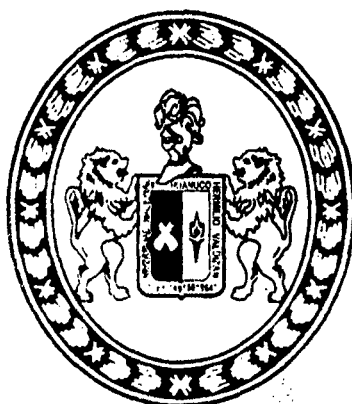


UNIVERSIDAD NACIONAL "HERMILIO VALDIZÁN"
HUANUCO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL
EXTRACTO DEL JAGUA (*Genipa americana* L.)
FRENTE A *Staphylococcus* sp, 2014

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO

TESISTAS:
CRISÓSTOMO ORTEGA, ALEXANDER
OSORIO RIVERA, YONI HUILMER
PEÑA ROJAS, MIQUERTH

ASESOR:
M.V. Alcides M. COTACALLAPA VILCA

HUÁNUCO-PERÚ
2015

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO DEL JAGUA
(*Genipa americana L*) FRENTE A *Staphylococcus sp*, 2014

TESIS

PRESENTADO POR:

CRISOSTOMO ORTEGA, ALEXANDER

OSORIO RIVERA, YONI HUILMER

PEÑA ROJAS, MIQUERTH

PARA OPTAR TITULO DE MEDICO VETERINARIO

ASESOR

M.V. Alcides M. COTACALLAPA VILCA

HUANUCO, 2014

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico con mucho amor para aquellas personas que me ayudaron a cumplir con esta meta.

A mi creador, Jehová, desde siempre mi inspiración y razón de mi esmero.

A mis padres, por apoyarme y enseñarme que con perseverancia se alcanzan grandes sueños.

A mis hermanos, porque gracias a ellos es agradable vivir un día más.

Y a mis amigos, porque me permiten ver el mundo desde otras perspectivas.

AGRADECIMIENTO

- A mi Dios, por darme la vida con libertad de inscribir mi historia.
- A la Universidad Nacional Hermilio Valdizan, por impartirnos conocimientos valiosos para toda la vida.
- A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, prestigiosa institución de cultura y ciencia.
- Al Dr. MVZ. Alcides M. Cotacallapa Vilca por su valiosa colaboración y asesoramiento en la elaboración de la presente Tesis.
- A mis padres y hermanos, por ese espíritu de unión, lealtad y justicia que amo en ellos y por lo cual todo lo que hago tiene sentido.
- A mis amigos por su compañía durante estos cinco años, en los cuales hemos compartido sueños y metas que ahora vemos realizados.

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	01
II.	MARCO TEÓRICO.....	03
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	24
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
V.	CONCLUSIONES.....	30
VI.	RECOMENDACIONES.....	31
VII.	BIBLIOGRAFÍA	32
VIII.	ANEXOS	35

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. DESCRIPCIÓN DE <i>GENIPA AMERICANA L</i>	04
CUADRO 2. POLIFENOLES TOTALES EN FRUTOS, CÁSCARA Y SEMILLA DE JAGUA.....	06
CUADRO 3. ANÁLISIS ALIMENTARIO DE <i>GENIPA AMERICANA L</i>	07
CUADRO 4. CRITERIO DE INTERPRETACIÓN BASADOS EN EL MÉTODO DE KIRBY Y BAUER.....	26
CUADRO 5. PROMEDIOS DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN DIFERENTES CONCENTRACIONES Y REPETICIONES DE JAGUA <i>GENIPA AMERICANA L</i>	29

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	03
FIGURA 2 Y 3	36
FIGURA 4 Y 5	37
FIGURA 6 Y 7	38
FIGURA 8 Y 9	39
FIGURA 10 Y 11.....	40
FIGURA 12 Y 13.....	41
FIGURA 14 Y 15.....	42
FIGURA 16 Y 17.....	43
FIGURA 18 Y 19.....	44
FIGURA 20 Y 21.....	45

RESUMEN

Las enfermedades producidas por *Staphylococcus sp.* constituyen un gran problema de salud en la mayoría de nuestras mascotas, como también en los animales de granja, produciendo grandes pérdidas económicas en estos últimos. Esta bacteria que puede vivir libre en el medio ambiente, como parásito en la piel de un huésped y en el tracto respiratorio de los animales causa infecciones en los ojo piel, oídos o en las vías respiratorias, tanto individualmente como asociadas con otros agentes patógenos. Viendo actualmente que varios de esos microorganismos generan resistencia a varios de los medicamentos indicados para este tipo de enfermedades, se está recurriendo a estudios de varias especies de plantas, especialmente de las regiones selváticas. Es por eso que mediante cultura tradicional que se viene utilizando durante varios años en estas regiones amazónicas del Perú del fruto de jagua (*Genipa americana L*), para el tratamiento de proceso respiratorios en los habitantes de la zona. Es por eso que el presente estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana del fruto de jagua frente a *Staphylococcus sp.* Se recolecto una cepa de la mucosa oral para aislarla y posteriormente hacer un antibiograma, como muestra se usó el extracto de jagua. Se hizo 7 tratamientos y 8 repeticiones. El TI fue el tratamiento control, TII, TIII y TIV fueron soluciones del extracto de jagua al 50%, 75% y 100% respectivamente; TV se utilizó la pulpa y finalmente en TVI y TVII se utilizaron discos de sensibilidad antibacteriana de eritromicina y amoxicilina + ácido clavulánico respectivamente. Se obtuvo halos de inhibición más representativos en los TIII (75%) y TIV (100%) con halos promedio de 17.1 mm y 22.6 mm, estadísticamente similar actividad antibacteriana que la amoxicilina + ácido clavulánico. Por los resultados hallados podemos afirmar que la fruta posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus sp.* pero con la recomendación de profundizar más este estudio en el futuro.

ABSTRACT

Diseases caused by *Staphylococcus* sp. They constitute a major health problem in most of our pets, as well as farm animals, causing great economic losses in the past. This bacterium can live freely in the environment, as a parasite on the skin of a host and in the respiratory tract of animals cause eye infections in skin, ears or the airways, either individually or associated with other pathogens. Now seeing several of these organisms produce resistance to several medications for these diseases, it is turning to studies of several species of plants, especially in the boondocks. That is why using traditional culture that has been used for several years in these Amazonian regions of Peru Jagua fruit (*American Genipa L*), for the treatment of respiratory process in the locals. That is why this study was to determine the antibacterial activity of Jagua fruit against *Staphylococcus* sp. A strain of the oral mucosa to isolate and then make a susceptibility, as shown jagua extract used was collected. 7 treatments and 8 repetitions were made. The control treatment was T1, T2, T3 and T4 were jagua extract solutions of 50%, 75% and 100% respectively; Pulp was used T5 and T6 and T7 finally discs antibacterial erythromycin sensitivity and amoxicillin + clavulanate respectively were used. Halos most representative inhibition was obtained in T3 (75%) and T4 (100%) with halos average 17.1 mm and 22.6 mm, statistically similar antibacterial activity to amoxicillin + clavulanate. By the found results we can say that the fruit has antibacterial activity against *Staphylococcus* sp. but with the recommendation to deepen this study in the future

I. INTRODUCCION

En los últimos años, la investigación y el desarrollo de drogas de origen vegetal ha cobrado especial importancia a través de la exhortación realizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) a que cada año se utilice todos los recursos en beneficio de la Atención Primaria de la salud **(Saravia G, 2008)**. Actualmente los productos de origen natural representan casi el 40% de los medicamentos prescritos en la clínica **(Newman, 2008)**. De esta manera los principios activos pueden ser aislados de manera directa a partir del material biológico, muchos de ellos constituyendo fuertes inhibidores de tumores **(Suffness&Cordell, 1985)**, o bien pueden sufrir alguna modificación química con el objetivo de mejorar alguna propiedad farmacocinética o farmacodinámica.

Los *Staphylococcus sp.* son bacterias Gram positivas cocoides no móviles, no forman esporas, anaerobias facultativas hallados comúnmente en la piel de los mamíferos **(De La Fuente et al., 2002)**. Este género posee 37 especies identificadas y todas son parte de la microflora normal de la piel y las superficies mucosas del tracto respiratorio superior del hombre y de los animales. En perros, las especies *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudointermedius* están emergiendo como especies patógenos comunes en caninos **(Frank et al., 2003; Devriese et al., 2005)**.

Un amplio rango de antibióticos es utilizado para tratar infecciones causadas por estafilococos y han conducido a la emergencia de cepas resistentes. Los antibióticos utilizados frecuentemente en la terapia canina son: penicilinas, cefalosporinas, macrólidos, lincosamidas, tetraciclinas, cloranfenicol, sulfonamidas potenciadas, amino glucósidos y fluoroquinolonas **(Rejas et al., 1998)**. Kunkle (1987) y Reedy et al., (1997) concluyeron que es mucho más probable que los perros que no reciben terapia antibiótica previa tengan aislamiento de estafilococos susceptibles a un amplio espectro de drogas, comparados con aquellos que reciben drogas antimicrobianas. Los perros al aislamiento podrían

adquirir determinantes de resistencia de su alrededor vía alimentos, camas contaminadas y a través del contacto con otros mamíferos **(Malik et al., 2005)**.

