

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



“Efecto antibacteriano *In vitro* de extracto del maguey (*Agave americana*) sobre
Streptococcus spp. de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) – Abancay”

TESIS

PRESENTADA POR:

BACH. MISAEL CONDOR QUISPE

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO Y

ZOOTECNISTA

ABANCAY- PERÚ

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



TESIS

“Efecto antibacteriano *In vitro* de extracto del maguey (*Agave americana*) sobre
Streptococcus spp. de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) – Abancay”

Presentado por **BACH. MISAEL CONDOR QUISPE**, Para optar el título de:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

Sustentado y aprobado el 16 de Enero del 2019 ante el jurado:

Presidente:

MVZ. Víctor Raúl Cano Fuentes

Primer miembro:

MVZ. Juan Roberto Sonco Quispe

Segundo miembro:

Dr. Ulises Saúl Quispe Gutiérrez

Miembro accesorio:

MVZ. Valeriano Paucara Oesa

Asesor:

MVZ. Julio Iván Cruz Colque

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional Micaela Bastidas y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por la formación que me dió como Médico Veterinario y Zootecnista.

A mi hermosa familia que me apoya en cada momento.

A mi asesor MVZ. Julio Iván Cruz Colque por su apoyo, paciencia y conocimientos para la culminación de este trabajo.

A los miembros del jurado calificador por su tiempo y consejos para la correcta culminación del presente trabajo de tesis.

A Dr. Ulises Sandro Quispe Gutiérrez y al Dr. Wilson Jhon Mollocondo Flores por su motivación, aprecio, confianza y apoyo incondicional.

A mi pareja Susana Aguilar Paniura por su aprecio y apoyo incondicional.

A mis compañeros amigos que consideré como hermanos y docentes que participaron en este hecho.



Dedicatoria

A mis padres Silvestre Sabino Condor Olarte y Macedonia Quispe Poma y mis hermanas Celia, Gloria, Maribel, Haydee y Laydi Carleni por haberme apoyado siempre en los momentos difíciles a hacer este sueño realidad.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
CAPÍTULO I.....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
1.1. Descripción del problema.....	4
1.2. Enunciado del problema.....	5
1.3. Objetivos de la investigación.....	5
1.3.1. Objetivo general.....	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación de la investigación.....	5
CAPÍTULO II.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.2. Base teórica.....	12
2.2.1. Extractos de plantas naturales.....	12
2.2.2. Aceites esenciales.....	13
2.2.3. Extractos vegetales.....	13
2.2.4. Características de los extractos vegetales.....	13
2.2.5. El cuy, <i>Cavia Porcellus</i>	14
2.2.6. Linfadenitis.....	14
2.2.7. Etiología de la linfadenitis en cuyes.....	15
2.2.8. Signos y manifestaciones clínicas de la linfadenitis en cuyes.....	16
2.2.9. Patogenia y fisiopatología de la linfadenitis en cuyes.....	17
2.2.10. Diagnóstico de linfadenitis en cuyes.....	18
2.2.11. Patología clínica de la linfadenitis en cuyes.....	18
2.2.12. Epidemiología de la linfadenitis en cuyes.....	18
2.2.13. Tratamiento y control de la linfadenitis en cuyes.....	19
2.2.14. Actividad antimicrobiana de compuestos de agaves.....	19
2.2.15. Taxonomía del <i>Agave americana</i>	20



2.2.16. El <i>Agave americana</i>	21
2.2.17. Estructura morfológica del <i>Agave americana</i>	21
2.2.18. Propiedades terapéuticas del <i>Agave americana</i>	22
2.2.19. Propiedades Fotoquímicas del Agave.....	23
2.2.20. Actividad terapéutica del Agave.....	23
2.2.21. Saponinas.....	24
2.2.22. Actividad hemolítica de las saponinas.....	27
2.2.23. El género <i>Streptococo</i>	27
2.2.24. Aislamiento de los estreptococos beta hemolíticos.....	27
CAPÍTULO III.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1. Tipo y nivel de investigación.....	28
3.2. Operacionalización de variables.....	28
3.3. Hipótesis de Investigación.....	28
3.3.1. Hipótesis general.....	28
3.3.2. Hipótesis específicas.....	28
3.4. Población y muestra.....	29
3.4.1. Lugar de investigación.....	29
3.4.2. Tamaño muestral.....	29
3.5. Técnicas de investigación.....	29
3.5.1. Técnica de extracción de la solución acuosa del <i>Agave americana</i>	29
3.5.2. Preparación de la solución acuosa del maguey.....	29
3.5.3. Preparación de discos de sensibilidad.....	30
3.5.4. Técnica aislamiento del <i>Streptococcus spp</i>	30
3.5.5. Técnica de Antibiograma, difusión en Agar, Método Kirby-bauer.....	31
3.6. Procesamiento y análisis de datos.....	33
CAPÍTULO IV.....	34
RESULTADOS.....	34
CAPÍTULO V.....	43
CONCLUSIONES.....	43
RECOMENDACIONES.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	45
ANEXO.....	51



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema linfático del cuy	15
Figura 2. Fisiopatología de la linfadenitis cervical del cuy	17
Figura 3. Efecto a diferentes dosis de la solución acuosa de <i>Agave americana</i> sobre <i>Streptococcus spp.</i>	35
Figura 4. Efecto antibacteriano T1 y T4 de la solución acuosa de <i>Agave americana</i> sobre <i>Streptococcus spp.</i>	36
Figura 5. Tratamiento 2 en comparación con Grupo control	38
Figura 6. Tratamiento 3 en comparación con Grupo control	39



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Identificación del agente etiológico según edad de los cuyes muestreados	16
Cuadro 2.	Perfil de resistencia antibacteriana de aislados de Linfadenitis cervical (Ancash)	19
Cuadro 3.	Taxonomía del <i>Agave americana</i>	20
Cuadro 4.	Especies de uso medicinal	22
Cuadro 5.	Saponinas identificadas en algunas especies de <i>Agave</i> por Resonancia Magnética Nuclear	26
Cuadro 6.	El extracto de <i>Agave americana</i> tiene un efecto bactericida en Linfadenitis en (<i>Cavia porcellus</i>).....	28
Cuadro 7.	Efecto antibacteriano a diferentes dosis de extracto de <i>Agave americana</i> medida en milímetros de sensibilidad de los halos	34
Cuadro 8.	ANOVA del efecto antibacteriano a diferentes dosis T1, T2, T3 y T4	34
Cuadro 9.	Efecto antibacteriano de extracto de <i>Agave americana</i> 2 mg/mL y el grupo control, medida de los halos y sensibilidad en milímetros.....	35
Cuadro 10.	ANOVA del Efecto antibacteriano T1 y T4.....	36
Cuadro 11.	Efecto antibacteriano de extracto de <i>Agave americana</i> 5 mg/mL y el grupo control, medida de los halos y sensibilidad en milímetros.....	37
Cuadro 12.	ANOVA del efecto antibacteriano T2 y T4.....	37
Cuadro 13.	Efecto antibacteriano de la solución acuosa de <i>Agave americana</i> 7 mg/mL sobre <i>Streptococcus spp.</i> medida en milímetros.....	38
Cuadro 14.	ANOVA del Efecto antibacteriano T3 y T4.....	39

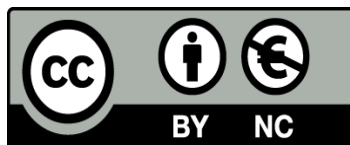


ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Efecto a diferentes dosis de la solución acuosa de <i>Agave americana</i> sobre <i>Streptococcus spp.</i> Medida del diámetro en milímetros con sus respectivas repeticiones.	51
Anexo 2. Efecto a T1 = 2 mg/ mL de la solución acuosa de <i>Agave americana</i> sobre <i>Streptococcus spp.</i> medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.	51
Anexo 3. Diferencia del T1= 2mg/mL. y el grupo control T= 4 (10 ug. de Penicilina).....	52
Anexo 4. Efecto de la solución acuosa de <i>Agave americana</i> T2 = 5mg/mL sobre <i>Streptococcus spp.</i> medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.....	52
Anexo 5. Diferencia del T2 = 5 mg/mL y el T4 grupo control 10 ug de Penicilina.....	53
Anexo 6. Efecto de la solución acuosa de <i>Agave americana</i> T3 = 7 mg/mL sobre <i>Streptococcus spp.</i> medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.....	53
Anexo 7. Efecto antibacteriano de T4 grupo control, 10 ug de Penicilina sobre <i>Streptococcus spp.</i> medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.	54
Anexo 8. Recolección de las hojas de <i>Agave americano</i>	54
Anexo 9. Preparación de extracto, triturado de la hoja y secado en estufa del <i>Agave americano</i>	55
Anexo 10. Preparación de solución acuosa.....	55
Anexo 11. Filtración para separarla solución del soluto.	55
Anexo 12. Obtención de dosis de 2mg 5mg 7mg en tubos de ensayo.	56
Anexo 13. Obtención de <i>Streptococos spp.</i> in vitro de cuy vivo infectado.	56
Anexo 14. Cultivo en caldo nutritivo.	57
Anexo 15. Aislamiento de <i>Streptococos spp.</i> en Agar Sangre.....	57
Anexo 16. <i>Streptococos spp.</i>	57
Anexo 17. Cultivo de <i>Streptococos spp.</i> en Agar Mueller Hinton.	58
Anexo 18. Exposición del extracto empapado en disco de sensibilidad de elaboración propia.....	58
Anexo 19. Resultado final.....	58

