bacterias, y en agar sabouraud a 37°C durante 48 horas para la levadura. Inoculé una asada del cultivo puro de bacteria en un tubo con 5 mL de caldo tripticasa soya e incubé a 37°C durante 24 horas, y en un tubo con 5 mL de caldo sabouraud e incubé durante 48 horas para la levadura. Diluí 0.05 mL de la suspensión anterior en 4.95 mL de agua solución salina estéril (dilución 1:100) para sembrar en caja de Petri.

Preparé el agar-planta, agregando 1 mL de la solución del extracto disuelto a una concentración de 10 mg/mL, en tubos con 9 mL de agar Mueller Hinton, previamente autoclaveados y enfriados a 50°C, para obtener una concentración final de 1 mg/mL. Agité y vertí la dilución en cajas de Petri estériles, dejando solidificar e incubando durante 24 horas a 37°C para comprobar esterilidad.

Inoculé en las cajas con agar-planta una asada de cada uno de los microorganismos en posiciones asignadas al azar en una disposición radial, realizando cinco repeticiones por microorganismo. Dejé reposar durante 5-10 minutos e incubé a 37°C durante 24 horas para evaluar la propiedad antibacteriana, y 48 horas para la actividad antilevadura.

Utilicé como control negativo para la actividad antibacteriana 9 mL de agar Muller Hinton mezclado con 1 mL de etanol al 50%. Determiné la relación dosis-efecto de antibióticos, para validar el método y determinar la concentración a la cual son efectivos contra los microorganismos para utilizarlos como control positivo.

Los antibióticos utilizados fueron cefalexina y gentamicina, seleccionados en base al historial de sensibilidad antimicrobiana, su amplio uso clínico y el espectro sobre bacterias Gram positivo (cefalexina y gentamicina) y Gram negativo (gentamicina). Las concentraciones base fueron determinadas según la concentración estándar utilizada en los discos para pruebas de sensibilidad antimicrobiana. La concentración base de cefalexina fue 30 µg/mL, y preparé concentraciones a un Log₁₀ mayor (300 µg/mL) y a uno menor (3 µg/mL). La concentración base de gentamicina fue 10 µg/mL y preparé concentraciones a un Log₁₀ mayor (100 µg/mL) y a uno menor (1 µg/mL).

Sembré por estrías la levadura en una caja con agar sabouraud como control negativo. Determiné la relación dosis-efecto utilizando como concentración estándar 10 µg/mL de ketoconazole, con diluciones a un Log₁₀ mayor (100 µg/mL) y menor (1 µg/mL) a esta concentración, para determinar la concentración ideal a utilizar como control positivo.

Consideré la lectura e interpretación negativa cuando existió crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo; positiva cuando no hubo crecimiento a lo largo del inóculo; o contaminación, cuando hubo presencia de microorganismos fuera de la inoculación.

Determiné la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de los extractos con actividad positiva, utilizando cajas cuadríplate con 1, 0.5 y 0.25 mg/mL. Inoculé las cajas con tres estrías en cada uno de los cuadrantes e incubé a 37°C durante 24 horas para bacterias y 48 horas para levadura, leyendo e interpretando de la forma descrita anteriormente. Realicé diluciones a 0.125, 0.0625, 0.03125 y 0.015625

mg/mL para los extractos con actividad positiva a la dilución de 0.25 mg/mL para determinar la CIM.

5.2.5 Determinación de la actividad antimicótica

Determiné la actividad contra los hongos dermatofitos *Microsporum canis*, *M. gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes* por el método propuesto por Brancato & Golding (1983) y modificado por MacRae *et al.* (1988). Preparé cajas Petri con una concentración de 1 mg/mL del extracto en agar sabouraud, perforé cuatro agujeros equidistantes utilizando campanilla de Durham de 5 mm de diámetro, inoculé 30 μ L con una suspensión de 3×10^4 esporas obtenida en medio Takashio, e incubé a 25°C durante 21 días.

Realicé 4 repeticiones, y utilicé una caja con 13.5 mL de agar saboraud con 1.5 mL de etanol al 50% como control negativo. Determiné la relación dosis-efecto utilizando como concentración estándar 10 μ g/mL de ketoconazole, con diluciones a un Log₁₀ mayor (100 μ g/mL) y menor (1 μ g/mL) a esta concentración, para validar el método y determinar la concentración ideal a utilizar como control positivo.

Realicé la lectura de los resultados midiendo el diámetro de la colonia del hongo en milímetros, y calculé el porcentaje de inhibición, comparando el diámetro con el de las colonias en las cajas control. Interpreté como positivos los extractos que redujeron el diámetro de la colonia en un 75% o más.

5.5.6 Análisis estadístico

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

VI. RESULTADOS

6.1 Determinación de la actividad antibacteriana

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

Preparé tres concentraciones de los antibióticos cefalexina y gentamicina, a un Log_{10} de diferencia para determinar la relación dosis-efecto, determinar la concentración a la cual son efectivos contra los microorganismos en estudio y así validar el método. Las concentraciones utilizadas para cefalexina fueron 3, 30 y 300 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 2) y para gentamicina 1, 10 y 100 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 3).

Tabla 2. Determinación de la relación dosis-efecto de cefalexina (3, 30 y 300 $\mu\text{g/mL}$).

Antibiótico y concentración	Microorganismos								
	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 1 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 2 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 3 oído)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 4 oído)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa piel)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 1 oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 2 oído)	<i>Proteus mirabilis</i> (cepa oído)
Cefalexina 3 $\mu\text{g/mL}$	+	+	-	+	-	-	-	-	-
Cefalexina 30 $\mu\text{g/mL}$	+	+	-	+	-	-	-	-	+
Cefalexina 300 $\mu\text{g/mL}$	+	+	+	+	+	+	-	-	+

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Fuente: datos experimentales

La cefalexina a la concentración de 3 $\mu\text{g/mL}$ fue activa contra todas las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel canina, y una de dos cepas aisladas de oído canino. A la concentración de 30 $\mu\text{g/mL}$ mostró el mismo espectro, y es activa contra *Proteus mirabilis*. A la concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$ fue activa contra todas las cepas de *S. intermedius*, *Streptococcus* sp, y *P. mirabilis*. No tuvo actividad sobre *Pseudomonas aeruginosa* a ninguna de las 3 concentraciones probadas.