El *Staphylococcus sp.* destaca como un importante patógeno humano y animal, que produce infecciones tanto en la comunidad como a nivel hospitalario. En la comunidad, las infecciones por *Staphylococcus sp.* son a menudo agudas, piogénicas y superficiales, aunque también puede producir, con menor frecuencia, infecciones profundas como osteomielitis, neumonía y endocarditis aguda. A nivel veterinario *Staphylococcus sp.* es un importante agente de infecciones de piel, oído y en caso de la ganadería lechera produce variedades de mastitis, la cual tiene gran importancia económica.

El jagua es un fruto originario de las zonas templadas, crece en forma silvestre originario de nuestra amazonia; viene siendo usado por los pobladores para fines medicinales. Es por ello, la importancia de realizar investigaciones con finalidad de probar su efecto bactericida.

Por lo que en este trabajo lo que se quiere encontrar son alternativas que sirvan para potenciar los antibióticos y no abusar de ellas, encontrar, no sustitutos, sino complementos.

Los principales inconvenientes fue la disponibilidad de los ambientes, reactivos, instrumentos de laboratorio y obtención de la fruta, ya que por estar fuera de su temporada de producción. El presente trabajo se tuvo como objetivo conocer la actividad inhibitoria antibacteriana *in vitro* de extracto de Jagua (*Genipa americana L*) versus eritromicina y amoxicilina más ácido clavulánico.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DEL JAGUA (*Genipa americana*)

Genipa americana (jagua) es una especie del género *Genipa*, el árbol de jagua se originó probablemente en la Cuenca Amazónica y fue esparcido través de los Trópicos Americanos por los seres humanos en tiempos prehistóricos. Los límites originales de su distribución se desconocen. Hoy en día, los árboles de jagua crecen naturalmente a lo largo de ambas costas en México un poco al norte del Istmo de Tehuantepec y del istmo a través de la América Central y a través del norte de la América del Sur hasta Paraguay y el norte de Argentina. Esta especie también se puede encontrar en las Antillas Mayores (a excepción de Jamaica) y en muchas de las islas de las Antillas Menores (Francis, JK. 1993).



FIGURA 1. ÁREAS DE DISTRIBUCION NATURAL E INTRODUCIDAS APROXIMADAS DEL ÁRBOL DE JAGUA, *Genipa americana* L. FUENTE: Francis, JK. 1993

2.1.1 Características

Genipa americana es un árbol de tamaño pequeño a mediano, de 8 a 20 m de altura, sin embargo se encuentran especímenes de hasta 30 metros. El diámetro del tronco es de 30 a 80 cm y tiene una corteza gruesa y suave. Cuenta con una copa densa y las ramas más bajas crecen más o menos en forma horizontal, con 10 a 35 hojas en los extremos. En la mayor parte de la cuenca del Amazonas, los árboles florecen de mayo a septiembre y dan frutos entre septiembre y abril. Los frutos tardan hasta un año para madurar. En la mayoría de los árboles, las abejas polinizan las flores. Su fruto es grande, tipo baya, de 9 a 15 cm de largo, 7 a 9 cm de ancho, con un peso entre 200 y 400 g; tiene una capa delgada y correosa de 1 a 2 cm de espesor, y su pulpa es de color amarillo-marrón. La cavidad central contiene hasta 300 semillas, encerradas en las membranas. Las semillas son duras, planas y de color marrón oscuro. Son de 10 a 12 mm de longitud y por lo general se cuentan 10.000 en un kg. La germinación es alta, pero lento el crecimiento inicial (UNITED NATIONS CONFERENCE ON TRADE AND DEVELOPMENT. UNCTAD), 2005.

2.1.2 Información técnica de la Jagua

CUADRO 1. DESCRIPCIÓN DE *Genipa americana* L.

Familia	Rubiaceae
Genero	<i>Genipa</i>
Especie	Americana
Nombres comunes	Jagua, huito, y genipa (en Latinoamérica), genipap y genipa (inglés), bois de fer (francés) y genipapo (portugués).
Partes utilizadas	Frutos, corteza, resina y flores.

FUENTE: UNITED NATIONS CONFERENCE ON TRADE AND DEVELOPMENT (UNCTAD), 2005.

2.1.3 Propiedades

- Los frutos tienen propiedades diuréticas, estomacales, revulsivas y desobstruyentes y el jugo está indicado contra la enteritis crónica y la hidropesía.
- El fruto maduro también se utiliza para el tratamiento de la bronquitis, mientras que el fruto verde tiene propiedades astringentes, antiinflamatorias y anti anémicas.
- El fruto verde tostado y frotado sobre la piel tiene la propiedad de ahuyentar a los mosquitos y dejarla libre de impurezas.
- La raíz de la jagua tiene efecto purgativo y laxante, mientras la corteza en decocción cura úlceras de origen escorbútico y enfermedades venéreas, además de combatir anemias y regurgitaciones del hígado y del bazo **(Rengifo, L., 2007)**.

2.1.4 Usos

- *Genipa americana* se cultiva por su fruta comestible, y para bebidas, mermeladas, helados, polvos azucarados. En medicina tradicional útil en tratar ataques del micro pez candirú o canero. Los indios sudamericanos también se lavan sus piernas en el líquido claro de la fruta, que tiene un efecto astringente. Cuando el líquido se oxida, tiñe de negro la piel. El teñido es permanente, pero solo afecta las capas externas de la epidermis. Así, pues, cuando la piel se renueva, la mancha desaparece en unas dos semanas. El jugo de la fruta inmadura es claro, e induce una reacción química en la piel humana cambiando su color a un azul oscuro, por lo que es usado como pintura corporal. La fruta madura del huitito se toma cruda o en mermelada. La fruta es elaborada en infusión y bebida como remedio para la bronquitis. El huitito prefiere suelo aluvial, crece muy rápidamente (produce en 3 años), aún en campos inundados. Aunque puede ser plantado, es más frecuente su dispersión por animales y agua. Es un muy buen árbol ascendente para alcanzar a otros árboles. Con los frutos maduros y fermentados con aguardiente se hace una bebida alcohólica **(Rengifo, L., 2007)**.

El fruto es insecticida, la pulpa se la untaban los indígenas como repelente. Y también bactericida y germicida (probablemente debido al fenol).

CUADRO 2. POLIFENOLES TOTALES (mg/100g) EN FRUTOS, CASCARA Y SEMILLA DEL JAGUA.

PARTE DEL FRUTO	Jagua
Pulpa	137.15
Cáscara	7.2
Semilla	26.81

FUENTE: INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONIA PERUANA. Evaluación de la actividad antioxidante de seis frutales amazónicos: anona, castaña, chope, huasaí, huito y uvilla (Sotero et al., 2011).

1.1.5 Compuestos de la *Genipa americana* L.

- Lípidos: ácidos grasos y fitoesteroides como: ergosta-4,6,22-trieno, 4,4-dimetilcolesta-6,22,24-trieno, β -sitosterol, tremulona, campesterol y estigmasterol.
- Compuestos fenólicos: 6,7-dimetóxi-cumarina, taninos.
- Iridoides: Genipósido, ácido genípico, ácido genipínico, tarenosídeo, gardenosídeo, gardendiol, shanzhisídeo, éster acetílico de ácido desacetilasperulosídico, genopocidic, entre otros.
- Monoterpenoides: genipacetal, genipaol
- Compuestos volátiles: 2,4-octadieno, estireno, heptadienal, 2,3-dimetil-2-ciclopenteno-1-ona, ácido hexanóico, nonanol, octanoato de metilo, metilbenzaldeído, ácido octanóico, ácido 2-metil-butanóico.
- Alcaloides: cafeína.
- Ácidos y alcoholes orgánicos: manitol, ácido tartárico.
- Otros: hidantoína (**Barbosa., D 2008**).

CUADRO 3. ANÁLISIS ALIMENTARIO DE *Genipa americana* L.

Análisis alimentario por cada 100 g de pulpa comestible	
Calorías	113
Humedad	67.6 g
Proteínas	5.2 g
Lípidos	0.3 g
Glicerina	25.7 g
Fibra	9.4 g
Cenizas	1.2 g
Calcio	40.0 mg
Fósforo	58.0 mg
Hierro	3.6 mg
Vitamina B	0.04 mg
Vitamina B2	0.04 mg
Niacina	0.50 mg
Ácido ascórbico	33.0 mg
Aminoácidos (por g de Nitrógeno [N 6.25])	
Lisina	316 mg
Metionina	178 mg
Treonina	219 mg
Triptófano	57 mg

FUENTE: Pérez., O. 2000.

2.2 GENERALIDADES DEL *Staphylococcus sp*

Los estafilococos son catalasa positivos. Utiliza los hidratos de carbono tanto por oxidación como por fermentación. La temperatura óptima es de 37°C y el pH óptimo es de 7 a 7.5

2.2.1 Respiración

Las bacterias estafilocócicas son aerobios o anaerobio facultativos.

2.2.2 Principales características de los estafilococos

S. aureus es la especie que más se ha estudiado. Los ECN han sido objeto de estudio en la última década, tanto en medicina humana y como en medicina animal (Stanchi., 2007).

Los estafilococos son células esféricas gram positivas, habitualmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimo de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermenta carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Algunos son miembro de la flora normal de la piel y mucosa de los humanos.