**“Efecto antibacteriano *In vitro* de extracto del maguey (*Agave americana*) sobre
Streptococcus spp. de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) – Abancay”**

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



INTRODUCCIÓN

La emergencia de cepas bacterianas es uno de los temas que más preocupa a la comunidad científica en Medicina Humana y Veterinaria, constituye actualmente un problema creciente de salud pública a nivel mundial (OMS, 2001). El cuy (*Cavia porcellus*), representa un recurso económico muy importante para el poblador alto andino, es una especie precoz, fértil que se adapta con facilidad a diferentes ecosistemas pero presenta una mortalidad de 15%, 6% y 4% en lactantes, en crecimiento y reproductores debido a enfermedades virales, bacterianas, parasitarias, micóticas y otros los cuales se vienen identificando (Silva, 2013). Una de las principales causas de mortalidad y elevada morbilidad es la linfadenitis con abscesos subcutáneos cervicales cuyos agentes etiológicos aún se desconocen pero se atribuyen al *Streptococcus pyogenes* (Molina, 2012). *Streptococcus zooepidemicus* y otros aún están sin identificar (Concha, 2014). El *Streptobacillus moniliformis* que ha sido detectado en las últimas décadas en colonias de ratones, ratas y cobayos (Nicklas *et al.*, 2002). Para su tratamiento, muchos de los antibióticos pueden ser tóxicos para cuyes (Farrar *et al.*, 1966). Este efecto puede ser directo como en el caso de la estreptomina, o indirecto como con la penicilina. Esta toxicidad de los antibióticos alteran la mayor parte de la microbiota intestinal causando desequilibrio en la ecología microbiana del sistema digestivo disminuyendo su autoinmunidad y ocasionando destrucción de la mucosa intestinal, produciendo en algunos casos bacteriemia, enterotoxemia y muerte del animal a la vez que presentan efectos colaterales adversos para el medio ambiente, incluso permiten el crecimiento excesivo de Gram negativos y en cuatro a nueve días pueden morir, el tratamiento con antibióticos deben realizarse sólo con un asesoramiento de expertos (Harkness & Wagner, 1983). La resistencia a los antibacterianos por el abuso de la quimioterapia tradicional se traduce en ineficacia de los tratamientos generando un importante impacto en la salud y en la producción animal adicionalmente se seleccionan bacterias multi-resistentes de procedencia animal que se pueden transmitir de una especie a otra incluso a la población humana (San Martín *et al.*, 2005). En respuesta a la necesidad de conseguir alternativas eficaces para el control de las infecciones bacterianas se ha recurrido a la fitoquímica y fitofarmacológica de extractos naturales logrando encontrar nuevas alternativas para el tratamiento de estas afecciones (Ávila *et al.*, 2006).

El Maguey, también conocidos por los antiguos habitantes del Perú por sus propiedades antibacterianas naturales (Pino, 2006). En algunas regiones del Perú en zonas rurales de Huancavelica, Huánuco, Ayacucho, Apurímac y Cajamarca se encuentra el maguey o cabuya azul que pertenece a la familia Agavácea, género *Agave* y especie *Agave americana*, abunda en forma silvestre (Lavado, 2015). Las hojas del extracto del *A. americana* contiene principalmente: flavonoides, cumarinas, flavanona, hecogenina, kammogenina, saponinas esteroideas, tetratriacontanol y homoisoflavonoides a la cual se atribuye sus propiedades farmacológicas (Krishnaveni, 2017) y (Misra, 2018).



RESUMEN

El extracto acuoso de *Agave americana* es una alternativa como tratamiento natural para la linfadenitis cervical en cuyes de nuestra región. El objetivo del presente trabajo fue evaluar *in vitro* el efecto de diferentes tratamientos: T1 (2 mg/mL), T2 (5mg/mL) y T3 (7mg/mL), T4 (Penicilina 10 ug disco de sensibilidad como control) de solución acuosa de extracto del maguey (*Agave americana*) sobre *Streptococcus spp.* obtenido de linfadenitis cervical en *Cavia porcellus*. El trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, se recolectó hojas de maguey del sector de Taraccasa con fines de preparar el extracto, se utilizaron 10 cuyes con linfadenitis cervical de diferentes lugares de la provincia de Abancay. Para el aislamiento del *Streptococcus spp.* se preparó Agar sangre y Agar Muller Hinton para la prueba de difusión con el método de (Kirby Bauer) en base a discos de sensibilidad con solución acuosa del extracto de *Agave americana* en diferentes dosis. Se cultivó en estufa a 37 grados por 24 horas. Se encontró la efectividad antimicrobiana en promedio de diámetro de sensibilidad T4 (18.6 mm), T3 (14.4 mm), T2 (10.4 mm) y T1 (6.4 mm) con una diferencia significativa $p \leq 0.05$ determinado por ANOVA y comprobado con la prueba de Tukey. Se concluye que el mejor efecto antibacteriano *in vitro* fue con el T3 con 7 mg/mL para el *Streptococcus spp.* causada por linfadenitis cervical en cuyes.

Palabras claves: extracto acuoso, *Agave americana*, cuyes, *Streptococcus spp.*, *in vitro*.



ABSTRACT

Agave americana aqueous extract is an alternative as a natural treatment for cervical lymphadenitis in *Cavia porcellus* in Apurimac Region. The objective of this research was to evaluate *in vitro* the effect of different treatments: T1 (2 mg/mL), T2 (5mg/mL) and T3 (7mg/mL), T4 (Control Penicillin 10 ug). Susceptibility test discs from Maguey extract aqueous solution *Agave americana* on *Streptococcus spp.* obtained from *Cavia* cervical lymphadenitis. The research was done at microbiology laboratory Veterinary Medicine Faculty at UNAMBA University. Maguey leaves were collected from Taraccasa area to prepare the extract. Ten animals with cervical lymphadenitis were used from different places from Abancay. Blood agar was prepared to isolate *Streptococcus spp.* and Muller Hinton Agar for the Kirby- Bauer agar diffusion test based on susceptibility discs *Agave americana* extract aqueous solution in different doses. It was cultured at 37 Celsius degrees for 24 hours. The antimicrobial effectiveness on susceptibility test disc diameter average were found: T4 (18.60 mm), T3 (14.40 mm), T2 (10.40 mm) and T1 (6.40 mm) with a significant difference $p \leq 0.05$ determined by ANOVA and verified with Tukey test. As a conclusion, the best antibacterial effect *in vitro* was with T3 with 7 mg/mL against *Streptococcus spp.* which is the agent of cervical lymphadenitis in *Cavia Porcellus*.

Keywords: aqueous extract, *Agave americana*, *Cavia porcellus*, *Streptococcus spp.*, *in vitro*.



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción del problema

La producción de cobayos es una actividad que cobra más importancia en nuestro país debido al aumento de la demanda de carne de esta especie en el mercado nacional e internacional. Estos animales se crían en las pozas de reproducción, en las que se colocan 10 hembras más un macho en cada poza. La gestación dura 67 días. Se considera de 2-3 crías por parto y 4-5 partos por año, con una fertilidad del 90%, la mortalidad promedio es del 15%, 6% y 4% para lactantes, crecimiento y reproductores (silva, 2013). Los agentes etiológicos de la linfadenitis de abscesos subcutáneos en cuyes son: *Streptococcus zooepidemicus* con 90.5%, *Salmonella thyphimurium* con 2%, *Salmonella enteritidis* con 2%, *Staphylococcus aureus* con 2%, *Micrococcus* con 2% en la Asociación COPRA – Majes 2013 (Concha, 2014). *Streptobacillus moniliformis* ha sido detectada en las últimas décadas en colonias de ratones, ratas y cobayos (Nicklas *et al.*, 2002). También causada por *Streptococcus pyogenes*, que produce gran aumento de tamaño de los linfonódulos cervicales anatomía patológica. Localización del germen en el tejido linfoide de la laringe y abscesos en linfonódulos cervicales. Puede producirse sinusitis, otitis y descender a las vías respiratorias ocasionando bronquitis y neumonía intersticial (Molina, 2012). El período de incubación es de 3 a 5 días. Los síntomas son linfadenitis en ganglios cervicales, con supuración, adelgazamiento y caquexia. La incidencia de la enfermedad es poco frecuente, de curso crónico, la mayoría de los animales resultan portadores. El diagnóstico es microscópico y mediante cultivos apropiados de muestras de pus de los ganglios o de exudado faríngeo (Saiz *et al.*, 1983).