Tabla 3. Determinación de la relación dosis-efecto de gentamicina (1, 10 y 100 µg/mL).

Antibiótico y concentración	Microorganismos								
	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 1 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 2 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 3 oído)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 4 oído)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa piel)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 1 oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 2 oído)	<i>Proteus mirabilis</i> (cepa oído)
Gentamicina 1 µg/mL	+	+	-	+	-	-	+	+	+
Gentamicina 10 µg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gentamicina 100 µg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Fuente: datos experimentales

La gentamicina a la concentración de 1 µg/mL es activa contra todas las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel canina, una de dos cepas aisladas de oído canino, todas las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*, y no posee actividad positiva sobre las cepas de *Streptococcus* sp. A las concentraciones de 10 y 100 µg/mL tuvo actividad positiva sobre todas las bacterias en estudio.

6.1.2 Fase de tamizaje

Determiné la actividad de cada uno de los extractos obtenidos contra las bacterias Gram positivo *Staphylococcus intermedius* y *Streptococcus* sp aisladas de piel y oído canino, y las bacterias Gram negativo *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis* aisladas de oído canino (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad antibacteriana de las plantas en estudio en la fase de tamizaje

Planta	Disolvente	Microorganismos								
		<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 1 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 2 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 3 oído)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 4 oído)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa piel)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 1 oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 2 oído)	<i>Proteus mirabilis</i> (cepa oído)
<i>L. graveolens</i>	Etanol (EtOH)	+	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>P. Jacquemontianum</i>	Metanol (MetOH)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. Jacquemontianum</i>	Diclorometano (CH ₂ Cl ₂)	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>P. guajava</i>	Etanol (EtOH)	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>A. guatemalensis</i>	Etanol (EtOH)	+	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>S. domingensis</i>	Etanol (EtOH)	+	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>S. americanum</i>	Etanol (EtOH)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Fuente: datos experimentales

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó actividad contra las cepas de *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* sp y *Proteus mirabilis*, y no presentó actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*.

El extracto metanólico de *Piper Jacquemontianum* presentó actividad contra todas las bacterias a las que se enfrentó, mientras que el extracto diclorometánico presentó actividad únicamente contra las bacterias Gram positivo.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra las cepas de *Staphylococcus intermedius* (a excepción de una cepa aislada de oído), *Streptococcus* sp y *Proteus mirabilis*, y no presentó actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*.

El extracto etanólico de *Acalypha guatemalensis* presentó actividad contra las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel y *Proteus mirabilis*, y no

presentó actividad contra las cepas de *S. intermedius* aisladas de oído, *Streptococcus* sp y *Pseudomonas aeruginosa*.

El extracto etanólico de *Smilax domingensis* presentó actividad contra las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel, *Proteus mirabilis* y una de las dos cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, y no presentó actividad contra las cepas de *S. intermedius* aisladas de oído, *Streptococcus* sp y la segunda cepa de *P. aeruginosa*.

El extracto etanólico de *Solanum americanum* no presentó actividad contra ninguna de las bacterias del estudio.

6.1.3 Determinación de la CIM

Realicé la CIM a todos los extractos que presentaron actividad en la fase de tamizaje, a excepción del extracto de *Solanum americanum* que no presentó actividad (Tabla 5).

Tabla 5. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antibacteriana de las plantas en estudio (µg/mL)

Planta	Disolvente	Microorganismos								
		<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 1 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 2 piel)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 3 oído)	<i>Staphylococcus intermedius</i> (cepa 4 oído)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa piel)	<i>Streptococcus</i> sp (cepa oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 1 oído)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cepa 2 oído)	<i>Proteus mirabilis</i> (cepa oído)
<i>L. graveolens</i>	EtOH	250	250	500	250	500	500	-	-	1,000
<i>P. jacquemontianum</i>	MetOH	125	125	1,000	125	500	500	1,000	1,000	500
<i>P. jacquemontianum</i>	CH ₂ Cl ₂	15.6	15.6	15.6	15.6	250	250	-	-	-
<i>P. guajava</i>	EtOH	125	125	125	-	125	125	-	-	250
<i>A. guatemalensis</i>	EtOH	1,000	1,000	-	-	-	-	-	-	1,000
<i>S. domingensis</i>	EtOH	250	125	-	-	-	-	1,000	-	500

Fuente: datos experimentales

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* fue activo contra tres cepas de *Staphylococcus intermedius* a la concentración de 250 µg/mL, para *Streptococcus* sp y la tercer cepa de *S. intermedius* actuó a la concentración de 500 µg/mL, y para *Proteus mirabilis* a la concentración de 1,000 µg/mL.

El extracto metanólico de *Piper jacquemontianum* fue activo contra tres cepas de *Staphylococcus intermedius* a la concentración de 125 µg/mL, para *Streptococcus* sp y *Proteus mirabilis* actuó a la concentración de 500 µg/mL y para *Pseudomonas aeruginosa* y la tercer cepa de *S. intermedius* a la concentración de 1,000 µg/mL. El extracto diclorometánico fue activo contra todas las cepas de *S. intermedius* a la concentración de 15.6 µg/mL y contra las cepas de *Streptococcus* sp a la concentración de 250 µg/mL.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* fue activo contra *Streptococcus* sp y tres cepas de *Staphylococcus intermedius* a la concentración de 125 µg/mL, y para *Proteus mirabilis* a la concentración de 250 µg/mL.

El extracto etanólico de *Acalypha guatemalensis* fue activo contra *Proteus mirabilis* y las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel a la concentración de 1,000 µg/mL.

El extracto etanólico de *Smilax domingensis* fue activo contra ambas cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel a concentraciones de 250 µg/mL y 125 µg/mL respectivamente, contra *Proteus mirabilis* a la concentración de 500 µg/mL, y para una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* a la concentración de 1,000 µg/mL.

6.2 Determinación de la actividad antilevadura

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

Preparé tres concentraciones del antimicótico ketoconazole a un Log10 de diferencia para determinar la relación dosis-efecto, determinar la concentración a la cual es efectivo contra los microorganismos en estudio y así validar el método. La concentración base utilizada fue 10 µg y preparé concentraciones a un Log10 mayor (100 µg) y a uno menor (1 µg) (Tabla 6).

Tabla 6. Determinación de la relación dosis-efecto de ketoconazole (1, 10 y 100 µg/mL).