Otras causan supuración, formación de absceso, varias infecciones piógenas, e incluso septicemia mortal (Stanchi., 2007).

Los estafilococos patógenos casi siempre producen hemólisis, coagulación de plasma y producen varias enzimas y toxinas extracelulares. El tipo más común de envenenamiento alimentario es causado por una enterotoxina termoestable de los estafilococos (Jawetz et al., 1999).

2.2.3 Morfología e identificación

Los estafilococos son células esféricas de casi 1µm de diámetro dispuestas en grupos irregulares. En líquidos de cultivo también se observan cocos únicos en parejas, tétradas y cadenas. Los cocos jóvenes son fuertemente Gram positivos; después de envejecer muchas células se hacen Gram

negativas. Los estafilococos están disponibles de motilidad y no forman esporas.

2.2.4 Morfología microscópica

El nombre del genero *Staphylococcus* se refiere a que las células de estos se desarrollan en un patrón que recuerdan a un racimo de uvas; sin embargo los microorganismos presentes en muestras clínicas aparecen como células aisladas, en pares o en cadenas cortas. Como ya hemos dicho se trata de cocos Gram positivos que poseen tendencia a agruparse en racimos. Tienen una forma esférica y un diámetro de alrededor de una micra.

2.2.5 Morfología macroscópica

Para apreciarla debemos contar con un aislamiento de la cepa a estudiar en una placa de Petri. El aislamiento nos permitirá observar las características de las colonias. En medios no selectivos, *S. aureus* presenta colonias de 1 a 3 mm de diámetro, lisas, levemente elevadas, de bordes enteros, levemente convexas y generalmente pigmentadas con un color que puede ir desde el crema al amarillo. La producción de pigmento se ve favorecida si se incuban los cultivos por 24 a 48 horas adicionales a temperatura ambiente. Cuando crecen en agar sangre ovina se puede observar una zona de β -hemólisis alrededor de las colonias.

2.2.6 Cultivo

Los estafilococos crecen con facilidad sobre casi todos los medios bacteriológicos en condiciones aerobias o microaerófilas crecen con mayor rapidez a 37 °C, pero el pigmento se forma mejor a temperatura ambiente (20 a 25°C). Sobre medios solidos las colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes. El *S. áureus* habitualmente forma colonias de color gris o amarillo dorado intenso. En el aislamiento primario las colonias de *S. epidermidis* en general son de color gris o blanco; muchas colonias

desarrollan pigmentos solo después de incubación prolongada (**Jawetz et al., 1999**).

2.2.7 Características del crecimiento

Los estafilococos producen catalasa, que los diferencia de los estreptococos. Fermentan lentamente muchos carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas; la actividad proteolítica varía mucho de una cepa a otra.

Los estafilococos son relativamente resistentes a la desecación (resisten 50°C durante 50 minutos), y al cloruro de sodio al 9 %, pero se inhiben con facilidad mediante ciertas sustancias químicas (hexaclorofeno al 3%). Los estafilococos muestran susceptibilidad variable a muchos antibacterianos (**Jawetz et al., 1999**).

2.2.8 Estructura antigénica

En la estructura de la pared celular, los estafilococos poseen polisacáridos y proteínas antigénicas y también otras sustancias importantes. El peptidoglucano (un polímero polisacárido formado por la unión de sub unidades) suministra el exoesqueleto rígido de la pared celular; la exposición a un ácido fuerte o a lisosimas destruye a peptidoglucanos. El peptidoglucano es importante en la patogenia de la infección: induce la producción de interleucina - 1 (pirógeno endógeno) y de anticuerpos opsonicos en los monocitos; y puede atraer químicamente a los leucocitos polimorfonucleares, posee actividad parecida a la endotoxina, genera un fenómeno de Shwartzman localizado y activa el complemento.

Los ácidos teicoicos, polímeros de glicerol o fosfato están unidos al péptidoglucano y puede ser antigénica. Los anticuerpos antiteicoicos detectables mediante difusión en gel pueden observarse en pacientes con endocarditis activa causada por *S. áureos*.

2.2.9 Toxinas y enzimas

Los estafilococos pueden producir enfermedad por su capacidad para multiplicarse y propagarse de modo extenso en los tejidos y mediante la producción de muchas sustancias extracelulares, algunas de estas sustancias son enzimas: catalasas y coagulasa; y otras enzimas: hialuronidasa, estafilocinasa, estreptocinasa, proteinasas, lipasas beta lactamasa. Dentro de las exotoxinas tenemos, estas incluyen varias toxinas letales cuando se inyectan a animales, causan necrosis en piel y contienen hemolisinas solubles aislables mediante electroforesis. La toxina alfa (hemolisina) es una proteína heterogénea que puede causar lisis de eritrocitos y dañar las plaquetas, probablemente es idéntica con los factores letal y dermonecrosante de las exotoxinas. La toxina alfa también muestra una potente acción sobre el músculo liso vascular. La toxina beta desdobla la esfingomielina y es tóxica para muchos tipos de células, incluso los eritrocitos humanos. Estas toxinas y otras dos, las toxinas gamma y delta, son antigénicamente distintas y no muestra interrelación con la lisina del estreptococo. La exotoxina tratada con formol produce un toxoide antigénico pero no tóxico, aunque esto carece de significado clínico (Jawetz et al., 1999).

2.2.10 Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Frotis superficiales, pus sangre, material aspirado de la tráquea, o líquidos cefalorraquídeo para cultivo, según la localización del proceso. La determinación de anticuerpos en suero carece de valor (Jawetz et al., 1999).

B. Frotis

En los frotis teñido de pus o esputo se observa los estafilococos típicos. No es posible distinguir los microorganismos saprofitos (*S. epidermidis*) de los patógenos (*S. aureus*) en los frotis (Jawetz et al., 1999).

C. Cultivo

Muestras sembradas a 37 °C en placas de agar sangre producen colonias típicas en 18 horas, pero no pueden hemolisis y producción de pigmento sino hasta varios días después y ambos procesos son óptimos a temperatura ambiente. **(Jawetz et al., 1999).**

D. Prueba de la catalasa

Se coloca una gota de peróxido de hidrogeno sobre un porta objeto sobre esa solución se vierte una pequeña cantidad de las bacterias en crecimiento. La formación de burbujas indica una prueba positiva. **(Jawetz et al., 1999).**

E. Prueba de coagulasa

El plasma citrado de conejo diluido 1:5 se mezcla con un volumen igual de caldo de cultivo o colonias en crecimiento sobre agar y se incuba a 37 °C. Se incluye como control un tubo de plasma mezclado con caldo estéril. Si se forma coágulo de 1 a 4 horas la prueba es positiva. **(Jawetz et al., 1999).**

F. La prueba de susceptibilidad

Deben efectuarse rutinariamente pruebas de susceptibilidad por micro dilución en caldo o por difusión en disco a los estafilococos aislados de infecciones de importancia clínica **(Jawetz et al., 1999).**

G. Prueba serológica y de tipificación

En infecciones profundas prolongadas (endocarditis estafilocócica) se puede detectar anticuerpos al ácido teicóico. Estas pruebas serológicas tienen poco valor práctico.

Los patrones de susceptibilidad a los antibióticos son útiles en el seguimiento de las infecciones por *S. aureus* y para determinar si los múltiples al *S. epidermidis* aislados de los hemocultivos representan

bacteremia debido a una misma cepa, diseminada a partir de un foco infeccioso (Jawetz et al., 1999).

2.2.11 Metabolismo

En cuanto a su forma de obtener energía es tanto a través de la fermentación como de la respiración. En cuanto a los requerimientos de cultivo, son no exigentes desde el punto de vista nutricional, creciendo en medios pobres y simples. En su relación con el oxígeno son aerobios-anaerobios facultativos.

2.2.12 Resistencia frente agentes químicos y físicos

Es muy resistente a las condiciones ambientales normales. Es capaz de sobrevivir hasta tres meses en un cultivo a temperatura ambiente. Muere expuesto a temperaturas mayores de 60 °C por una hora. En cuanto a los agentes químicos, es sensible a la mayoría de los desinfectantes y antisépticos, que lo matan en pocos minutos.

2.3 GENERALIDADES DE LA ERITROMICINA

La Eritromicina es un antibiótico macrólido producido por el actinomiceto *Streptomyces erythreus*. Tiene la propiedad de ser una base débil, poco soluble en agua, con un pKb (constante de disociación) de 7,8. Se diferencia de otros antibióticos porque sus moléculas no ionizadas son altamente liposolubles, atravesando las barreras biológicas fácilmente por difusión pasiva, para alcanzar idénticas concentraciones en ambos lados de la membrana (Sumano et al., 1997).

Se distribuye a través del cuerpo en la mayoría de los fluidos, células y tejidos incluyendo próstata, pulmón, macrófagos, neutrófilos PMN, glándula mamaria y líquido cefalorraquídeo. La penetración de este fármaco a los tejidos de difícil acceso es debida a su gran liposolubilidad, de tal manera que la concentración que alcanza en ellos está influenciada por su unión a

proteínas plasmáticas (73% a 81%), y por la velocidad con que disminuye su concentración en plasma.