Tratamiento con penicilina más dihidroestreptomicina (Molina, 2012), pero muchos de los antibióticos de uso común en los animales colonias han demostrado ser tóxico para los cuyes. (Farrar *et al.*, 1966). Este efecto puede ser uno directo como en el caso de estreptomicina, o indirecto como la penicilina. Indirectos resultados de toxicidad antibiótico de drogas matar la mayor parte de la flora intestinal predominantemente Gram positivos, permitiendo el crecimiento excesivo de organismos Gram negativas. La destrucción de la mucosa intestinal, bacteriemia, enterotoxemia y la muerte resultado de cuatro a nueve días después la administración del antibiótico. La penicilina no causa muertes en germen conejillos de indias libres (Harkness & Wagner, 1983). Es por esta razón que se pretende determinar la actividad antibacteriana *in vitro* con solución acuosa de extracto de *Agave americana* a diferentes dosis sobre *Streptococcus spp.* obtenido de linfadenitis en *Cavia porcellus* que será una alternativa natural y ecológica para el tratamiento, control y prevención de esta enfermedad.



1.2. Enunciado del problema

¿Cuál es el efecto de los diferentes dosis de solución acuosa de extracto del maguey (*Agave americana*) en *Streptococos spp.* sobre linfadenitis *in vitro* en cuyes (*Cavia porcellus*)?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes niveles de solución acuosa de extracto del maguey (*Agave americana*) sobre (*Streptococcus spp.*) aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*) - Abancay.

1.3.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de diferentes niveles de solución acuosa de extracto del maguey (*Agave americana*) a 2 mg/mL sobre *Streptococos spp.* aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*) - Abancay.
- Evaluar el efecto de diferentes niveles de solución acuosa de extracto del maguey (*Agave americana*) a 5 mg/mL sobre *Streptococos spp.* aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*) - Abancay.
- Evaluar el efecto de diferentes niveles de solución acuosa de extracto del maguey (*Agave americana*) a 7 mg/mL sobre *Streptococos spp.* aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*) - Abancay.

1.4. Justificación de la investigación

Agave americana L. sus. americana var expansa (Asparagaceae) conocida comúnmente como cabuya, maguey, cabuya azul o penca azul, es una planta grande con hojas en roseta, conocida por los antiguos habitantes del Perú (Pino, 2006). El *A. americana* tiene espléndidas hojas verde - grises, espinosas a lo largo de los márgenes y terminantes con un gran aguijón. Es una planta que crece rápidamente alcanzando la madurez en pocos años. Es el *Agave* más difuso y conocido en todo el mundo de las zonas caliente-templadas en cuánto el más tolerante, entre las muchas especies y por la capacidad de también crecer en maceta (Ambuludi, 2012). Es importante porque es una alternativa a la antibioticoterapia y no se encontró antecedentes de investigación similares a nivel local, que hayan pretendido obtener y procesar el extracto de la hoja de maguey (*Agave americana*) en diferentes concentraciones y comprobar su actividad antimicrobiana *in vitro* en Infección por *Streptococcus spp.* (Linfadenitis cervical) ya que la Linfadenitis es una enfermedad muy prevalente en nuestra zona y produce grandes pérdidas económicas en los productores de cuyes. Por esta razón, pretendo saber el efecto antibacteriana *in vitro* de extracto del maguey (*Agave americano*) sobre *Streptococos spp.* obtenido de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*).



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

El trabajo de investigación se evaluó las propiedades medicinales del *A. americana* y se encontró que las hojas tenían varias propiedades farmacológicas debido a sus diversos constituyentes. Las hojas del extracto contienen principalmente: flavonoides, cumarinas, flavanona, hecogenina, kammogenina, saponinas esteroideas, tetratriacontanol y homoisoflavonoides. Se observó su actividad antiinflamatoria de una manera dependiente de la dosis en el modelo inflamatorio agudo (edema de la pata trasera inducida por carragenina), así como en modelos experimentales inflamatorios subagudos (modelo de granuloma inducido por pellets de algodón). La actividad antiinflamatoria se debe a sus constituyentes, flavonoides y geninas que disminuyen los mediadores químicos de la inflamación. El extracto de hojas de *A. americana* en dosis graduadas demostró poseer un efecto antiinflamatorio significativo en animales experimentales en este estudio. Las actividades antiinflamatorias pueden atribuirse a los flavonoides y geninas. Se puede concluir que para una mejor comprensión del mecanismo de los efectos antiinflamatorios, se pueden usar dosis más altas de hojas de *A. americana* para estudios adicionales. Por lo tanto, las hojas de *A. americana* deben explorarse de manera intensiva para que puedan usarse para tratar diversos trastornos (Misra, 2018).

En otro trabajo de investigación se encontró que el *Agave americana* es uno de los recursos naturales más importantes que se encuentran disponibles en la zona tropical. Las zonas con varias propiedades antisépticas, contiene saponinas útiles para uso médico y de importancia farmacológica, basados en trabajos anteriores en hojas del *Agave americana* que fueron recolectadas y extraídas por el método de extracción de soxhlet. El extracto fue evaluado por determinación fitoquímica - cualitativa, los resultados de la prueba revelaron la presencia de componentes fotoquímicos como: proteínas, esteroides, alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos. La propiedad antibacteriana del extracto de *Agave* se probó usando Pruebas estándar AATCC 147 cualitativas y AATCC 100 cuantitativas contra ambas bacterias Gram positivas patógenas como *Staphylococcus aureus* y Gram negativas como *Klebsiella neumonía*. Se evaluaron: *Pseudomonas auruginosa*, *Escherichia coli* el resultado de la prueba muestra que el extracto de hojas de *Agave americana* tiene buena actividad antibacteriana contra las bacterias Gram negativas y Gram positivas (Krishnaveni, 2017).



También se investigaron las saponinas esteroidales presentes en los agaves, estos son metabolitos secundarios involucrados en los mecanismos de defensa de las plantas contra el ataque de hongos, bacterias, levaduras y algunos insectos. En los procesos de fermentación las saponinas inhiben el crecimiento de microorganismos, bacterias y levaduras, ocasionando una reducción en los rendimientos de producción. Estos mecanismos de inhibición no están del todo entendidos, sólo algunos estudios se han realizado con los esteroides de la membrana celular. Además existe poca información acerca del efecto de las saponinas en los polisacáridos de la pared celular y los fosfolípidos de la membrana celular de las levaduras. Por lo tanto, el principal objetivo del presente trabajo fue caracterizar las saponinas de *Agave durangensis*, *A. americana* y *Agave salmiana ssp. crassispina* y estudiar su efecto en la pared y la membrana celular de las bacterias y levaduras fermentativas como *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* y bacterias Gram positivas y Gram negativas aisladas de procesos inflamatorios y de fermentación se identificó la presencia de tres tipos de saponinas en *Agave durangensis*, *A. americana* y una más en *Agave salmiana ssp. crassispina*, que se han reportado en otras especies de Agave. Además, en el extracto de *A. salmiana* y *A. americana* se identificaron dos agliconas (manogenina y gentrogenina) de carácter esteroide unidas a una serie de cadenas de azúcares que posiblemente puedan ser dos nuevas estructuras de saponinas que no se han reportadas hasta el momento. Este estudio se desarrolló en cultivos batch y continuo adicionando diferentes concentraciones (0.75, 1.5 y 3 mg/mL) de extracto de saponinas de *Agave durangensis*, *A. americana*, *Agave salmiana ssp. crassispina*. Se observó que la composición de la pared celular muestra cambios específicamente en la relación glucanos/mananos, que fueron confirmadas con imágenes de microscopía de ambas especies de levadura y también que los fosfolípidos de membrana celular se ven afectados con la reducción de las cadenas de acilo y la insaturación de las mismas, cuando interactúan con los extractos de saponinas de ambas especies de Agave. Finalmente, se observó una mayor resistencia al efecto inhibitorio de las saponinas por parte de *K. marxianus* ya que esta presentó actividad saponinasa, capaz de hidrolizar las saponinas en ambos extractos (Alcázar, 2016).