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

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Fuente: datos experimentales

El ketoconazole a la concentración de 1 µg/mL es activo contra *Malassezia pachydermatis* y no posee actividad sobre los otros hongos dermatofitos en estudio. A las concentraciones de 10 y 100 µg/mL es activo contra todos los hongos dermatofitos y levaduriforme en estudio.

6.2.2 Fase de tamizaje

Determiné la actividad de cada uno de los extractos obtenidos contra la levadura *Malassezia pachydermatis* aislada de oído canino (Tabla 7).

Tabla 7. Actividad antilevadura de los extractos etanólicos de las plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje

Planta	Microorganismo
	<i>Malassezia pachydermatis</i>
<i>L. graveolens</i>	+
<i>P. jacquemontianum</i>	+
<i>P. guajava</i>	+
<i>A. guatemalensis</i>	-
<i>S. domingensis</i>	-
<i>S. americanum</i>	+

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Fuente: datos experimentales

Los extractos etanólicos de *Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum*, *Psidium guajava* y *Solanum americanum* presentaron actividad contra la cepa de *Malassezia pachydermatis* a la que se enfrentó. Los extractos etanólicos de *Acalypha guatemalensis* y *Smilax domingensis* no presentaron actividad sobre la levadura.

6.2.3 Determinación de la CIM

Realicé esta determinación con todos los extractos que presentaron actividad, a excepción de los extractos de *Acalypha guatemalensis* y *Smilax domingensis* que no presentaron actividad en la fase de tamizaje (Tabla 8).

Tabla 8. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antilevadura de los extractos etanólicos de las plantas en estudio (µg/mL)

Planta	Microorganismo
	<i>Malassezia pachydermatis</i>
<i>L. graveolens</i>	125
<i>P. jacquemontianum</i>	500
<i>P. guajava</i>	500
<i>S. americanum</i>	125

Fuente: datos experimentales

Los extractos etanólicos de *Lippia graveolens* y *Solanum americanum* presentaron actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 125 µg/mL. Los extractos etanólicos de *Piper jacquemontianum* y *Psidium guajava* presentaron actividad contra *M. pachydermatis* a la concentración de 500 µg/mL.

6.3 Determinación de la actividad antimicótica

6.3.1 Fase de tamizaje

Determiné la actividad de cada uno de los extractos obtenidos contra los hongos dermatofitos *Microsporum canis*, *M. gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes* aislados de piel canina (Tabla 9).

Tabla 9. Actividad antimicótica de los extractos etanólicos de las plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje

Planta	Microorganismos		
	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
<i>L. graveolens</i>	+	+	+
<i>P. jacquemontianum</i>	+	+	+
<i>P. guajava</i>	+	-	-
<i>A. guatemalensis</i>	-	-	-
<i>S. domingensis</i>	-	-	-
<i>S. americanum</i>	+	+	+

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Fuente: datos experimentales

Los extractos etanólicos de *Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum* y *Solanum americanum* presentaron actividad contra todos los hongos dermatofitos en estudio.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad únicamente contra *Microsporum canis*. Los extractos etanólicos de *Acalypha guatemalensis* y *Smilax domingensis* no presentaron actividad contra ninguno de los hongos dermatofitos a los que se enfrentaron.

6.3.2 Determinación de la CIM

Realicé esta determinación con todos los extractos que presentaron actividad, a excepción de los extractos de *Acalypha guatemalensis* y *Smilax domingensis* que no presentaron actividad en la fase de tamizaje (Tabla 10).

Tabla 10. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antimicótica de los extractos etanólicos de las plantas en estudio (µg/mL)

Planta	Microorganismos		
	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
<i>L. graveolens</i>	30	125	60
<i>P. jacquemontianum</i>	250	500	250
<i>P. guajava</i>	500	-	-
<i>S. americanum</i>	30	1,000	250

Fuente: datos experimentales

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

El extracto etanólico de *Piper jacquemontianum* fue activo contra *Microsporum canis* a la concentración de 250 µg/mL, para *M. gypseum* a la concentración de 500 µg/mL y para *Tricophyton mentagrophytes* a la concentración de 250 µg/mL.

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

El extracto etanólico de *Solanum americanum* fue activo contra *Microsporum canis* a la concentración de 30 µg/mL, para *M. gypseum* a la concentración de 1,000 µg/mL, y para *Tricophyton mentagrophytes* a la concentración de 250 µg/mL.

VII. DISCUSIÓN

La importancia del presente estudio radica en la validación de alternativas naturales, eficaces, económicas y disponibles para el tratamiento contra los microorganismos patógenos encontrados comúnmente en infecciones de piel y oído de los caninos. Debido a la frecuencia clínica de estas patologías, las recidivas y costos del tratamiento convencional, es necesario realizar estudios que validen la aplicación de la fitoterapia en medicina veterinaria.

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

Durante un período de 10 meses se realizó una colección de cepas provenientes de aislamientos a partir de material patológico canino, que fueron seleccionadas en base a su incidencia y resistencia contra fármacos antimicrobianos. La bacteria aislada con más frecuencia fue *Staphylococcus intermedius*, tanto de piel como de oído, concordando con Kwochka (1996) y Noxon (1996) quienes reportan a esta bacteria como la más comúnmente aislada en pioderma y otitis externa canina. El cultivo, aislamiento e identificación de la levadura *Malassezia pachydermatis* fue útil para conocer sus características de crecimiento, ya que es un microorganismo poco estudiado, que no había sido incluido en un bioensayo en Guatemala.

Para evaluar la actividad antibacteriana y antilevadura utilicé el método de dilución (Mitscher *et al.*, 1972), y el método de Brancato & Golding (1983) modificado por MacRae *et al.* (1988) para evaluar la actividad antimicótica. Ambos métodos fueron viables y reproducibles para evaluar las actividades, por lo que es útil saber que estos métodos son aplicables en su totalidad para la realización de bioensayos contra patógenos veterinarios.

Se determinó la relación dosis-efecto utilizando los fármacos antimicrobianos de uso clínico más común contra bacterias y hongos, para validar el método y determinar la concentración ideal a utilizar como control positivo en el bioensayo. Los resultados demostraron que los controles positivos más adecuados fueron gentamicina a la concentración de 10 µg/mL contra todas las bacterias en estudio, y ketoconazole a la concentración de 10 µg/mL contra todos los hongos dermatofitos y levadura en estudio. La utilidad de estos datos radica en su uso para estudios posteriores sobre patógenos similares, y su utilidad como referencia para controles positivos de la actividad antibacteriana, antilevadura y antimicótica.