Primariamente es excretada sin modificaciones por la bilis, aunque en parte es metabolizada en hígado por vía de la N-dimetilación, transformándola en un metabolito inactivo. Sólo del 2% al 5% es excretada por orina sin modificación de su estructura molecular. La vida media de la eritromicina es de 60 a 90 minutos en perros y gatos, 70 a 80 minutos en potrillos y yeguas y 200 minutos en vacas.

En altas concentraciones (10 mg/KPV), se comporta como un agente bacteriostático y contra organismos susceptibles es bactericida. Este macrólido actúa uniéndose a la subunidad ribosomal 50 S de las bacterias inhibiendo a la síntesis proteica y desacoplando los puentes de aminoácidos. Tiene actividad contra cocos Gram + (*Staphylococcus*, *Streptococcus*), bacilos Gram + (*Bacillus anthracis*, *Corynebacterium*, *Clostridium* spp, *Listeria*, *Erysipelothrix*), y algunas cepas de bacilos Gram- incluyendo *Haemophilus*, *Pasteurella*, y *Brucella*. Ciertas cepas de *Actinomyces*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Ureoplasma* y *Rickettsia* también son inhibidas por este antibiótico (Sumano et al., 1997).

La MCI (Mínima Concentración Inhibitoria) de la Eritromicina es del orden de 0,28 a 0,50 mcg/ml y si la misma actúa en presencia de Lactoferrina (Glucoproteína de alto peso molecular, fundamental en el proceso inmunomodulador de la mama), la misma desciende a 0,12 mcg/ml.

La Eritromicina estimula la motilidad gastrointestinal. La actividad procinética de este fármaco se ejerce principalmente sobre el cuerpo abomasal, antro pilórico y duodeno proximal, este efecto es beneficioso en el periparto, período en el cual es muy frecuente la hipomotilidad rúmimo intestinal, por lo que su actividad es preventiva del desplazamiento abomasal.

En el tratamiento de las mastitis clínicas, es de muy alta eficacia el uso parenteral de este antimicrobiano liposoluble, con óptima difusión desde la

circulación sistémica hacia el tejido glandular para lograr altas concentraciones (fenómeno de atrapamiento) en el foco infeccioso. El mecanismo habitual de distribución de la Eritromicina en la glándula mamaria, está relacionado a su constante de disolución o pK, que es el grado de ionización y liposolubilidad a un mismo pH de la leche (6,8). Como la Eritromicina está poco ionizada al pH plasmático (7,4) se difunde en la leche, se ioniza y queda retenida al encontrar un pH más ácido de (6,5 a 6,8). La relación leche/plasma de la Eritromicina es de 8,70 por presentar el pKb más alto y la liposolubilidad mayor (**Manual Merck, 2000**).

La penetración y acumulación del antibiótico a nivel celular y fundamentalmente en las células blancas (PMN), es necesaria para su actividad específica. La Eritromicina es el A TM de mayor difusión a nivel de los neutrófilos. Si expresamos esta virtud como relación celular/extracelular, la misma es de 11,46 al ser comparada con la penicilina cuyo pico llega a 1,76, en ambos antibióticos dentro de los 60 minutos de exposición antibiótico (**Sumano et al., 1997**).

2.3.1 Indicaciones

La eritromicina está indicada para el tratamiento de infecciones causadas por organismos susceptibles en bovinos, potrillos, cerdos, ovejas, perros y gatos.

Es muy eficaz contra ciertos microorganismos, principalmente *Staphylococcus aureus*, Coagulasa Positivo en la mastitis bovina, en infecciones por *Rhodococcus equi* en el potrillo y en pleuroneumonía fibrinosa por *Pasteurella* en los terneros.

Perros: Para el tratamiento de infecciones con estafilococos en dosis de 10 a 20 mg/kg/8-10 h., infecciones respiratorias por *Mycoplasma spp.* y diarrea con *Campilobacter spp.*, se recomienda en dosis de 10 mg/kg/8h.

Bovinos: Para mastitis clínicas, agudas y crónicas, originadas por *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivos y coagulasa negativos), *Streptococcus agalactiae*, *uberis* y *disgalactiae*. Para bronconeumonía y neumonías fibrinosas con pleuroneumonías, originadas por *Pasteurella*,

Haemophilus, Staphylococcus en terneros en crianza artificial y/o bovinos en engorde intensivo. Para poliartritis en los terneros con gran cojera, artritis supuradas de grandes articulaciones, originadas por *Erysipelothrix insidiosa*. Para síndrome mastitis/metritis sobreaguda puerperal (síndrome endotóxico) 10 mg/kg (5 ml cada 100/kg) cada 24 horas, repitiendo de acuerdo a la gravedad del cuadro a tratar. Para bronconeumonía y neumonías fibrinosas con pleuroneumonías, originadas por *Pasteurella, Haemophilus, Staphylococcus* en terneros en crianza artificial y/o bovinos en engorde intensivo: 20 mg/kg (10 ml cada 100 kg) cada 24 horas, repitiendo de acuerdo a la gravedad del cuadro a tratar.

Equinos: Para el tratamiento de las infecciones originadas por *Rhodococcus equi* en los potrillos, en dosis de 10 mg/kg (5 ml cada 100 kg) cada 12 horas hasta la mejoría de los síntomas.

Cerdos: Para afecciones respiratoria dar dosis de entre 2,2 a 6,6 mg/kg (de 1 a 3 ml cada 100 kg) una vez al día. Para la erisipela porcina o poliartritis no supurativa con lesiones cutáneas de carácter grave indicar 20 mg/kg (1 ml cada 10 kg) cada 24 horas.

Ovinos: Para infecciones respiratorias 2,2 mg kg (1 ml cada 90 kg) cada 24 horas. Para prevenir la disentería en los corderos recién nacidos cuando el agente causal es el *Clostridium perfringens* tipo B, 125 mg kg (0,625 ml por kg) inmediatamente después del parto (**Sumano et al., 1997**).

2.3.2 Contraindicaciones y advertencias

Está contraindicada en equinos adultos con daño hepático. No tiene efectos teratogénicos, pudiéndose aplicar también durante la gestación.

2.3.3 Efectoscolaterales

La inyección intramuscular puede ocasionar reacción local y dolor en el punto de la aplicación. En los potrillos puede provocar una leve diarrea y un estado de hipertermia de corta duración. La eritromicina a las dosis

indicadas no tiene efectos colaterales; con una sobredosis pueden ocurrir cuadros de shock en lechones menores de dos meses.

2.4 GENERALIDADES DE LA AMOXICILINA + ACIDO CLAVULANICO

Del grupo de inhibidores de las beta-lactamasas, el ácido clavulánico y el sulbactam son introducidos en medicina veterinaria, con gran suceso, renovando y re potencializando la acción de la amoxicilina y la ampicilina respectivamente. El ácido clavulánico y el sulbactam son sinérgicos con una serie de penicilinas y cefalosporinas. El ácido clavulánico utilizado solo, tiene escasa o nula actividad antimicrobiana pero unido a la amoxicilina le otorga a esta una potencia y un espectro de acción que nunca habría logrado utilizada sola. Esta combinación es hoy una de las principales herramientas de la terapéutica antimicrobiana con la que cuenta el veterinario práctico.

El ácido clavulánico es un compuesto sintético, tiene capacidad para inhibir a la mayoría de las betalactamasas. La combinación con amoxicilina, es bactericida en una o dos diluciones por debajo de la CIM de la amoxicilina empleada individualmente.

La amoxicilina + ácido clavulánico poseen un espectro de acción similar a la de una cefalosporina de primera y de segunda generación, sumadas (**Doti, 2009**).

2.4.1 Farmacocinética

Es un antibiótico betalactámicos de espectro extendido, bactericida, al que la incorporación de ácido clavulánico le otorga una mayor potencia y espectro de acción, al hacerlo resistente a la acción de las betalactamasas. Analizando la cinética de la amoxicilina, la que no se modifica por la incorporación del clavulánico. Por lo tanto los regímenes terapéuticos y posológicos continúan invariables.

El ácido clavulánico tiene muy buena absorción oral y comparte con la amoxicilina propiedades farmacocinéticas similares, como su buena concentración tisular exceptuando la leche y el líquido cefalorraquídeo sin meningitis o encefalitis.

Posee una vida media de aproximadamente 1 hora y se excreta inalterado por la orina.

2.4.2 Uso clínico en caninos y felinos

Tiene diversas aplicaciones clínicas con la ventaja de una dosis oral, cada 12 horas, administradas por el propietario. Se utiliza amoxicilina + clavulánico con éxito infecciones de la piel y de tejidos blandos causados por *Staphylococcus intermedius* y *S. aureus*. Es de elección en heridas donde podemos encontrar además de *Staphylococcus spp.*, bacterias anaerobias y *Streptococcus spp.* En infecciones respiratorias altas y bajas, en saculitis anal, en gingivitis, periodontitis e infecciones urinarias donde encontramos oportunistas como *E. coli*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella spp.*

No lo recomendamos en infecciones graves causadas por estos tres agentes, debido a que las concentraciones tisulares pueden no superar la CIM necesaria para eliminarlas, durante un tiempo relativamente prolongado. (Recordar que los Beta lactámicos son bactericidas tiempo dependientes).