En este se determinó la eficacia *in vitro* del *Myrtus communis* “El árbol del Arrayán” obtenidos mediante proceso acuoso y oleoso sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis*. Se evaluó la concentración mínima bactericida para cada extracto, y la actividad antibacteriana mediante conteo de halos de inhibición, usando como control positivo la clorhexidina al 0.12% y como control negativo agua destilada. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la prueba de ANOVA que estimó una significancia de $p=0$ se encontró que todos los grupos eran diferentes entre sí, siendo el extracto oleoso el que presentó mejores resultados en comparación con la clorhexidina y el extracto acuoso. El extracto oleoso de arrayán fue eficaz sobre las cepas evaluadas se evaluaron a través de la medición de halos de inhibición la capacidad de tres soluciones, el extracto oleoso de arrayán a una concentración de 3.125% para *Streptococcus sanguis* y 6.25% para *Streptococcus mutans*, clorhexidina al 0.12% y agua destilada, determinándose que los diámetros de los halos para *Streptococcus mutans* son menores a los obtenidos en *Streptococcus sanguis*. Para el extracto oleoso de arrayán frente a *Streptococcus sanguis* se registró un valor medio del halo de inhibición de 22.5 mm, muy superior a los obtenidos con la clorhexidina que fue de 13.3 mm y obviamente mejor que el control negativo, en el que no se registró halo de inhibición. Para el extracto oleoso de arrayán frente a *Streptococcus mutans* se registró un valor medio del halo de inhibición de 17 mm muy superior a los obtenidos con la clorhexidina que fue de 13.4 mm y mejor que el control negativo en el que no se registró halo de inhibición, se realizó la valoración del nivel de sensibilidad frente a *Streptococcus sanguis*, determinándose que 73.3% de las muestras con extracto oleoso de arrayán fueron sumamente sensibles con un halo mayor a 20 mm, en tanto que la clorhexidina presentó un 93.3% de muestras con sensibilidad al límite con un halo entre 8 y 14 mm y apenas 6.7% de sensibilidad media (Galarza, 2016).

En otro trabajo de investigación con el objetivo de evaluar los detalles fitoconstituyentes y la potencialidad de efecto antimicrobiano de los extractos de hojas de *Agave americana L.* (AA), se extrajo con diversos disolventes: Éter de petróleo, cloroformo, metanol y agua. Preliminares estudios revelaron la presencia de saponinas esteroides junto con proteínas, aminoácidos y otros aceites esenciales. La presencia de actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis* NCIM 2439, *Staphylococcus aureus* NCIM 2079) y dos organismos Gram negativos (*Escherichia coli* NCIM 2065, *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 2200) se llevó a cabo para todos los extractos, utilizando nutrientes método de placa de agar y en comparación con cloranfenicol estándar (100 mg/mL). Según el valor del MBC (Middle East Broadcasting Center) compañía de radiodifusión, se seleccionaron las concentraciones para el estudio. El extracto metanólico mostró mejor actividad en rangos de concentración de 50 a 202 mg/mL, que otros extractos pero la actividad fue menor que la de la serie. A partir de entonces, el extracto metanólico se sometió a fraccionamiento y por cromatografía en columna para aislar nuevos compuestos de la precipitación purificada de n-butanol, fracción que



confirmó la actividad antimicrobiana, debido a la presencia de saponina, es decir, (25R) 3 beta, 6 alfa-dihidroxi-5-alfa-Spirostan12 un 3,6 di-O-beta-D-glucopiranosido que fue apoyada por HPLC, NMR, IR estudio MASS (Babu *et al.*, 2015).

En otro trabajo se evaluó el potencial antibacterial *in vitro* de *Croton lechleri* “Sangre de Drago” en pacientes con úlceras cutáneas se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* con pruebas de difusión en disco, dilución en agar y difusión en pozo, usando como sustratos el extracto etanólico y de éter de petróleo de *Croton lechleri* se obtuvieron siete aislamientos bacterianos a partir de las úlceras cutáneas de pacientes del sanatorio. En los ensayos de sensibilidad antimicrobiana *in vitro*, se evidenció que los extractos de *Croton lechleri* fueron efectivos frente a la mayoría de aislamientos bacterianos del estudio, siendo el extracto etanólico el de mayor potencial antibacterial y la técnica de difusión en pozo la que presentó mejor sensibilidad y reproducibilidad. Se encontró que en el extracto etanólico de *Croton lechleri*: a) Dilución 1:1 12.50 mm para *Streptococcus agalactiae*, 15 mm para *Streptococcus uberis*, 14 mm para *Streptococcus Sanguis* y 14.50 *Staphylococcus aureus* b) Dilución 1:2 se encontró 11 mm *S. agalactiae*, 13.50 para *S. uberis*, 13 mm para *S. sanguis*. 11.50 para *S. aureus*. c) Dilución 1:4 10 mm *S. agalactiae*, 11 mm *S. uberis*, 11 mm *S. sanguis*, 11 *S. aureus* (Corrales, 2013).

En otro trabajo de investigación se determinó la efectividad de cuatro soluciones de propóleo (50 mg, 75 mg, 100 mg y 125 mg) en el tratamiento de mastitis bovina teniendo como control la Penicilina + Kanamicina. Se utilizó la prueba de difusión simple en placa en agar Muller Hinton para medir la susceptibilidad bacteriana y se encontró: Para el *Staphylococcus aureus* 6 mm de diámetro de halo para propóleo 50 y 75 mg, 10 mm de diámetro para 100 mg, 13.67 mm de diámetro para 125 mg; 18 mm para solución madre de propóleo 250 mg y 26 mm control con penicilina. Para *Streptococcus agalactiae* 6 mm de halo de diámetro para solución de propóleo a 50, 75, 10 y 125 mg, la solución madre de propóleo a 250 tuvo 10 mm de diámetro y el control con penicilina fue de 30 mm de diámetro (Ochoa, 2012)

Se determinó las propiedades antibacterianas de cuatro especies vegetales, en la ciudad de Tunja (Boyacá). Se prepararon extractos etanólicos, a partir de las hojas secas de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*, los cuales, fueron sometidos a un análisis microbiológico *in vitro*, para establecer su actividad antibacteriana y sus concentraciones mínimas inhibitoria y bactericida, en respuesta a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las actividades, se compararon con un fármaco estándar, cloranfenicol o gentamicina. Se encontró un promedio de 10.66 mm de halo de sensibilidad con extracto de *Lantana camara* y 10.33 mm para extracto de *Schinus molle* sobre bacterias Gram positivas *S. aureus* con valores de 13, 9, 10 mm así como un promedio de 17.66 con



valores de 20, 15, y 18 mm para el extracto de *Bidens pilosa* como efecto antibacteriano sobre *S. aureus*. Los extractos mostraron actividad contra *S. aureus*; la que exhibió la mejor actividad fue *B. pilosa* y *L. camara*, *S. molle* y *S. marianum* manifestaron capacidad moderada para inhibir el crecimiento de *S. aureus*. Este estudio demuestra que las plantas seleccionadas tienen actividad antibacteriana frente a *S. aureus* (Cruz, 2010).

En otro trabajo de investigación se estudió la actividad antimicrobiana *in vitro* contra bacterias patógenas, levaduras y mohos que fueron examinados en extractos de *A. americana*, *A. lecheguilla*, *A. picta*, *A. scabra* y *A. lophanta* utilizando la técnica de difusión en agar. Los extractos de *A. picta* y *A americana* producen zonas de inhibición de 9 a 13 mm para *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. piogenes*, *S. aureus*, y *V. cholerae*, mientras que *B. cereus* y *Y. enterocolitica* no fueron inhibidos. En el caso de los mohos la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los extractos activos variaron desde 3 hasta 6 mg/mL juntos, estos datos sugieren que los agaves son posibles candidatos antimicrobianos con una amplia gama de actividades sin embargo otras especies no mostraron mayor actividad los *Agave sp.* fueron inhibitorias contra todas levaduras, mohos y bacterias con 9 a 20 mm zonas de inhibición. La concentración microbicida mínimo (MMC) del extracto activo osciló desde 1.8 hasta 7 mg/mL para las bacterias sensibles, y de 2.0 a 3.0 mg/mL para bacterias no sensibles (De los Angeles & Verastegui, 2008).