En la fase de tamizaje del ensayo se mostró susceptibilidad de las cepas contra todos los extractos, con excepción de *Solanum americanum* contra bacterias, y de *Acalypha guatemalensis* y *Smilax domingensis* contra hongos dermatofitos y levadura.

La actividad del extracto diclorometánico de *Piper jacquemontianum* fue específica contra bacterias Gram positivo, teniendo el menor valor de CIM encontrado en el estudio, contra *Staphylococcus intermedius* (15 µg/mL). Esta actividad puede atribuirse a compuestos apolares insolubles presentes en el aceite esencial, actuando posiblemente sobre la pared celular bacteriana, debido a que su actividad fue específica contra bacterias Gram positivo. Estos datos respaldan lo reportado por Cruz (2005) quien evaluó aceites esenciales de 5 especies del género *Piper* y obtuvo el valor más bajo de CIM contra *S. aureus* ATCC 25923 a partir del aceite esencial de *P. jacquemontianum*. La importancia de estos resultados radica en que la actividad puede deberse al aceite esencial presente en el extracto, por lo que deben realizarse estudios adicionales que evalúen y respalden el posible uso del aceite esencial como alternativa fitoterapéutica contra infecciones estafilocócicas de piel y oído en caninos.

El extracto metanólico de *Piper jacquemontianum* fue el único con actividad contra ambas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (CIM 1,000 µg/mL) a diferencia del extracto de *Smilax domingensis* que tuvo actividad solo sobre una cepa. Esta actividad puede atribuirse a compuestos polares solubles presentes en el extracto. Debido a que las cepas de *P. aeruginosa* no mostraron diferencia en la susceptibilidad al extracto metanólico de *P. jacquemontianum*, se podría considerar como la alternativa fitoterapéutica para otitis externa perpetuadas por dicha bacteria. Cabe mencionar que a la CIM efectiva contra *P. aeruginosa* este extracto mostró actividad contra todas las cepas bacterianas incluidas en el bioensayo, por lo que puede ser una alternativa para el tratamiento de infecciones que involucren a cualquiera de las otras bacterias estudiadas.

El extracto etanólico de *Piper jacquemontianum* presentó actividad antimicótica y antilevadura (CIM 500 µg/mL) contra todos los hongos dermatofitos y la levadura en estudio. Esta actividad puede deberse a la presencia de compuestos tanto polares como apolares presentes en el extracto.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra todas las bacterias, a excepción de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y una cepa de *Staphylococcus intermedius* aislada de oído, teniendo el menor valor de CIM contra *Streptococcus* sp (CIM 125 µg/mL) y *Proteus mirabilis* (CIM 250 µg/mL). Esta actividad se atribuye según Bérdy *et al.* (1982) y Hui (1955), a flavonoides como la avicularina, guayaverina y quercetina, de los cuales Cushnie y Lamb (1995) sugieren que actúan en parte inhibiendo a la enzima ADN girasa. Debido al sitio de acción de los flavonoides, la falta de actividad en las bacterias descritas puede deberse a un impedimento en el ingreso del compuesto activo a la célula bacteriana, que según Livermore (2002), se da por alteraciones en la permeabilidad de membrana, por la presencia de bombas de expulsión y/o mutaciones de las porinas transmembranales. Jiménez *et al.* (1979) reportaron actividad de la tintura de hojas de *P. guajava* contra *P. aeruginosa*, lo que difiere de los datos obtenidos, posiblemente por los factores de resistencia descritos anteriormente. Debido a la actividad obtenida con este extracto,

puede considerarse como la alternativa fitoterapéutica para el tratamiento de infecciones estreptocócicas de piel y oído en caninos, así como otitis externas perpetuadas por *P. mirabilis*.

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó actividad contra todos los microorganismos en estudio, a excepción de *Pseudomonas aeruginosa*, teniendo el menor valor de CIM contra *Microsporum canis* (30 µg/mL), *Microsporum gypseum* (125 µg/mL), *Trichophyton mentagrophytes* (60 µg/mL) y *Malassezia pachydermatis* (125 µg/mL). Esta actividad se atribuye según Budavari (1989) al carvacrol, compuesto que según Ultee *et al.* (1999), actúa en parte alterando la permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos susceptibles. Mendoza (1995) evaluó la actividad antimicrobiana de tres especies del género *Lippia* y reportó actividad contra *P. aeruginosa*, lo que difiere de los datos obtenidos, pudiendo deberse a factores como el origen de la cepas, tratamientos previos y mecanismos de resistencia adquiridos por la bacteria, posiblemente a nivel de membrana celular, impidiendo el ingreso de compuestos presentes en el extracto y bloqueando el mecanismo de acción del carvacrol.

El extracto etanólico de *Solanum americanum* presentó únicamente actividad antimicótica y antilevadura, igualando los valores de CIM obtenidos con el extracto etanólico de *Lippia graveolens* contra *Microsporum canis* y *Malassezia pachydermatis*, más no los valores contra los demás hongos dermatofitos en estudio. Esta actividad se atribuye según Budavari (1989), al alcaloide esteroide α -solanina. Cáceres *et al.* (1990a) evaluaron la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones, y reportó actividad de *S. americanum* contra *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias del género *Staphylococcus* y *Streptococcus*, lo cual difiere de los datos experimentales, pues no mostró actividad contra las bacterias en estudio. Cáceres *et al.* (1991c) evaluaron la actividad antimicótica de 44 extractos de plantas, y reportaron actividad contra hongos dermatofitos, lo cual concuerda con los datos experimentales obtenidos.

De los 3 extractos que mostraron actividad antimicótica y antilevadura contra todos los microorganismos estudiados, es el extracto etanólico de *Lippia graveolens* el que podría considerarse como la alternativa más eficaz contra dermatofitosis y otitis externa perpetuada por *Malassezia pachydermatis* ya que obtuvo los valores de CIM de menor valor contra todos los microorganismos en estudio.

Debido a que la infección por *Microsporum canis* es la causa más común de dermatofitosis en caninos y felinos, es de utilidad saber que además de ser sensible a los extractos ya mencionados, es sensible al extracto etanólico de *Psidium guajava*, por lo que puede ser considerado como alternativa para el tratamiento, en caso no se disponga de las alternativas de elección.