Duplicar la dosis no incrementa el éxito terapéutico en el tratamiento de la pioderma canina. Para este tipo de infección así como las infecciones urinarias recomendamos el uso de enrofloxacin o cefalexina cuando la respuesta a la amoxicilina + ácido clavulánico no es la esperada. La amoxicilina + clavulánico es muy útil en el tratamiento de peritonitis con derrame de contenido intestinal debido a su buena actividad contra enterobacterias y anaerobios.

2.4.3 Posología

- **Caninos**

Para infecciones urinarias: 12,5 mg/kg. cada 12 horas vía oral durante 5 a 7 días. Para infecciones de piel y tejidos blandos: 12,5 mg/kg. cada 12 horas vía oral durante 5 a 7 días (el tratamiento puede extenderse hasta los 30 días). En piodermas profundas: 12,5 mg/kg. cada 12 horas vía oral durante 14 a 120 días. En septicemia: 22 mg/kg. cada 8 a 12 horas vía oral durante 7 días. Para

infecciones grampositivas: 10 mg/kg. cada 12 horas vía oral. Para infecciones gramnegativas: 20 mg/kg. cada 8 horas vía oral.

Para pioderma no superficial: 10-25 mg/kg. cada 12 horas vía oral durante 3 a 6 semanas. La dosis máxima es de 650 mg., 2 veces al día incrementa a 3 veces por día. Si no se aprecia respuesta en una semana. Si para la segunda semana todavía no hay respuesta suspender el tratamiento **(Doti, 2009)**.

- **Felinos**

Para infecciones grampositivas: 10 mg/kg. cada 12 horas vía oral. Para infecciones gramnegativas: 20 mg/kg. cada 8 horas vía oral En infecciones urinarias: 62,5 mg. (dosis total gato) cada doce horas durante 10 a 30 días. En infecciones de piel y tejidos blandos: 62,5 mg. (dosis total gato) o 10-20 mg/kg. cada 12 horas vía oral durante 5 a 7 días. En septicemia y neumonía: 10 a 20 mg/kg. cada 8 horas vía oral durante 7 a 10 días **(Doti, 2009)**.

2.5 GENERALIDADES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

2.5.1 Manitol Salado Agar

El alto contenido de sal suprime el crecimiento de la mayoría de las otras bacterias que no son *Staphylococcus*. La degradación del carbohidrato manitol hasta ácido hace variar el indicador rojo de fenol a un color amarillo, esta propiedad es por lo general sinónimo de patogenicidad para el caso de *Staphylococcus* **(Mendo, 1995)**.

Composición:

Extracto de carne	1.0 g
Cloruro de sodio	75.0 g
D (-) Manitol	10.0 g
Peptona	10.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
Rojo de fenol	0.025 g
Agar – agar	15.0 g

Es un medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos a partir de diferentes muestras. En el medio de cultivo el extracto de carne, la peptona de carne y la triptea, constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales que promueven el desarrollo microbiano. El manitol es el hidrato de carbono fermentable. El cloruro de sodio que se encuentra en alta concentración) es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, el rojo fenol es el indicador de pH y el agar es el agente solidificante (**Murray, 1989**).

Cuando se suplementa con sangre de carnero al 5%, permite realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos. También, con el agregado de sangre puede utilizarse para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes. Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo. Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol (**MacFaddin, 1985**).

La alta concentración de cloruro de sodio resulta en una inhibición total o parcial de microorganismos no pertenecientes al género *Staphylococcus*. La fermentación del manitol es evidenciada por un cambio del indicador rojo fenol, lo que permite la diferenciación de las especies de este género (**Jawets et al.,2000**).

2.5.2 Mueller Hinton Agar

Este medio carece de inhibidores, lo que permite el crecimiento de una gran cantidad de microorganismos tanto Gram positivos como Gram negativos. Crecen muy bien gonococos y meningococos con colonias grandes y fácilmente reconocibles y especialmente con la ayuda de reactivo de oxidasa.

Este medio es de valor para comprobar la susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* las sulfamidas y al trimetropin (**Mendo, 1995**).

Su composición es:

Infusión de carne	300 g
Ácidos de casamino	17.5 g
Almidón	1.5 g
Agar	17 g

38 g/Lt – pH 7.3 +/- a 25° C – 11.9 Lts/Lb de medio

Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad. Medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano y también para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medios sólidos, debido a que presenta buena reproductibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, bajo la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos adicionales que han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo (**Isenberg, 1992**).

Se trata de un medio altamente selectivo por la alta concentración salina y diferencial debido a la capacidad de fermentación del manitol por los microorganismos. Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo. Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol. Los estafilococos coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color (**MacFaddin, 1985**).

2.5.3 Generalidades del Agar Baird - Parker

Por su contenido de cloruro de litio, telurito y glicocola inhiben el crecimiento de otros microorganismos, al mismo tiempo que estimula el crecimiento de estafilococos. Las colonias de *Staphylococcus aureus* producen halos claros debido a una lipólisis o proteólisis y a veces zonas opacas originadas probablemente por una lipasa o lesitinasas. La coloración negra de las colonias es debido a la reacción de telurito a telurio. La mayoría de los estafilococos coagulasa negativos que no pueden reducir el telurito son inhibidos (Mendo, 1995).

Su composición es:

Estracto de carne	5.0 g
Peptona de caseína	10.0 g
Estracto de levadura	1.0 g
Piruvato	10.0 g
Glicocola	12.0 g
Cloruro de litio	5.0 g
Agar - agar	15.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

2.6 GENERALIDADES DEL ANTIBIOGRAMA

El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la sensibilidad de una colonia bacteriana a un antibiótico o grupo de antibióticos. El antibiograma permite definir para cada antibiótico, si la bacteria es sensible (antibiótico eficaz), intermedio (antibiótico eficaz en ciertas condiciones) o resistente (antibiótico ineficaz). El antibiograma permite medir la capacidad de un antibiótico a inhibir el crecimiento bacteriano. Permite evaluar la eficacia de un antibiótico sobre una bacteria (Madigan et al., 2004).

2.6.1 Importancia del antibiograma

Todos los antibióticos no son eficaces contra todas las bacterias y el antibiograma ayuda al médico en la elección del antibiótico que hay que prescribir. Permite determinar el antibiótico más eficaz en caso de una infección bacteriana.

2.6.2 Resultados del antibiograma

Los antibióticos son sometidos a un test frente a una bacteria o un grupo de bacterias y se clasifica el efecto del antibiótico sobre estas en sensible, intermedio o resistente. Los resultados pueden variar según las técnicas utilizadas por los laboratorios. Los resultados no constituyen un diagnóstico. Es importante consultar a un médico con el fin de prever exámenes complementarios o un eventual tratamiento **(Madigan et al., 2004)**.

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

Material biológico

- Cepa de *Staphylococcus sp.*

Material de vegetal

- Fruto del árbol de jagua (*Genipa americana L*) (Figura 1 y Figura 2).

Fármacos

- Discos sensibilidad de eritromicina
- Discos de sensibilidad de amoxicilina + ácido clavulánico

Medio de cultivo

- Agar Salado Manitol.
- Agar Muelle Hinton.

Equipos y aparatos:

- Autoclave.
- Horno esterilizador.
- Balanza analítica.
- Equipo menor de cirugía.
- Mortero.
- Papel de filtro.

Materiales de vidrio:

- Placas de Petri.
- Embudo de vidrio.
- Tubos de ensayo.
- Vaso de precipitación.
- Vaguetas de vidrio.

Otros materiales:

- Guantes.
- Mascarillas.
- Cámara fotográfica.
- Bolsas de polietileno.
- Ficha de identificación.
- Papel filtro Whattman.

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1 Preparación de los extractos

La pulpa de la fruta será machacada en el mortero y se obtendrá el jugo de la fruta de jagua la cual será filtrada en papel filtro Whattman No 04, luego se prepararán, adicionando agua destilada, soluciones al 50%, 75%, 100%. Además de agregarle en uno de los indicadores la pulpa de la fruta.

3.2.2 Obtención de la cepa y aislamiento

Mediante un raspado bucal se obtendrá el estafilococo que luego se aislara de otras bacterias mediante cultivo en agar Salado Manitol.

3.2.2 Evaluación de la actividad antibacteriana

Para la evaluación de la actividad antibacteriana se utilizarán placas de Petri con medio agar Mueller Hinton, en la que se inoculará por el método de estría la cepa *Staphylococcus sp.* Se dividirá la placa de Petri en 8, en las cuales se harán 6 pequeños pocitos para que contengan aproximadamente 0.05 ml de las soluciones; en el primer pocito estará el tratamiento control donde solo se colocará agua destilada y en las tres siguientes se adicionara las soluciones del jugo de jagua al 50%, 75% y 100%, el quinto pocito se llenará con un pequeño trozo de la pulpa. Los discos de sensibilidad de eritromicina y de amoxicilina + ácido clavulánico se colocaran en los las 2 partes donde no se hicieron los pocitos. Se dejó incubando en la estufa por

aproximadamente por 24 horas para después medir los halos en cada uno de los tratamientos.

Se realizaron 08 repeticiones por tratamiento.

La actividad antibacteriana del extracto se evaluó por el método de difusión en agar Mueller Hinton y los halos de inhibición según el criterio de interpretación basados en el método de Kirby - Bauer.