El presente trabajo se realizó con el fin de observar y determinar el efecto antimicrobiano de extractos etanólicos vegetales y aceite esencial obtenidos a partir de 4 especies *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y un hongo fitopatógeno *Alternaria sp.* Para la obtención de los extractos etanólicos se utilizó el material vegetal seco previamente triturado, el cual fue macerado en frío utilizando como solvente etanol durante 48 horas, se realizó reflujo con etanol-agua para su posterior concentración a presión reducida. Luego de obtener los extractos a evaluar se midió la actividad antimicrobiana utilizando la técnica de difusión de disco en agar de Kirby-Bauer, prueba que permitió medir la susceptibilidad *in vitro* de los microorganismos patógenos y fitopatógenos seleccionados frente a sustancias de origen natural con potencial antimicrobiano, utilizando 300 µg. de extracto obtenido por especie vegetal, utilizando de igual manera como control positivo 10 µg. de cloramfenicol y agua estéril como control negativo. Al analizar los resultados de los diferentes ensayos se observó que el extracto etanólico de *Passiflora manicata* presentó mayor actividad antimicrobiana frente a *E.coli*, *Candida albicans* y *B. subtilis*, demostrando que la fase acuosa fue la de mayor efecto inhibitorio frente a todos los microorganismos evaluados. En este trabajo se concluyó que *Passiflora manicata* fue el extracto etanólico que presentó mayor acción frente a todos los



microorganismos, permitiendo realizar el fraccionamiento con los diferentes solventes identificando a la fase acuosa como la responsable del principio activo con potencial antimicrobiano; cabe anotar que para dar continuidad a futuras investigaciones en torno a la potencialidad antimicrobiana de la especie es necesario el aislamiento y la elucidación de la molécula capaz de inhibir a los microorganismo seleccionados (Lizcano, 2008).

Se evaluaron el método de Kirby-Bauer y de pozos en agar modificado y para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos acetónico, acuoso y etanólico de *Spilantes americana* a cuatro concentraciones (0; 0.08; 5 y 20 mg/mL). Los microorganismos de trabajo fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 25619), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Streptococcus y hemolitico* (ATCC 10389), y *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 2601). Se encontró 7 mm a 1.25 ug, 12 mm a 10 ug, 25 mm a 80 ug para Streptococco y hemolítico, la concentración más alta, (3.2 mg/mL) halos de inhibición de 21 - 29 mm para el método Kirby-Bauer. El extracto acetónico mostró mayor actividad, seguido del etanólico y por último del acuoso. La mayor sensibilidad se observó en microorganismos Gram positivos (*S. hemolítico* y *S. aureus*) expuestos a la fracción acetónica (diámetros de inhibición de 7-28 mm). Además, el microorganismo más sensible en el extracto etanólico fue el *S. aureus* (diámetros de inhibición de 7 a 25 mm), el extracto acuoso mostró en *S. hemolítico* actividad muy leve (diámetros de inhibición de 6-10 mm). Los diámetros de inhibición al aplicar el método Kirby-Bauer fueron ligeramente menores a los del método modificado de pozos en agar para los subgrupos *S. aureus*, *S. hemolítico*, *E. coli* y *S. cerevisiae* (extractos acetónicos y etanólicos) y *S. hemolítico* (extracto acuoso). Estos resultados mostraron una fuerte correlación entre los dos métodos (Valor $p < 0.01$). Además, el método de pozos fue mucho más sensible ($\alpha = 0.05$) que el método Kirby-Bauer para determinar actividad antimicrobiana (Rojas, 2004).

En otro trabajo de investigación realizado sobre actividad antimicrobiana como nuevas opciones terapéuticas con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos provenientes de la familia Agaváceae así como determinar la concentración mínima inhibitoria del crecimiento, evaluar su efecto en procesos metabólicos de bacterias, *Candida albicans* y separar el metabolito activo e identificar el compuesto responsable de la inhibición microbiana. Se seleccionó a la familia Agaváceae por su gran adaptabilidad ecológica y por ende su gran abundancia. Las cuatro especies seleccionadas crecen en la región noreste de México. Se probó la actividad antimicrobiana de los extractos de *Agave lecheguilla* Ton, *A. cabra*, *A. lophanta*, y *A. americana* sobre 15 especies microbianas 09 bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*, 06 fúngicas *Criptococcus neoformans*, *Microsporium canis*, *Microsporium*



gypsum, *Trichophyton tonsurans*, *Sporothrix schenckii*, *Vibrio cholerae*, y en el cual los hongos mostraron mayor sensibilidad que las especies bacterianas (De los Angeles & Verastegui, 2000).

En otro estudio los extractos acuosos liofilizados obtenidos de *Agave americana* (Agaváceae) recolectadas en el norte de Sardinia Italia fueron caracterizados con respecto a su contenido de sapogenina esteroidal. Los extractos de *A. americana* fueron aislados y evaluados por sus propiedades antiinflamatorias al probar sus efectos sobre edema. El efecto vía oral e intra peritoneal administrado en las membranas mucosas gástricas fueron evaluados a 200 y 300 mg/kg de inicio de planta fresca que mostró buena actividad antiinflamatoria. Las geninas (sapogeninas esteroides totales, hecogenina y tigogenina) equivalente a la cantidad en los extractos produjo una efecto anti edema mucho mayor y eficaz que la obtenida con 5 mg/kg de indometacina o 21-fosfato de dexametasona en una dosis equivalente al contenido molar de hecogenina. Se concluyó que las geninas no tienen ningún efecto nocivo sobre la mucosa gástrica o lesiones en las membranas (Peana, 1997).

2.2. Base teórica

2.2.1. Extractos de plantas naturales

Los extractos naturales de plantas se han utilizado desde hace siglos para el tratamiento de un gran número de enfermedades y procesos patológicos. El primer texto escrito sobre plantas medicinales data del año 3.000 a.c. y se debe a los sumerios (Halberstein, 2005). Probablemente una de las primeras drogas del folklore tradicional que se transformó en una moderna droga allá por finales del siglo XVIII, fue la digital (*Digitalis purpurea L.*), lo cual ilustra los principios de la farmacología moderna. Los principios activos de las plantas suelen ser: aceites esenciales (volátiles), resinas, alcaloides glicósidos y aceites fijos (Goldman, 2001). El Perú, posee una gran **biodiversidad en cuanto a flora, siendo alrededor de 300 mil especies vegetales** consideradas de uso medicinal y muchas de ellas han sido empleadas por nuestros ancestros en el tratamiento de enfermedades producidas por microorganismos pero, en cuanto a estudios farmacológicos y principios activos de las plantas medicinales en la Amazonía y Sierra peruana aún son escasos (Brack, 2000).



2.2.2. Aceites esenciales

Según la 8ª. Edición de la farmacopea francesa de 1965, los aceites esenciales son “productos de composición general muy complejas que contienen los principios volátiles que se encuentran en los vegetales más o menos modificados durante su preparación” Los aceites esenciales no se encuentran prácticamente más que en vegetales superiores. Se calculan que existen aproximadamente unas 17.500 especies aromáticas, son productos químicos que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales, se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas que incluyen las compuestas, Labiadas, Lauráceas, Mirtáceas, Pináceas, Rosáceas, Rutáceas, Umbelíferas, etc. Generalmente, la síntesis y acumulación de los aceites esenciales se asocia a la presencia de estructuras histológicas especializadas, a menudo localizadas sobre o en la proximidad de la superficie de la planta, células con aceites esenciales de las Lauraceae o las Zingiberaceae, pelos secretores de las Lamiaceae, glándulas secretoras de las Myrtaceae o las Rutaceae, canales secretores de las Apiaceae o las Asteraceae. Los aceites esenciales se pueden aislar de diferentes partes de la planta: En las hojas (ajenjo, albahaca, buchú, cidrón, eucalipto, hierbabuena, limoncillo, mejorana, menta, pachulí, quenopodio, romero, salvia, toronjil, etc.). En las raíces (angélica, asaro, azafrán, cálamo, cúrcuma, galanga, jengibre, sándalo, sasafrás, valeriana, vetiver, etc.). En el pericarpio del fruto (limón, mandarina, naranja, etc.). En las semillas (anís, cardamomo, eneldo, hinojo, comino, etc.). En el tallo (canela, caparrapí, etc.). En las flores (árnica, lavanda, manzanilla, piretro, tomillo, clavo de olor, rosa, etc.). En los frutos (alcaravea, cilantro, laurel, nuez moscada, perejil, pimienta, etc.) (Peris, 2002).

2.2.3. Extractos vegetales

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca (Ruiz, 2000).

2.2.4. Características de los extractos vegetales

Estudios realizados permitieron fundamentar las siguientes características específicas de los extractos: a) Los extractos bien preparados son de color más o menos oscuros; cuando han sido preparados al vacío, son ligeramente más claros. b) Algunos son de color café amarillento, otros rojizos; los extractos provenientes de hojas son verdosos debido a la clorofila. c) Su aspecto debe ser liso, fino y homogéneo d) Su olor y sabor son propiedades características de la materia prima que les ha dado su origen. Cuando



son mal preparados, adquieren olor a caramelo o confitura poco conocida. e) La solubilidad de los extractos es variable y está en relación directa con el tipo de preparación al cual fueron sometidos. f) Los extractos acuosos son completamente solubles en agua y producen una solución transparente, algunas veces ligeramente turbia, debido a que han sido preparados con mucha anterioridad. g) Los extractos alcohólicos son parcialmente solubles en agua y algunas veces son totalmente insolubles, especialmente los extractos que han sido preparados con alcohol fuerte tienen un excelente índice de disolución, en el mismo título alcoholimétrico del alcohol con el cual han sido preparados. h) Los extractos alcohólicos preparados con hojas, dan soluciones coloreadas de verde, pues la eliminación de la clorofila no puede ser total se propuso ensayos generales para someter a los extractos a pruebas específicas para observar su calidad y composición final (Hernandez, 2001).