El extracto etanólico de *Acalypha guatemalensis* presentó actividad positiva únicamente contra las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel canina y contra *Proteus mirabilis*, y no presentó actividad antimicótica y antilevadura. La actividad antibacteriana se le atribuye según Navarro *et al.* (2003), a compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y flavonoles, aunque no se conoce exactamente el mecanismo de acción. Jiménez (2004) determinó la actividad biocida de cinco especies del género *Acalypha*, y reportó actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (CIM 1 mg/mL), mientras que en el presente estudio no se observó actividad contra las cepas de esta bacteria.

El extracto etanólico de *Smilax domingensis* presentó actividad positiva únicamente contra las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de piel canina, *Proteus mirabilis* y una de dos cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, y no presentó actividad antimicótica y antilevadura. La actividad antibacteriana según Mora (1998), se atribuye a la saponina sintética parillina, aunque se desconoce exactamente su mecanismo de acción. Cáceres *et al.* (1990a; 1991b; c) reportaron actividad contra *Candida albicans*, *P. aeruginosa*, bacterias Gram positivo y dermatofitos, lo que difiere de los datos obtenidos, ya que no se observó actividad contra *P. aeruginosa*, bacterias del género *Staphylococcus* y *Streptococcus*, ni contra el dermatofito

Tricophyton mentagrophytes. La actividad antilevadura esperada según reportes de ensayos *in vitro* y clínicos contra candidiasis, no puede aplicarse a la actividad contra la levadura *Malassezia pachydermatis*, ya que no fue sensible al extracto.

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

El grado de resistencia se manifestó por la diferencia en valores de CIM, siendo *Pseudomonas aeruginosa* y *Microsporum gypseum* los microorganismos que presentaron los valores más elevados de CIM para la actividad antibacteriana y antimicótica respectivamente. Las cepas de *Staphylococcus intermedius* aisladas de oído fueron más resistentes a los extractos y presentaron valores de CIM más elevados que las cepas aisladas de piel.

La investigación realizada por Espino (1997), evaluó el extracto etanólico de *Bixa orellana* contra bacterias aisladas de otitis externa canina, indicando que es efectivo. La actividad se evaluó por el método de difusión a concentraciones de 4, 2, 1 y 0.5 g/mL. Las concentraciones utilizadas fueron muy elevadas, representando mayores costos económicos y dificultad para alcanzar el efecto terapéutico deseado por la gran cantidad de material vegetal necesario. Los criterios farmacológicos actuales validan la actividad biológica de las plantas a la concentración de 1 mg/mL, por lo que es necesario evaluar esta actividad mediante el método de dilución con un tamizaje a dicha concentración, y de ser efectivo, encontrar la CIM para los microorganismos estudiados. De esta forma debe validarse la actividad de otras plantas, y generar información confiable que brinde opciones fitoterapéuticas diversas para el tratamiento de patologías en medicina veterinaria.

La información generada en este estudio valida la actividad biológica de las plantas estudiadas en medicina veterinaria. Además de la potencial aplicación clínica de estos resultados, este estudio es punto de partida para otras investigaciones, ya que es necesario validar otras actividades biológicas en las plantas estudiadas y otras opciones fitoterapéuticas, para patologías tanto de animales de compañía como de animales de producción.

VIII. CONCLUSIONES

1. Se confirmó la actividad antimicrobiana de todos los extractos de las plantas, con excepción de *S. americanum* contra bacterias, y de *A. guatemalensis* y *S. domingensis* contra hongos dermatofitos y levadura.
2. Todos los extractos de *P. jacquemontianum* presentaron actividad, contra todas las bacterias en estudio incluyendo *P. aeruginosa* (extracto metanólico, CIM 1,000 µg/mL), actividad específica contra bacterias Gram positivo (extracto diclorometánico, CIM 15.6 µg/mL) y actividad antimicótica y antilevadura (extracto etanólico, CIM 500 µg/mL).
3. El extracto etanólico de *L. graveolens* presentó la CIM antilevadura (CIM 125 µg/mL) y antimicótica (CIM 125 µg/mL) de menor valor, y posee actividad contra todas las bacterias estudiadas a excepción de *P. aeruginosa*.
4. El extracto etanólico de *S. americanum* presentó actividad antimicótica (CIM 1,000 µg/mL) y antilevadura (CIM 125 µg/mL), y no posee actividad contra ninguna de las bacterias estudiadas.
5. El extracto etanólico de *P. guajava* presentó la CIM de menor valor contra *Streptococcus* sp (CIM 125 µg/mL) y *Proteus mirabilis* (CIM 250 µg/mL), y es activo contra *S. intermedius*, *M. pachydermatis* y *M. canis*.
6. El extracto etanólico de *A. guatemalensis* es activo contra las cepas de *S. intermedius* aisladas de piel (CIM 1,000 µg/mL) y *P. mirabilis* (CIM 1,000 µg/mL). No posee actividad antimicótica ni antilevadura.
7. El extracto etanólico de *S. domingensis* es activo contra las cepas de *S. intermedius* aisladas de piel (CIM 125 µg/mL), *P. mirabilis* (CIM 500 µg/mL) y una de dos cepas de *P. aeruginosa* (CIM 1,000 µg/mL). No posee actividad antimicótica ni antilevadura.

IX. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la actividad antimicrobiana de las plantas contra microorganismos responsables de otras patologías (respiratorias, digestivas, urinarias) en especies menores y en especies de producción.
2. Investigar otras actividades (antiinflamatoria, analgésica, cicatrizal) presentes en las plantas medicinales estudiadas, que validen su uso como parte del tratamiento de patologías en medicina veterinaria.
3. Incorporar un mayor número de cepas de cada especie bacteriana para encontrar el espectro de susceptibilidad, por tratarse de cepas de campo.
4. Llevar a cabo bioensayos con extractos de otras plantas, que sugieran ser eficaces según estudios de etnobotánica y etnofarmacología en humanos.
5. Incluir el aceite esencial de *Piper jacquemontianum* en bioensayos contra bacterias Gram positivo que afectan piel y oído en perros.
6. Estudiar por fraccionamiento bioquímico a los extractos activos que se desconoce su principio activo, con el fin de identificar la(s) molécula(s) responsable(s) de la actividad.
7. Diseñar formulaciones farmacéuticas para administración ótica y dérmica, con los extractos de las plantas estudiadas, con el fin de conocer su estabilidad y utilizarlos en ensayos clínicos que validen su uso *in vivo*.
8. Realizar ensayos clínicos en base a los resultados obtenidos, para evaluar *in vivo* la fitoterapia de la pioderma, dermatofitosis y otitis externa canina perpetuada por bacterias y levaduras, utilizando de forma específica el extracto que mejor actividad tuvo sobre cada microorganismo.