CUADRO 4. CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN BASADOS EN EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER DE PRUEBAS DE SENSIBILIDAD PARA MICROORGANISMOS DE FÁCIL CRECIMIENTO

ANTIMICROBIANO	DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)		
	Resistente	Intermedio	Sensible
Amoxicilina/ácido clavulánico	≤ 19	-	≥ 20
Eritromicina	≤ 13	14 - 22	≥ 23

FUENTE: Bauer et al., 1966.

3.3 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO

Los resultados serán sometidos a análisis estadísticos descriptivos y estadística inferencial expresados como promedios, desviación estándar, y se utilizará el Diseño Completamente al Azar (DCA) con siete tratamientos y ocho repeticiones por tratamiento y se empleará la prueba de Duncan para comparar medias de cada tratamiento.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El promedio de los halos de inhibición *in vitro* de extracto en diferentes soluciones y la pulpa de Jagua (*Genipa americana L.*), eritromicina y amoxicilina más ácido clavulánico sobre el *Staphylococcus sp* son: 32,4 mm; 24,9 mm; 22,6 mm; 17,1 mm; 13,8 mm; 2,9 mm y 0 mm para los tratamientos V, VI, IV, III, II, VII y I respectivamente (CUADRO 5).

Los tratamientos V, IV, III y II tienen mayor halo de inhibición que la eritromicina sobre el *Staphylococcus sp.*, probablemente esta acción antibactericida se debe a alguno de sus componentes del fruto.

El tratamiento V tuvo mayor halo de inhibición que la amoxicilina más ácido clavulánico; por lo tanto, se deduce que la debe poseer otros componentes que tienen mayor actividad inhibitoria que la amoxicilina más ácido clavulánico.

Los tratamientos IV, III y II tienen similar halo de inhibición que la amoxicilina más ácido clavulánico sobre el *Staphylococcus sp.* entonces probablemente alguno de sus componentes del fruto tiene mayor acción bactericida sobre el *Staphylococcus sp.*

Estadísticamente, resultó altamente significativo ($\alpha = 0,01$); los promedios según la prueba de Duncan, de los tratamientos V, VI, IV, III estadísticamente tienen similar actividad inhibitoria, y los tratamientos III y II estadísticamente son similares.

En cuanto la eritromocina, que es un macrólido, que se recomienda su uso cuando las aminopenicilinas ya no tienen el efecto frente a un microorganismo; resulta extraño que este tenga un halo de inhibición casi

nulo frente a los demás tratamientos, lo que nos hace suponer que los discos de sensibilidad hayan estado viciados. Ya que es difícil de que la eritromicina, antibiótico de potente acción, no haya tenido efecto frente a la cepa de *Staphylococcus sp.* no patógena extraída de la mucosa oral.

El resultado que nos ofreció el tratamiento V (pulpa), que tuvo el mayor halo de inhibición que los demás tratamientos, fue debido que se usó una proporción mayor que las demás soluciones TII al 50%, TIII al 75% y TIV al 100%, en donde solo se usó 0.05 ml por pocito.

CUADRO 5. Promedios de halos de inhibición (mm) de los tratamientos en diferentes concentraciones y repeticiones de jagua (*Genipa americana* L.), 2014.

REPETICIONES	TRATAMIENTOS (mm)						
	TI (0%)	TH (50%)	THH (75%)	TIV (100%)	TV (PULPA)	TVI AMC	TVII E
1	0	15	22	23	32	26	0
2	0	8	19	22	32	21	0
3	0	12	12	22	29	30	0
4	0	17	20	24	32	24	11
5	0	15	16	24	30	24	0
6	0	14	17	23	41	26	0
7	0	16	15	25	35	24	12
8	0	13	16	18	28	24	0
Σ	0	110	137	181	259	199	23
X	0	13.8	17.1	22.6	32.4	24.9	2.9

AMC = Amoxicilina más ácido clavulánico; E = Eritromicina

Resultados según Duncan:

TV a
 TVI a
 TIV a
 THH a b
 TH b c
 TVII c d
 TI d

V CONCLUSIONES

- Los tratamientos al 50%, 75%, 100 % y la pulpa de jagua (*Genipa americana L.*) tienen mayor actividad antibacteriana con respecto a la cepa bacteriana de *Staphylococcus sp* que la eritromicina.
- Los tratamientos al 75%, 100 % y la pulpa de jagua (*Genipa americana L.*) tienen similar actividad antibacteriana con respecto a la cepa bacteriana de *Staphylococcus sp* que la amoxicilina más ácido clavulánico.

VI RECOMENDACIONES

- Comparar la actividad antibacteriana del Jagua (*Genipa americana L.*) frente a otros antibióticos.
- Continuar las investigaciones con el fruto de Jagua (*Genipa americana L.*) y su actividad antibacteriana frente a otros microorganismos.
- Realizar una nueva comparación del fruto de jagua para con la eritromicina.
- Comparar el fruto del jagua contra cepas clínicas.

VII REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- BARBOSA, D.**, Avaliação Fitoquímica e Farmacológica de *Genipa americana* L. (Rubiaceae). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro., Rio de Janeiro- Brasil., TESE. 2008.
- BAUER. A. W, KIRBY W.M.M, SHERRIS. J.C, TURK. M. AM. J. CL. PATHOL.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.1966.
- DE LA FUENTE R, ORDEN J.** Manual de microbiología veterinaria. 1ra ed. Madrid: Mc GrawHill. 2002.
- DEVRIESE L , VANCANNEY M , BAELE M, VANEECHOUTTE M, DE GRAEF E, SNAUWAERT C, CLEENWERCKI , DAWYNDT P, SWINGS J , DECOSTERE A, HAESBROUCK F.***Staphylococcus pseudointermedius* sp. nov., a coagulase positive species from animals. 2005.
- DOTI M. V. Fernando J.** Uso práctico de los antibióticos en la clínica de pequeños animales. Editorial Intermédica Buenos Aires.2009
- FRANCIS, J. K.***Genipa americana* L. Jagua, genipa. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 1993.
- FRANK L, KANIA S, HNILICA K, WILKES R, BEMIS D.** Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from dogs with pyoderma. 2003.
- INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONÍA PERUANA.** Evaluación de la actividad antioxidante de seis frutales amazónicos. Victor SOTERO, Luz SILVA, Claudia MERINO-ZEGARRA, Martha MACO, Ericka DÁVILA, Wacner RAMIREZ, Dora GARCÍA. 2011.
- ISENBERG H.D.** Clinical Microbiology procedures handbook. American society for microbiology. Washinton.1992

- JAWETS et al.** Microbiología Médica. 14ava. ed. Editorial Manual Moderno. 1999.
- JAWETS et al.** Microbiología Médica. 17ava. ed. Editorial Manual Moderno. 2000.
- MACFADDIN.** Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md. 1985.
- MALIK S, PENG H, BARTON M.** A review: Antibiotic resistance in staphylococci associated with cats and dogs. 2005.
- MANUAL MERCK DE VETERINARIA.** Quinta Edición en Español. 2000.
- MADIGAN MICHAEL T.; JOHN M. MARTINKO; JACK PARKER.** Biología de los microorganismos. Décima edición. Madrid España. 2004.
- MENDO RUBIO, Manuel.** Medios de Cultivo en Microbiología. Ediciones Laborales SRL. Lima - Perú. 2003.
- MURRAY PATRICK R.; Ken S. ROSENTHAL; Michael A. PFALLER.** Microbiología Médica. 6ª Edición. Esclvier – Mosby. España. 1989.
- NEWMAN, D. J.** Natural Products as Leads to Potential Drugs: An Old Process or the New Hope for Drug Discovery? J. Med. Chem. 2008.
- PÉREZ QUIROZ, Oswaldo.** Obtención de un Colorante a partir de Genipa americana y su Aplicación en Textiles. Trabajo de Investigación para optar el Título de Químico. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química. Medellín / Colombia. 2000.
- REJAS J , GONZÁLEZ J , ALONSO P.** Pioderma canina: ¿Qué antibiótico usar?. 1998.
- RENGIFO SALGADO, Elsa Liliana.** Las Ramas Floridas del Bosque: Experiencia del manejo en Plantas Medicinales Amazónicas. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONÍA PERUANA (IIAP). 2007.
- SARAVIA G, A. 2008.** Validación farmacológica de plantas medicinales de uso popular en Guatemala. Presentado en la III Conferencia Latinoamericana en las Ciencias Exactas y de la Vida «Ciencia Mujer». 2008.

- STANCHI NÉSTOR OSCAR.** Microbiología Veterinaria. 1ª Edición. Buenos Aires. Inter Médica. 2007.
- SUFFNESS, M., & CORDELL, G. A.** Antitumor alkaloids. The alkaloids: chemistry and pharmacology. 1985.
- SUMANO LOPEZ, Héctor S.** Farmacología Veterinaria. 2ª Edición. McGraw – Hill Interamericana. Mexico. 1997.
- UNITED NATIONS CONFERENCE ON TRADE AND DEVELOPMENT (UNCTAD).** MARKET BRIEF IN THE EUROPEAN UNION FOR SELECTED NATURAL INGREDIENTS DERIVED FROM NATIVE SPECIES *Genipaamericana* JAGUA, HUITO. 2005.

ANEXOS



Figura 2. Fotografía del árbol de jagua (*Genipa americana*).