2.2.5. El cuy, *Cavia Porcellus*

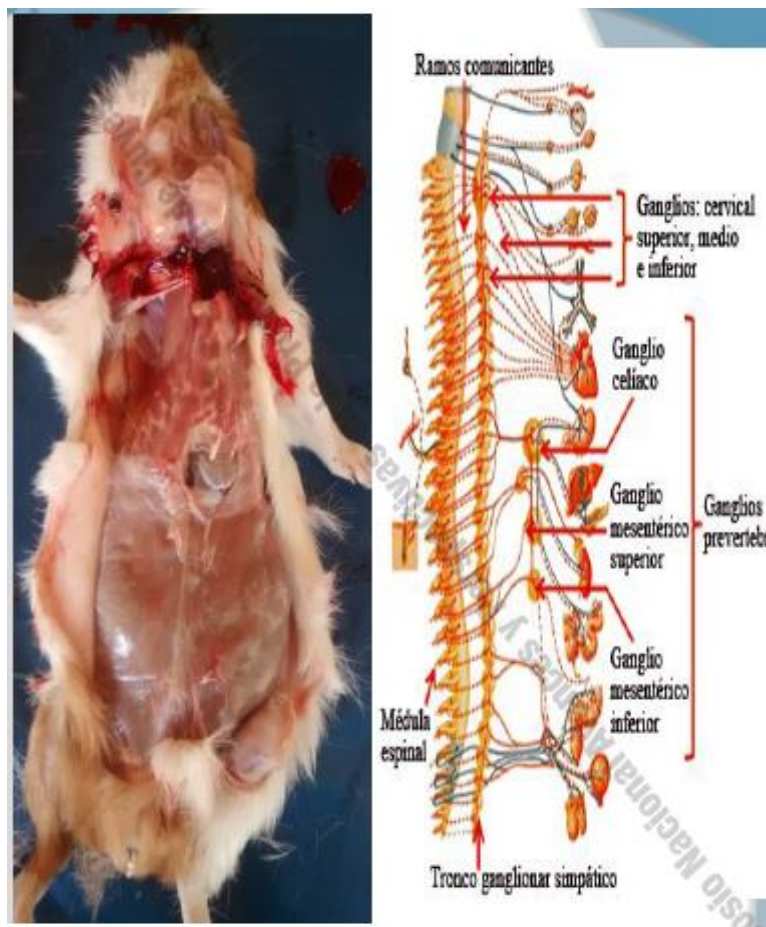
El cuy originario de las zonas andinas, está difundido mundialmente y se le conoce como guinea pig. En Latinoamérica recibe diferentes denominaciones: Curi (Colombia), Acure o Acurito (Venezuela), Cuyo (México), Cobayo y Conejillo de Indias. En los países donde su crianza está más difundida, Perú y Ecuador, se le denomina Cuy. En los países andinos, sin lugar a dudas, esta especie constituye un producto alimenticio proveedor de proteínas para las familias rurales y del perímetro urbano (Chauca, 2002). Sin embargo existen enfermedades bacterianas que alteran la salud siendo las principales: *Yersinia pseudotuberculosis*, *Salmonella thipinurium*, *Salmonella enteriditis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pasterella multocida*, *Bordetella brochiseptica*, *Diplococcus pneumoniae*, *Corynebacterium piogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus Zooepidemicus*, *Streptococcus spp.* y otros (Correa, 1999).

2.2.6. Linfadenitis

El término adenopatía hace referencia a alteraciones del tamaño y/o la consistencia de los ganglios linfáticos. Se consideran aumentados de tamaño los ganglios cervicales mayores de 1 cm (0.5 cm en neonatos). También son patológicos los ganglios pétreos o de superficie irregular, aquellos en los que existe ulceración cutánea o fijación a planos profundos. Cuando aparecen signos inflamatorios locales hablamos de adenitis. En la edad pediátrica la mayoría de las adenopatías son reactivas a infecciones respiratorias, principalmente de etiología vírica y suelen regresar en unas semanas (Artigao *et al.*, 2010).



Figura 1. Sistema linfático del cuy



(Morales, 2016)

2.2.7. Etiología de la linfadenitis en cuyes

El agente responsable de la enfermedad (Linfadenitis) se atribuye al *Streptococcus pyogenes* grupo C y al *Streptobacillus* con el síntoma característico del gran aumento de tamaño de los linfonódulos cervicales y la localización del germen en el tejido linfoide de la laringe y abscesos en linfonódulos cervicales (Chauca, 1997). La linfadenitis cervical es una enfermedad que afecta los ganglios cervicales, en especial los retro faríngeos, la etiología de esta enfermedad es causada por las bacterias *Streptococcus zooepidemicus* hemolítico y otros aun no bien definidos. Son cocos Gram positivos β -hemolíticos, encapsulados, pertenecientes al grupo C Lancefield, y habitante común de las vías respiratorias (Percy & Barthold, 2001). La infección estreptocócica fue descrita por Boxmeyer en el año de 1907 quien manifestó que era ocasionada por *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, un patógeno facultativo y comensal de las tonsilas, tracto respiratorio bajo, piel y tracto urogenital de caballos, que afecta animales y humanos (Anzai *et al.*, 2000).

Cuadro 1. Identificación del agente etiológico según edad de los cuyes muestreados

Agente etiológico	Jóvenes	%	Adultos	%	Total
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	27	90%	18	90%	45
<i>Salmonella Thyphimurium</i>	0	0%	1	5%	1
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	3.3%	0	0%	1
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	1	3.3%	0	0%	1
<i>Staphylococcus saprophiticus</i>					
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	0	0%	1	5%	1
<i>Staphylococcus aureus</i>					
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	1	3.3%	0	0%	1
<i>Micrococcus spp.</i>					
Total	30	100%		100%	50

(Concha, 2014).

2.2.8. Signos y manifestaciones clínicas de la linfadenitis en cuyes

Los cuyes con linfadenitis presentan como signo patognomónico la inflamación en forma de abscesos en los ganglios cervicales muy raras veces acompañado de sinusitis, otitis y descender a las vías respiratorias ocasionando bronquitis y neumonía intersticial (Chauca, 1997). Es importante recalcar que los animales afectados no suelen mostrar otros signos, como pirexia, anorexia inmediatamente antes de fisurarse los abscesos; sin embargo, en algunos casos puede haber también descarga nasal, ocular, disnea y cianosis; también tortícolis (desviación de la cabeza) debido a otitis media o interna, ocasionalmente, puede presentarse con una diseminación sistémica con neumonía, metritis y septicemia; los animales identificados con signos típicos de linfadenitis cervical, también pueden presentar parálisis del tren posterior aguda, diseminación del compromiso nodular, metritis, abortos en casos graves (Hawkins & Bishop, 2012). Aunque los animales expuestos experimentalmente al estreptococo grupo E presentan fiebre transitoria, leucocitosis, depresión y anorexia, estos signos raramente se observan en la infección natural (Ramirez 2006). Y a la microscopía se puede evidenciar neumonía, pleuritis, miocarditis, pericarditis, peritonitis, otitis media, nefritis, artritis, celulitis y todas estas caracterizadas por la inflamación supurativa necrotizante o fibrino-supurativa (Wagner, 1999).



2.2.9. Patogenia y fisiopatología de la linfadenitis en cuyes

La bacteria inicialmente infecta linfonódulos cervicales y desarrolla abscesos estos tienden espontáneamente a fisurarse y pueden cicatrizar con el tiempo. En efecto, la enfermedad tiende a ser de curso crónico y los animales pueden exhibir estos grandes abscesos por meses sin evidencia de debilidad; la muerte ocurre ocasionalmente debido a la presión que ejercen los abscesos sobre los tejidos o a la ruptura de algún absceso dentro del organismo con abscesos crónicos en los linfonódulos, aunque los linfáticos inguinales y retroperitoneales también pueden ocasionalmente estar involucrados (Anzai *et al.*, 2000). A la necropsia, la infección puede variar de una septicemia aguda fatal a una crónica con procesos supurativos en los ganglios linfáticos, torácicos y abdominales, vísceras, útero y oídos. El exudado purulento de color blanco nacarado y en casos de epizootia puede producir septicemias y neumonías agudas fatales (Wagner, 1999). Siendo entregado este agente al medio a través de descargas purulentas provenientes de abscesos abiertos sean cutáneos o pulmonares, o de diversas lesiones. Las infecciones han sido reportadas en equinos, cerdos, rumiantes, cobayos, primates, perros y gatos, ratones y cobayos, siendo estos dos últimos, las especies de laboratorio más sensibles (Abbott *et al.*, 2010). Los cambios o alteraciones a consecuencia de la linfadenitis cervical en cobayos no sólo pueden producir agrandamiento de los linfonódulos sino también, algunas infecciones que pueden progresar a tortícolis, neumonía y septicemia, así como alteraciones del tracto urinario y reproductor (Acha & Szyfres, 2003).