X. RESUMEN

El objeto del estudio fue generar información científica que respalde la fitoterapia como alternativa terapéutica en la clínica de especies menores. Evalué la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos de las plantas *Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum*, *Psidium guajava*, *Acalypha guatemalensis*, *Smilax domingensis* y *Solanum americanum* contra las bacterias *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*, la levadura *Malassezia pachydermatis*, y los hongos dermatofitos *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes* aislados a partir de pioderma y otitis externa canina.

Utilicé el método de dilución (Mitscher *et al.* 1972) para evaluar la actividad antibacteriana y antilevadura, y el método propuesto por Brancato & Golding (1983) y modificado por MacRae *et al.* (1988) para evaluar la actividad antimicótica. Se demostró actividad de todos los extractos, a excepción de *Solanum americanum* contra bacterias, y de *Acalypha guatemalensis* y *Smilax domingensis* contra hongos dermatofitos y levadura.

Los valores de CIM más bajos contra *Staphylococcus intermedius* se obtuvieron con el extracto diclorometánico de *Piper jacquemontianum* (CIM 15.6 µg/mL), contra *Streptococcus* sp. y *Proteus mirabilis* con el extracto etanólico de *Psidium guajava* (CIM 125 µg/mL y 250 µg/mL respectivamente) y contra *Pseudomonas aeruginosa* con el extracto metanólico de *P. jacquemontianum* (CIM 1,000 µg/mL). El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó los valores de CIM más bajos para la actividad antilevadura y antimicótica (CIM 125 µg/mL).

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

XI. SUMMARY

The purpose of this investigation was to generate scientific information to support the fitotherapy as an alternative therapy in the small animal practice. I evaluated the *in vitro* antimicrobial activity of extracts from the plants *Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum*, *Psidium guajava*, *Acalypha guatemalensis*, *Smilax domingensis* and *Solanum americanum* against the bacterias *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*, the yeast *Malassezia pachydermatis*, and the dermatophytic fungus *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* and *Tricophyton mentagrophytes* isolated from canine pioderma and external otitis.

I used the dilution method (Mitscher *et al.* 1972) to evaluate the antibacterial and antiyeast activity, and the method propoused by Brancato & Golding (1983) modified by MacRae *et al.* (1988) to evaluate the antimicotic activity. It was shown that all the plants have antimicrobial activity, with the exception of *Solanum americanum* against bacterias, and *Acalypha guatemalensis* and *Smilax domingensis* against dermatophytic fungus and yeast.

The lower CIM values against *Staphylococcus intermedius* were obtained with the dichlorometanic extract of *Piper jacquemontianum* (CIM 15.6 µg/mL), against *Streptococcus* sp. y *Proteus mirabilis* with the ethanolic extract of *Psidium guajava* (CIM 125 µg/mL y 250 µg/mL respectively) and against *Pseudomonas aeruginosa* with the methanolic extract of *P. jacquemontianum* (CIM 1,000 µg/mL). The ethanolic extract of *Lippia graveolens* showed the lower CIM values for the antimicotic and antiyeest activity (CIM 125 µg/mL).

The given information validates the biologic activity of the studied plants in veterinary medicine. Beside the clinical aplications of the results, is a departure point for future investigations, to support the use of medicinal plants as part of the pathologies treatment in veterinary medicine.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Arriaza, DA. 1983. Acción diurética y antimicrobiana de algunos vegetales del género *Smilax*. Tesis Lic. Quim. Biol. Guatemala, GT, USAC / CCQQ y Farmacia. 50 p.
2. Beale, KM. 1996. Dermatofitosis. En: Birchard, SJ; Sherding RG. (Ed). Manual clínico de pequeñas especies. Trad. LD Socorro, JL Alanís, RE Méndez, A Marcela. Ohio, US, McGraw-Hill-Interamericana. 1: 339-347.
3. Bérdy, J; Aszalo, A; Bostian M; McNitt, KL. 1982. Handbook of Antibiotic Compounds. Boca Raton, CRC Press, Part 1, 410 p; Part 2, pp 283.
4. Brancato, FP; Holding, NS. 1983. The diameter of the mould colony as a reliable measure of growth. J. Mycol. 45: 848-863.
5. Budavari, S. 1989. New Jersey, US. The Merck Index. Rahway, Merck & Co. 1606 p.
6. Cáceres, A; Girón, LM; Alvarado, SR; Torres, MF. 1987. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. J Ethnopharmacol 20:223-237.
7. _____; Samayoa, B; Fletes, L. 1990a. Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones. Cuadernos de Investigación No. 4-90. Guatemala, DIGI-USAC. 98 p.
8. _____, Cano, O; Samayoa, B; Aguilar, L. 1990b. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. Screening of 84 plants against enterobacteria. J Ethnopharmacol. 30: 55-67.

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

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

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

12. _____; Salvador, L; Mendoza, J; Meza, F; Deleon, MI; Jauregui, E. 1994. Actividad antibacteriana y antifúngicas de plantas de uso medicinal en Guatemala. *Memorias. Congreso Científico 10 años CYTED.* Cancún, MX, CYTED. p. 212-214.

13. _____. 1999. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala, GT, Editorial Universitaria. 402 p.

14. Cecchini, T. 1978. *Enciclopedia de las hierbas y de las plantas medicinales.* Barcelona, ES; De Vecchi. 533 p.

15. CEMAT (Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropriadada, GT); Cáceres, A. 1992. Fichas populares sobre plantas medicinales. Serie 2. Guatemala, 180 p.

16. Cleaves, C. 2000. *Etnobotánica médica de cinco comunidades de la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachuá (PNLL), Alta Verapaz, Guatemala.* Tesis Lic. Biol. Guatemala, GT, USAC / Escuela de Biología / INAB / UICN. 294 p.