Figura 3. Fotografía del fruto de jagua (*Genipa americana*).



Figura 4. Fotografía del pesado del agar.



Figura 5. Fotografía de la preparación del agar.



Figura 6. Fotografía del agar listo para ser llevado al autoclave.

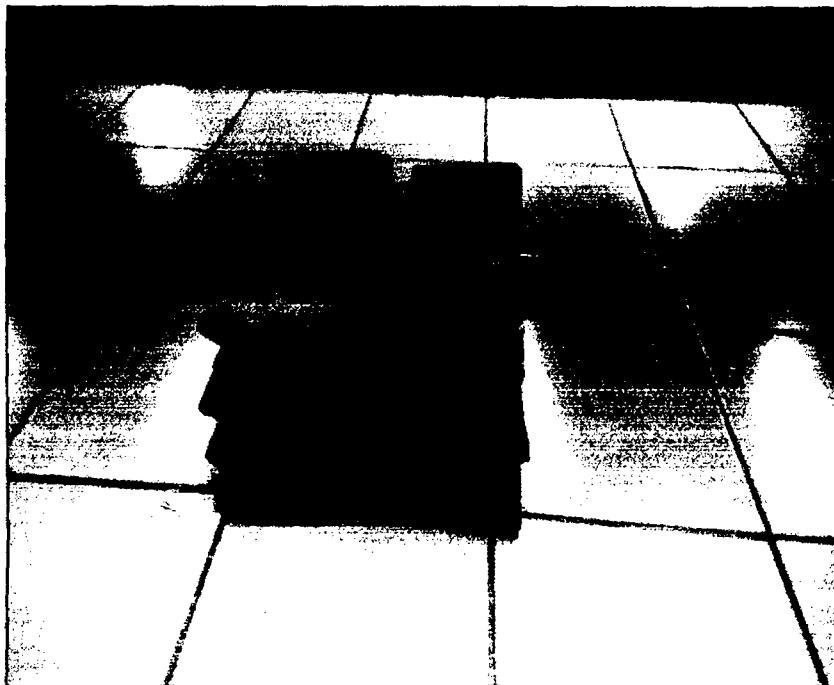


Figura 7. Fotografía de las Placa de Petri listas para su esterilización.

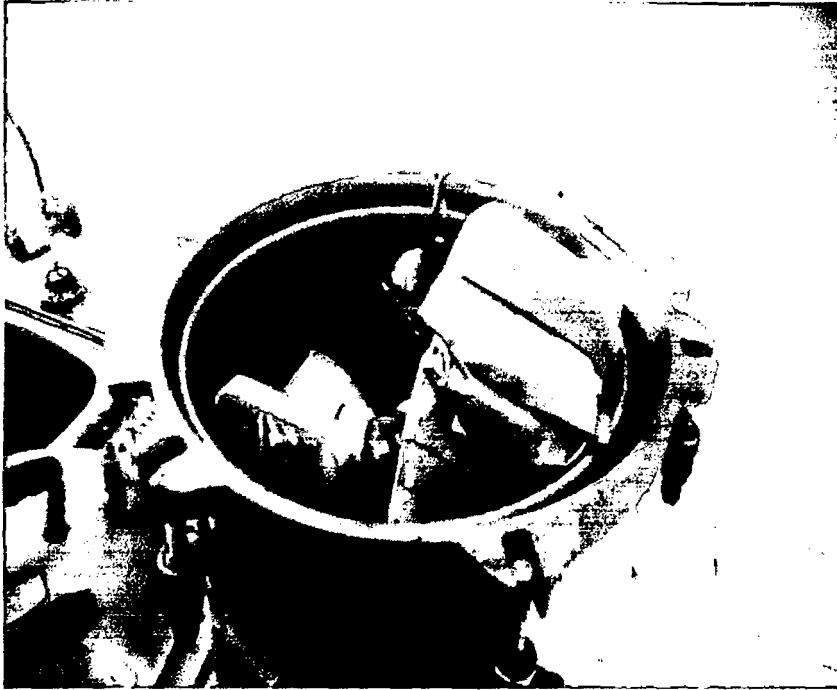


Figura 8. Fotografía de la esterilización de los materiales.



Figura 9. Fotografía de la elaboración del agar.



Figura 10. Fotografía de la siembra de *Staphylococcus sp.* en agar Salado Manitol.



Figura 11. Fotografía de la Placa Petri con agar Salado Manitol en la estufa para su incubación.



Figura 12. Fotografía para determinar si hay colonias de *Staphylococcus sp.*

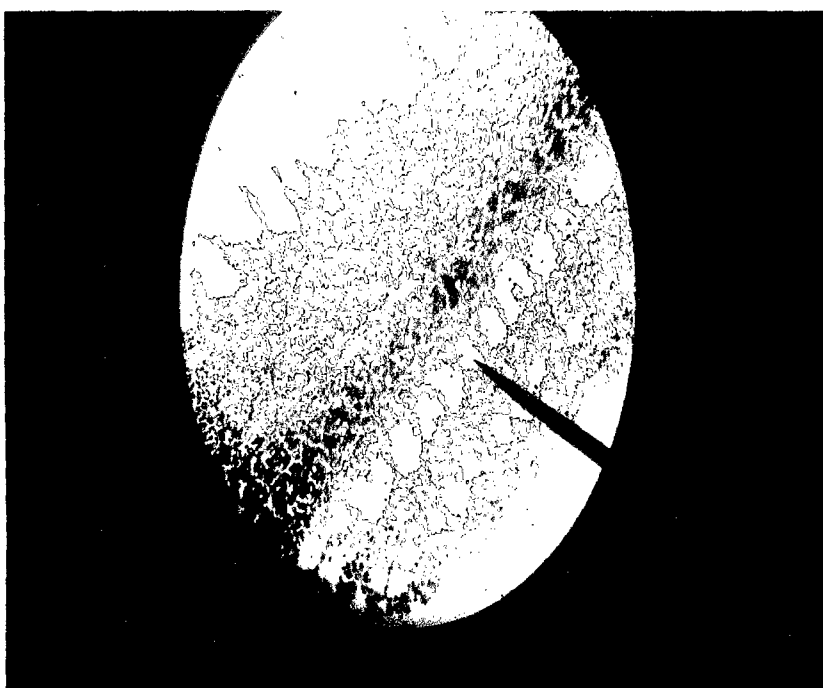


Figura 13. Fotografía de la colonia de *Staphylococcus sp.*

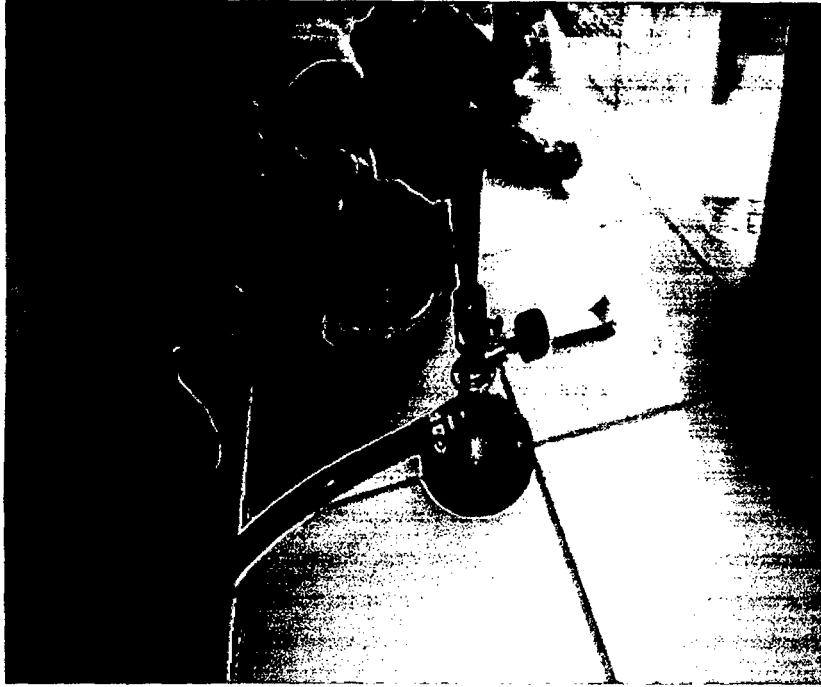


Figura 14. Fotografía del machacado del fruto de Jagua para la obtención de su fruto.



Figura 15. Fotografía de la elaboración de pocitos para la colocación del jugo del Jagua.



Figura 16. Fotografía de la siembra de *Staphylococcus* sp. en forma de estrías en las placas con agar Mueller Hinton.



Figura 17. Fotografía de la colocación de los discos de Amoxicilina + ácido clavulánico y eritromicina.