Figura 2. Fisiopatología de la linfadenitis cervical del cuy

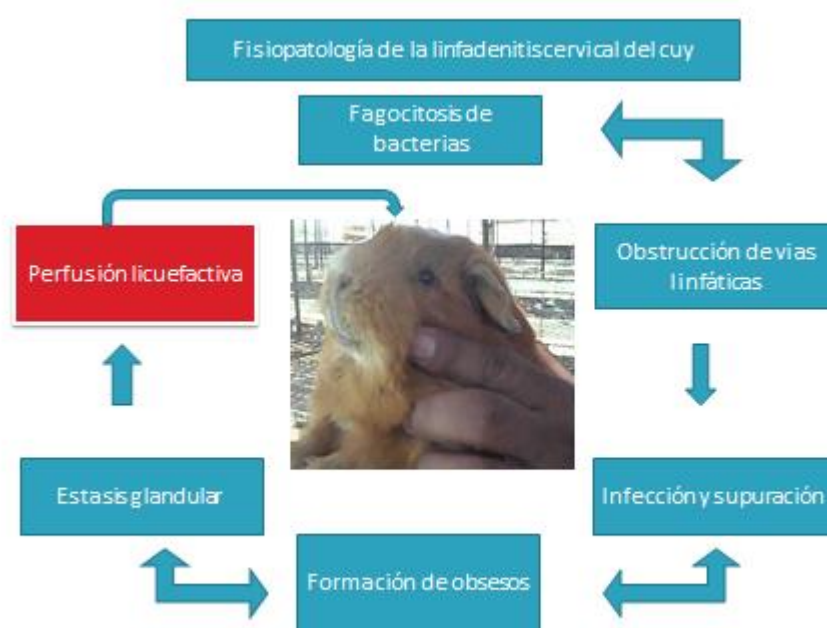


Imagen modificado de (Morales, 2016).

2.2.10. Diagnóstico de linfadenitis en cuyes

Los abscesos ocurren más frecuentemente en los nódulos linfáticos mandibulares y retro faríngeos y son raros en otros, generalmente los abscesos son el único signo observado (Ramírez, 2006). El diagnóstico puede ser por aislamiento de la bacteria, el estreptococo del grupo E (SGE) del exudado del absceso. La infección también puede ser detectada serológicamente mediante pruebas de aglutinación (Ramírez, 2006). Se pueden evidenciar cadenas de cocos Gram positivos en frotis directo o cortes de tejido (Wagner, 1999). En la linfadenitis aguda puede haber dolor y calor a la palpación pero en la mayor parte de los casos los ganglios no son dolorosos. Las obstrucciones provocadas por el aumento de tamaño de los ganglios pueden dar lugar a signos secundarios como dificultad respiratoria con aumento de los ganglios retro faríngeos y obstrucción esofágica por el aumento de tamaño de los ganglios mediastínicos. La biopsia con aguja para citología y cultivo puede ayudar a determinar la causa de la linfadenitis y puede permitir la diferenciación entre linfadenitis y aumento de tamaño neoplásico. La ecografía puede ayudar a establecer el diagnóstico (Radostits *et al.*, 2002). Los aspirados de los nodos linfáticos afectados pueden ayudar a determinar la categoría principal de linfadenomegalia (es decir hiperplasia, inflamación o neoplasia). Una exitosa aspiración de los nodos periféricos con aguja fina es más difícil de realizar: los nodos están frecuentemente rodeados por depósitos de grasa firme (Oglesbee, 2008).

2.2.11. Patología clínica de la linfadenitis en cuyes

La mayoría de cobayos con linfadenitis cervical presentan densidad urinaria elevada, proteinuria que varía desde trazas hasta 3+ variable cristaluria siendo el cristal más frecuentemente encontrado el fosfato triple o estruvita; asimismo presentan bacteriuria de regular (2+) a marcada cantidad (4+). Finalmente los parámetros de pH, bilirrubina, glucosa, cetonas, sangre oculta, nitritos, leucocitos y celularidad no varían en cobayos con linfadenitis cervical (Morales, 2017).

2.2.12. Epidemiología de la linfadenitis en cuyes

Las infecciones por estas bacterias del género estreptococos han sido reportadas en diferentes animales siendo muchos de ellos específicos por especie como es el caso de equinos, cerdos, rumiantes, cobayos, primates, perros, gatos, ratones y cobayos, estos dos últimos son las especies de laboratorio más sensibles (Abbott *et al.*, 2010) y (Fulde, 2013). La transmisión zoonótica de *Streptococcus zooepidemicus* es raro y está usualmente asociada con la ingesta de leche pasteurizada o a través del contacto con caballos por personas quienes usualmente han padecido de condiciones de salud (Fulde, 2013).



2.2.13. Tratamiento y control de la linfadenitis en cuyes

El tratamiento antibiótico puede no ser eficaz en el control o la eliminación del microorganismo aunque pueden utilizarse el cloranfenicol, el trimetoprim-sulfa, la cefalosporina o la enrofloxacin. Los abscesos pueden romperse de forma espontánea, perforarse quirúrgicamente y drenarse o preferiblemente extirparse, pero esto puede causar septicemia (Kahn, 2007). Tratamiento tópico: sulfato de cobre al 5 por ciento y espolvoreo de polvos sulfurosos. Vía oral griseofulvin 60 mg/kg, durante 10 días (Sanches, 2002).

Cuadro 2. Perfil de resistencia antibacteriana de aislados de linfadenitis cervical (Ancash)

Antibacterianos	Resistente		Intermedio		Sensible		Total %
	n	%	n	%	N	%	
Vancomidna	7	20.59	2	5.88	25	73.53	100
Amikacina	11	32.35	0	0.00	23	67.65	100
Sulfatrimetropin	7	20.59	4	11.76	23	67.65	100
Gentamicina	10	29.41	2	5.88	22	64.71	100
Cíprofloxacin	6	17.65	8	23.53	20	58.82	100
Estreptomycin	10	29.41	5	14.71	19	55.88	100
Neomidna	11	32.35	4	11.76	19	55.88	100
Tetraciclina	8	23.53	7	20.59	19	55.88	100
Amoxicilina	14	41.18	1	2.94	19	55.88	100
Furazolidona	22	64.71	0	0.00	12	35.29	100
Oxacilina	20	58.82	5	14.71	9	26.47	100
Enrofloxacin	12	35.29	14	41.18	8	23.53	100
Ácido nalidixico	25	73.53	1	2.94	8	23.53	100
Aoranfenicol	25	73.53	3	8.82	6	17.65	100
Fosfomiána	26	76.47	2	5.88	6	17.65	100
Ampicilina	26	76.47	3	8.82	5	14.71	100
Oindamicina	19	55.88	13	38.24	2	5.88	100
Penicilina	33	97.06	0	0.00	1	2.94	100

(Morales, 2016).

2.2.14. Actividad antimicrobiana de compuestos de agaves

El género *Agave* cuyo significado es “noble” o “admirable” comprende aproximadamente 200 especies, de las cuales el 75 % se encuentran en México, lugar considerado el centro de origen, el *Agave* fue una de las primeras plantas cultivadas en Mesoamérica y gracias a su gran cantidad de usos, es también considerado como el “árbol de la vida”. Su utilización de extractos naturales puede ser una alternativa para

el tratamiento de enfermedades bacterianas con actividad fungicida de extractos acuosos y etanólicos sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*, el extracto etanólico fue más efectivo contra *Botrytis cinerea* y *Mucor sp.*, mientras que por el método de dilución del extracto en agar el extracto etanólico de agaves que inhibió el crecimiento de *Botrytis cinerea*, *Mucor sp.* y *Penicillium sp.* El control de estas enfermedades se lleva a cabo fundamentalmente con productos químicos, sin embargo, el uso continuo de estos productos ha provocado que las poblaciones del hongo sean cada vez más resistentes y por lo tanto difíciles de erradicar (Leroux *et al.*, 1999). Ante esta situación, se hace necesaria la realización de esfuerzos para encontrar sustancias químicas más adecuadas para combatir las enfermedades, dentro de la importancia económica que presentan las plantas, está su utilización como fuentes industriales de sustancias bioactivas, se han utilizado desde tiempos remotos diversas plantas para la eliminación de microorganismos ya sea en forma de plantas completas, polvos, extractos o cenizas, los metabolitos secundarios frecuentemente poseen un papel ecológico y sirven como defensas químicas en contra de microorganismos insectos vectores y herbívoros y son frecuentemente acumulados por las plantas en pequeñas cantidades, y sintetizados en células especializadas y en distintos estadios de desarrollo, haciendo con ello difícil su purificación entre los compuestos más conocidos se encuentran: flavonoides, fenoles, glucósidos de fenoles, saponinas, etc. (Grayer & Harborne, 1994). Existen poco más de 1340 especies de plantas que contienen compuestos, con actividad contra una amplia variedad de bacterias, levaduras y hongos (Gould, 1995).