17. Cooney, G; Buckley, H; Brickus, T; Cáceres, A. 1991. Fungicidal activity of *Solanum* plant extract from Guatemala, CA. Abstracts. Washington, US, Pharmacy World Congress. p. 52.
18. Cruz, SM. 2005. Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de 5 especies nativas de Piperáceas. Tesis Mag. Sc. Quim. Farm. Guatemala, GT, CCQQ y Farmacia / FAUSAC. 55 p.
19. Cushnie, TP; Lamb, AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. Internat J Antimicrob Ag. 26:343-356.
20. Dale, S. 1996. Literature review of the genus *Smilax* L. (Smilacaceae). Turrialba, CR, CATIE. p 1-7.
21. Domínguez, XA; Sánchez, H; Suárez, M; Baldas, JH; González, MR. 1989. Chemical constituents of *Lippia graveolens*. Plan Med 55: 209-209.
22. Duke, JA; Atchly, A. 1986. Handbook of Proximate Analysis Tables of Higher Plants. Boca Ratón, Florida, US, CRS Press. 389 p.
23. Espino, MA. 1997. Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de *Bixa orellana* (Achiote) en aislados de otitis externas en caninos de la ciudad de Guatemala. Tesis Lic Med Vet Guatemala, GT, USAC / FMVZ. p. 2-38.
24. Espinoza, E; Gudiel, R. 2005. Tratamiento homeopático de una dermatitis alérgica por picadura de pulga (DAPP) complicada en una gata. III Seminario Taller sobre etnoveterinaria y etnozootecnia. p 24-26.
25. Fuentes, AR. 1989. Tratamiento de la tinea pedis con Zarzaparrilla (*Smilax*). Tesis Lic Med Ciruj Guatemala, GT, USAC / Fac. Ciencias Médicas. 53 p.

26. Gaitán, I; Del Cid, N; Paz, A; Cáceres, A. 2005. Actividad contra hongos causantes de micosis subcutánea (*Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*) de 12 especies vegetales de uso medicinal en Guatemala. Rev Cient IIQB. 3:19-24.
27. Gentry, JL; Standley, PC. 1974. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24 10: 104-131.
28. Girón, L. 1983. Investigación de la inhibición de *Candida albicans* por preparaciones de plantas usadas en la medicina popular. Tesis Lic Quim Biol Guatemala, GT, USAC / CCQQ y Farmacia. 48 p.
29. _____; Cáceres, A; Arroyo, GL. 1988. Anticandidal activity of plantas used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. J Ethnopharmacol. 22: 307-313.
30. Ghosh, TK; Sen, T; Das, A; Dutta, AS; Nag Chaudrhuri, AK. 1993. Antidiarrhoeal activity of the methanolic fraction of the extract of unripe fruits of *Psidium guajava* Linn Phytoter Res. 7: 431-433.
31. He, XG; Cáceres, A; Girón, L; Floss, HG; Buckley, H; Cooney, G, Wilson, BW. 1994. An antifungal compound from *Solanum nigrescens*. J Ethnopharmacol. 43: 173-177.
32. Hillis, WE; Yakaki, Y. 1974. Phytochemistry of medicinal plants. Phytochem. 13:495.
33. Hobbs, C. 1988. Sarsaparrilla. A literature review. HerbalGram 17: 1-25.
34. Hui, WH; Arthur, HR. 1955. Triterpene acids from the leaves of *P. guajava* In: Chem. Abstracts 49: 122-124

35. Instituto Indigenista Nacional. 1978. Aspectos de la medicina popular en el área rural de Guatemala. Guatemala Indígena. 13: 1-616.
36. Jiménez, CA; López, AM; Rojas, NM. 1979. Contribución a la evaluación biológica de plantas cubanas. II Rev Cub Med Trop 31:13-19.
37. Jiménez, M; . 2004. Determinación de la actividad biocida de cinco especies del género *Acalypha* (*A. guatemalensis*, *A. arvensis*, *A. plystaquia*, *A. hispida* y *A. pseudoalopecuroides*). Rev Cient IIQB. 3: 35-38.
38. Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, ES, Omega. 515 p.
39. Kwochka, K. 1996. Pioderma. En: Birchard, SJ; Sherding RG. (Ed). Manual clínico de pequeñas especies. Trad LD Socorro, JL Alanís, RE Méndez, A Marcela. Ohio, US. McGraw-Hill-Interamericana. 1: 327-334.
40. Lewis, DA. 1989. Anti-Inflammatory Drugs from Plant and Marine Sources. Basel, Birkhäuser Verlag, 373 p.
41. Livermore, DM. 2002. Multiple mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst Nightmare? Clin Infect Dis. 34: 634-640.
42. Loarca, A; Cáceres, A; Burgos, M. 2004. Manual de Etnoveterinaria en Guatemala. Guatemala. 64 p.
43. Mac Rae, WD; Hudson, JB; Towers, GH. 1988. Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. J Ethnopharmacol. 22:143-172.
44. Martindale, W. 1982. The Extra Pharmacopoeia. Reynolds. Londres. s.e. 291 p.

45. Martínez, MA. 1984. Medicinal plants used in a Totonac community of the Sierra Norte de Puebla: Tuzamapan de Galeana, Puebla, México. *J Ethnopharmacol.* 11: 203-221.
46. Mejía, JV. 1927. Geografía de la República de Guatemala. Guatemala, Tipografía Nacional. 400 p.
47. Lara, R; Sandoval, H; Jiménez, M; De La Roca, D; Guzmán, A. 1991. Determinación de la actividad inmunomoduladora de los extractos de zarzaparrilla, quilete y pericón. Memorias VI Congreso Nacional de Microbiología. Guatemala, GT, s.e. 88p.
48. Méndez, A. 1991. Evaluación de la actividad anti *Candida albicans in vitro* de diez plantas de uso medicinal en Guatemala. Tesis Lic Quim Biol. Guatemala, GT, USAC / CCQQ y Farmacia. 52 p.
49. Mendoza, JC. 1995. Confirmación de la actividad antimicrobiana de tres especies del género *Lippia*. Tesis Lic Quim Biol. Guatemala, GT, USAC / CCQQ y Farmacia. 46 p.
50. Mora, G. 1998. Fitoquímica y actividad biológica del género *Smilax* en Mesoamérica. In: Robles, G.; Villalobos, R. eds. Plantas medicinales del genero *Smilax* en Centroamérica. Actas de la reunión celebrada del 22 al 25 de septiembre de 1997. Turrialba, CR, CATIE, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. p 135-144.
51. Morton, JF. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield, Charles C. Thomas Publisher. p 779-801.