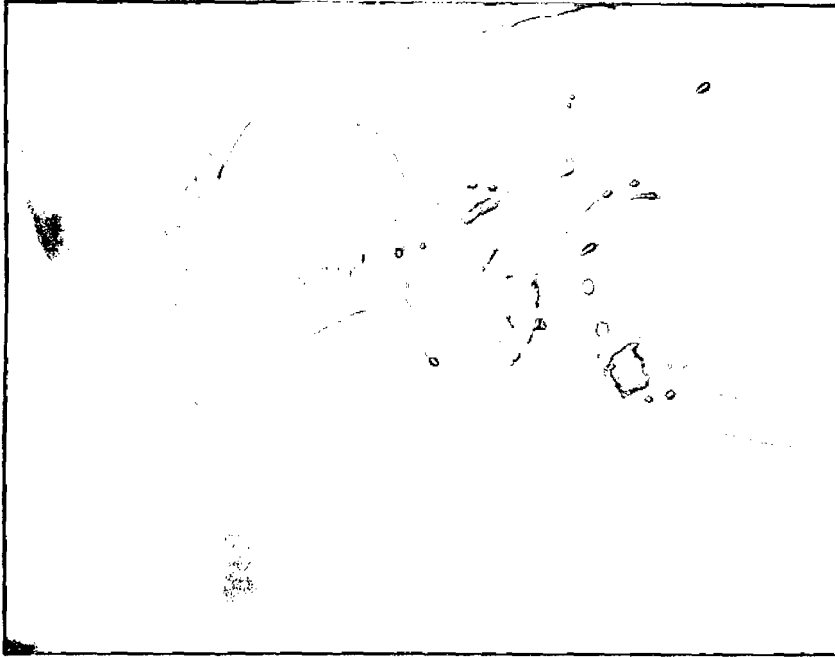


Figura 18. Fotografía de la colocación de las diferentes soluciones del jugo de Jagua.

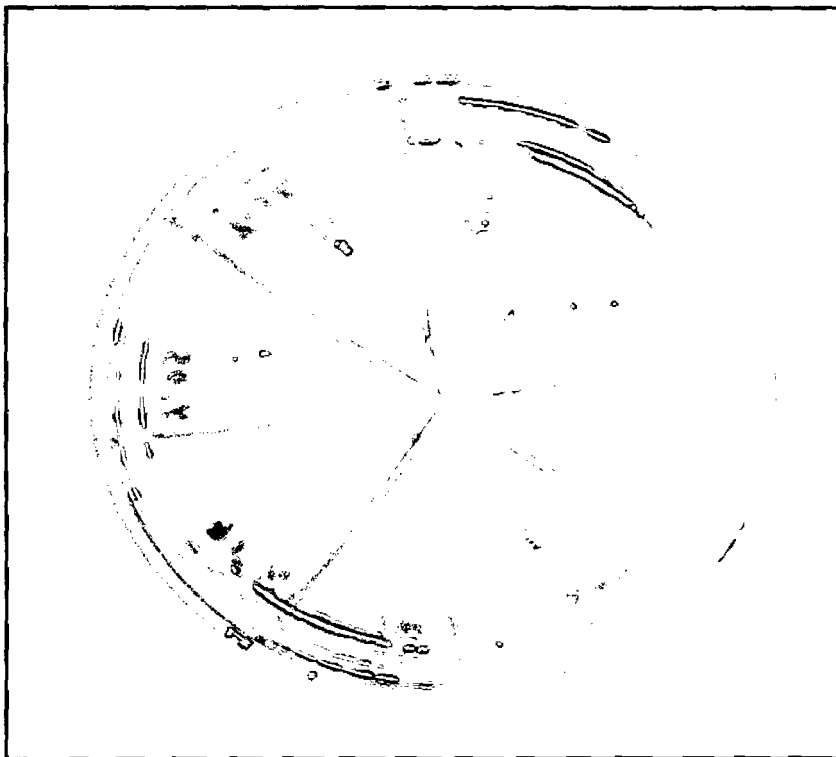


Figura 19. Fotografía de la placa Petri lista para la incubación.

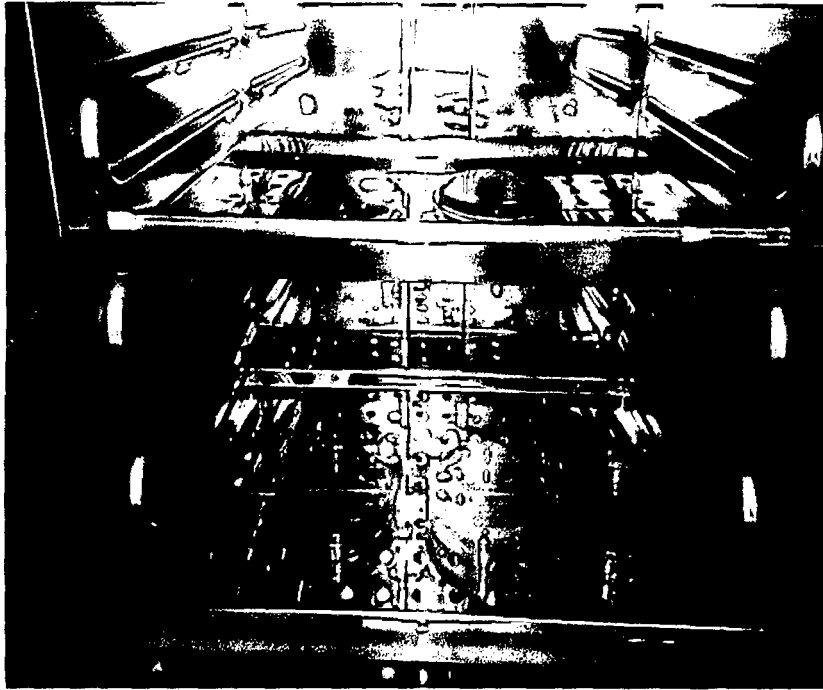


Figura 20. Fotografía de las placas en la estufa listas para la incubación por 24 horas.

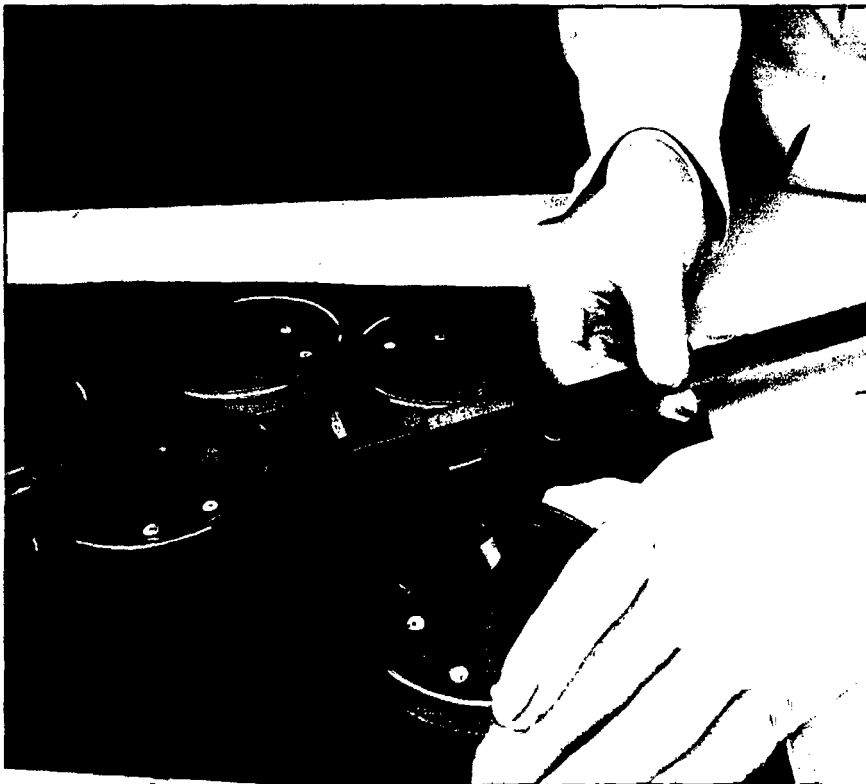


Figura 21. Fotografía de la medición de los halos de inhibición.



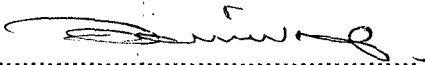
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MEDICO VETERINARIO

En la ciudad de Huánuco, Cayhuayna - distrito de Pillco Marca, a los TRECE días del mes ABRIL del 2015, siendo las 11 AM horas, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos se reunieron en el AUDITORIO, los Miembros integrantes del Jurado examinador para proceder a la Evaluación de Sustentación de la Tesis Titulada: "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO DEL JAGUA (Genipa americana L) FRENTE A Staphylococcus sp, 2014" de los participantes del PROCATP del Ciclo Académico 2014-I de los Bachilleres: Alexander, CRISOSTOMO ORTEGA; Miquerth, PEÑA ROJAS; Yoni Huilmer, OSORIO RIVERA; para OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO, estando integrado el Jurado por los siguientes docentes:


- Mg. Carlos A. PINEDA CASTILLO (PRESIDENTE)
- Mg. Rosel APAESTEQUI LIVAQUE (SECRETARIO)
- M.V. Anselmo CANCHES GONZALES (VOCAL)

Finalizado el acto de sustentación, los miembros del Jurado procedieron a la calificación, cuyo resultado fue APROBADO, con la nota de QUINCE (15), con el calificativo de: BUENO

Con lo que se dio por finalizado el proceso de Evaluación de Sustentación de Tesis. Siendo a horas 1 PM, en fe de la cual firmamos.


.....
Mg. Carlos A. PINEDA CASTILLO
PRESIDENTE


.....
Mg. Rosel APAESTEQUI LIVAQUE
SECRETARIO


.....
M.V. Anselmo CANCHES GONZALES
VOCAL