52. Navarro, MC; Montilla, MP; Cabo, MM, Galisteo, M; Cáceres, A; Morales, C; Berger, I.. 2003. Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases. *Phytother Res.* 17: 325-329.
53. Noxon, JO. 1996. Otitis externa. En: Birchard, SJ; Sherding RG. (Ed). *Manual clínico de pequeñas especies.* Trad LD Socorro, JL Alanís, RE Méndez, A Marcela. Ohio, US, McGraw-Hill-Interamericana. 1: 449-454
54. Ortiz, BR; Brower, CH. 1985. Chemical bases for medicinal plant use in Oaxaca, Mexico. *J Ethnopharmacol.* 13: 57-58.
55. Palacios, MC; Samayoa, C; Cáceres, A. 2004. Inhibición de *Gardnerella vaginalis* por extractos vegetales utilizados en el nororiente y suroccidente de Guatemala para el tratamiento de vaginitis. *Rev Cient, IIQB.* 3:14-18.
56. Planter. 1989. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora salvadoreña. San Salvador, Universidad de El Salvador. 619 p.
57. Ramachandran, AG. 1987. Polyphenolic compounds from flowers of *Psidium guajava*. *Phytoter* 58:204-205.
58. Rosychuk, RA; Luttgen, P. 2002. Enfermedades del oído: Enfermedades del canal auditivo externo. En: Ettinger, SJ; Feldman, EC. (Ed). *Tratado de medicina interna veterinaria.* 5 ed. Trad RA Taibo. Buenos Aires, AR. Inter-médica. v. 2. p. 1103-1009.
59. Sánchez, MR. 2003. Evaluación de toxicidad aguda y subcrónica de la planta *Smilax dominguensis* (Zarzaparrilla). Tesis Lic. Quim. Farm. Guatemala, GT, USAC / CCQQ y Farmacia. 40 p.

60. Sharapin, N. 2000. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED. 247 p.
61. Solis, G; Cáceres, A. Cleaves, C. 2003. Actividad biocida de cuatro plantas de uso medicina en el Parque Nacional Laguna de Lachuá (PNLL). Rev Cient IIQB. 3:1-7
62. Standley, PC; Steyermark, JA. 1952. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24 (3): 95.
63. _____; Williams, LO. 1963. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24 (7): 392.
64. _____. 1970. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 236 p.
65. Ultee, A; Kets, EPW; Smid, EJ. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl Environ Microbiol. 65:4606-4610.
66. Urizar, FL. 1989. Ensayo clínico sobre la efectividad de *Smilax lundellii* en el tratamiento de candidiasis vaginal. Tesis Lic Quim Biol. Guatemala, GT, USAC / CCQQ y Farmacia. 87 p.
67. Zamora; Martínez, MC. 1992. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, MX. J. Ethnopharmacol. 35:229-257.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1

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

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

Antibiótico y concentración	Microorganismos								
	<i>S. intermedius</i> (cepa 1 piel)	<i>S. intermedius</i> (cepa 2 piel)	<i>S. intermedius</i> (cepa 3 oído)	<i>S. intermedius</i> (cepa 4 oído)	<i>Streptococcus</i> sp. (cepa piel)	<i>Streptococcus</i> sp. (Cepa oído)	<i>P. aeruginosa</i> (cepa 1 oído)	<i>P. aeruginosa</i> (cepa 2 oído)	<i>P. mirabilis</i> (cepa oído)
Cefalexina 3 µg									
Cefalexina 30 µg									
Cefalexina 300 µg									

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Tabla 2. Determinación de la relación dosis-efecto de gentamicina 1, 10 y 100 µg/mL

Antibiótico y concentración	Microorganismos								
	<i>S. intermedius</i> (cepa 1 piel)	<i>S. intermedius</i> (cepa 2 piel)	<i>S. intermedius</i> (cepa 3 oído)	<i>S. intermedius</i> (cepa 4 oído)	<i>Streptococcus</i> sp. (cepa piel)	<i>Streptococcus</i> sp. (Cepa oído)	<i>P. aeruginosa</i> (cepa 1 oído)	<i>P. aeruginosa</i> (cepa 2 oído)	<i>P. mirabilis</i> (cepa oído)
Gentamicina 1 µg									
Gentamicina 10 µg									
Gentamicina 100 µg									

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

ANEXO 3

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

Tabla 6. Determinación de la relación dosis-efecto de ketoconazole (1, 10 y 100 µg/mL).

Antimicótico y concentración	Microorganismos			
	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>M. pachydermatis</i>
Ketoconazole 1 µg				
Ketoconazole 10 µg				
Ketoconazole 100 µg				

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

ANEXO 4

HOJA DE REGISTRO PARA EVALUACION DE ACTIVIDAD ANTILEVADURA Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM)

Tabla 1. Actividad antilevadura de los extractos etanólicos de las plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje

Planta	Microorganismo
	<i>Malassezia pachydermatis</i>
<i>L. graveolens</i>	
<i>P. jacquemontianum</i>	
<i>P. guajava</i>	
<i>A. guatemalensis</i>	
<i>S. domingensis</i>	
<i>S. americanum</i>	

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Tabla 2. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antilevadura de los extractos etanólicos de las plantas en estudio (µg/mL)

Planta	Microorganismo
	<i>Malassezia pachydermatis</i>
<i>L. graveolens</i>	
<i>P. jacquemontianum</i>	
<i>P. guajava</i>	
<i>A. guatemalensis</i>	
<i>S. domingensis</i>	
<i>S. americanum</i>	

ANEXO 5

HOJA DE REGISTRO PARA EVALUACION DE ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM)

Tabla 1. Actividad antimicótica de los extractos etanólicos de las plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje

Planta	Microorganismos		
	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
<i>L. graveolens</i>			
<i>P. jacquemontianum</i>			
<i>P. guajava</i>			
<i>A. guatemalensis</i>			
<i>S. domingensis</i>			
<i>S. americanum</i>			

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Tabla 2. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antimicótica de los extractos etanólicos de las plantas en estudio (µg/mL)

Planta	Microorganismos		
	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
<i>L. graveolens</i>			
<i>P. jacquemontianum</i>			
<i>P. guajava</i>			
<i>A. guatemalensis</i>			
<i>S. domingensis</i>			
<i>S. americanum</i>			