2.2.15. Taxonomía del *Agave americana*

Cuadro 3. Taxonomía del *Agave americana*

<i>Reino</i>	<i>Plantae</i>
Phylum	Euphyta
División	Angiospermae
Clase	Monocotyledones
Orden	Amaryllidaceae
Familia	Agavaceae
Genero	Agave
Especie	Americana

(Gentry, 1982).



perteneciente a la familia Agavaceae y al subgénero Agave, es una planta que tiene forma de piña, de la cual salen sus hojas o pencas, a veces rectas y otras dobladas de manera caprichosa, carnosas pero duras, de bordes espinosos, a veces de color amarillo y con una púa en la punta. Las floraciones ocurren solamente cuando la planta tiene aproximadamente 15 años de edad o más. El tallo de la flor es enorme de 4.6 a 12 metros. Las flores son amarillas pálidas (Gentry, 1982).

2.2.16. El *Agave americana*

Es una especie de las familias de plantas más estudiadas para la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos conocida como familia Agaváceae la cual comprende 2480 especies, *Agave americana* L conocida como, maguey, cabuya azul y *Furcraea andina* Trel conocida como cabuya pertenecen a esta familia. El punto final de lectura fue la mortalidad del agente a las 24 horas de exposición. Los valores de CL50 (Concentración letal media), NOEC (concentración de efectos no observables) y LOEC (concentración más baja de efectos observables). El extracto acuoso de *A. americana* presentó los mejores efectos microbicidas en comparación a las otras dos plantas empleadas (Iannacone *et al.*, 2013).

2.2.17. Estructura morfológica del *Agave americana*

Poseen hojas alargadas dispuestas en espiral, sobre un corto y a menudo invisible tallo, formando una roseta. Esta morfología es una adaptación destinada a captar agua por las hojas que es transportada a la zona radical. Las hojas en general son duras, o al menos rígidas y muy fibrosas. Numerosas especies poseen dientes marginales prominentes y en la mayoría, existe una espina terminal rígida. El número de hojas por roseta varía de 20 a 200 mm, dependiendo de la especie. Las hojas son gruesas y suculentas, poseen células especializadas para el almacenamiento de agua. La mayoría poseen una cutícula dura, una adaptación para prevenir la pérdida de agua en zonas desérticas. Pueden ser rígidas o laxas. Los dientes son variables, rectos o curvados, cortos o alargados efectos no aplanados o redondeados (Guillot *et al.*, 2009).



2.2.18. Propiedades terapéuticas del *Agave americana*

El *Agave americana* que también es considerada medicinal. Los usos medicinales del *Agave* son extensos: para tratar problemas del aparato urinario, heridas, tratamiento de la gota, dolor gástrico, dolor de muelas, posparto, lactación, golpes, mordedura de víbora, gonorrea, fiebre, bilis, tos, empacho, dolor de cabeza, pecas, barros y verrugas faciales, recaída, dolor de costado, enfermedades intestinales, tónico del sistema nervioso, diabetes, dispepsias ácidas, escorbuto, ayuda a la cicatrización, calvicie, hígado como hepatoprotector, artritis reumatoide, antiinflamatorio, antimicrobiano y para el tratamiento del cáncer, donde actualmente se han realizado estudios en animales, comprobando su eficacia (Ayón, 2007).

Cuadro 4. Especies de uso medicinal

Especie-nombre Común	Afecciones Tratadas	Parte Utilizada	Forma de Preparación	Administración
<i>Agave celsii</i> Hook				
Magüey blanco	Heridas	Hojas	Asar	Local
<i>Agave lechuguilla</i>				
Torr. Lechuguilla	Heridas, caída de pelo	Hojas	Infusión, remojar	Local
<i>Agave mapisaga</i>				
Trel. var. <i>Mapisaga</i>	Heridas, golpes	Hojas	Asar	Local
<i>Agave mapisaga</i>				
<i>Agave americana</i>	Heridas	Hojas	Asar, desprender	Local
<i>Agave salmiana</i>				
Magüey	Heridas, golpes	Hojas	Asar	Epidermis
<i>Agave ssp. var. ferox</i> , <i>Gentry Crassispina</i>				
<i>Agave striata</i>	Zucc ssp. Producción de Saliva	Hojas	Se arranca la hoja y se mastica la base	Oral
Estoquillo				

(Villavicencio, 2003).

Las especies que se encuentran dentro del subgénero *Agave* son: *Agave mapisaga* Trel. var. *mapisaga*, *Agave mapisaga* var. *ferox*, *Agave salmiana* ssp. *crassispina* y *Agave americana* (Ayón, 2007).



2.2.19. Propiedades Fotoquímicas del Agave

Los Agaves contienen gran cantidad de metabolitos que pueden ser utilizados para el tratamiento de diferentes enfermedades cada Agave posee una fotoquímica propia y por lo tanto la presencia de los diversos metabolitos les confiere propiedades individuales dentro de estos tenemos: Saponinas, triterpenos, flavonoides, alcaloides, taninos, glucósidos cardiotónicos, lactosas sesquiterpénicas, cumarinas, antroquinonas, glucósidos cianogenéticos. Los saponósidos triterpénicos y esteroídicos son heterósidos que se caracterizan por tener propiedades tensioactivas y afrogenas en contacto con la sangre son hemolíticas ya que son capaces de interactuar con los lípidos de membrana de los eritrocitos y por lo tanto resultan si se administran por vía endovenosa. Poseen estructuras formadas por un parte glucídica denominada sapogénica (Fernández, 2005). Se clasifican según la naturaleza de las geninas en triterpénicas y esteroídicas (Dominguez, 2003). Son unos excelentes emulsivos medicinalmente las saponinas relajan el intestino e incrementan las secreciones de las mucosas bronquiales, fluidifican estas y facilitan la expectoración, se emplean también como diuréticos y desinfectantes de las vías urinarias en usos externos son analgésicos, cicatrizantes y aceleran el poder de absorción de otras sustancias activas (Fernández, 2005). Se aíslan tres saponinas de *Agave americana* de las cuales la hecogenina mostró propiedades fungicidas, antimicrobianas y antitumorales y actividad citotóxica contra las células de leucemia promielocítica humana con 4.3 mcg/mL (Yokusaka, 2002). En el caso del Agave, se han identificado saponinas y sapogeninas las cuales son un grupo de glicósidos que se disuelven en agua formando espuma, varias especies de Agave son fuentes de sapogeninas esteroídicas, de donde se pueden derivar compuestos anticonceptivos, antiinflamatorios, antibacterianos y hormonas sexuales (González & Elizondo, 2004).

2.2.20. Actividad terapéutica del Agave

El Agave es utilizado en la medicina popular como antimicrobiano fungicida y antiinflamatorio, tanto el aguamiel para inflamaciones digestivas, como las hojas para inflamaciones óseas y musculares. Estas propiedades han sido evaluadas experimentalmente con éxito y su acción se explica por la presencia de unas sustancias llamadas genosaponinas esteroídicas y otros metabolitos aun no bien definidos mostrando actividad antiinflamatoria, la cual fue evaluada por medio del ensayo de permeabilidad capilar aunque algunas veces, es acompañada por un considerable efecto hemolítico. Generalmente, las saponinas esteroídicas, poseen una elevada actividad hemolítica cuando se ponen en contacto directo con los eritrocitos, debido a que los esteroides tienen una alta afinidad por el colesterol en la membrana del eritrocito. El efecto antimicrobiano se realizó con bacterias Gram positivas y Gram



negativas de supuraciones y heridas en diferentes Agaves y demostrando una buena actividad antibacteriana de prevención (Verastegui, 1996).

2.2.21. Saponinas

Las saponinas son compuestos derivados del ciclopentanoperhidrofenantreno, parcial o totalmente hidrogenados con 27 átomos de carbonos (Verastegui, 2000). También son metabolitos glicosilados de alto peso molecular, utilizados por las plantas como mecanismo de defensa contra el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. Su presencia ha sido reportada en más de 100 familias de plantas. También se han reportado en animales marinos, como en Phylum Echinodermata y particularmente en especies de la clase Holothuroidea y Asteroidea (Oleszek & Bialy, 2006). Su estructura consta de una parte glúcídica que pueden ser cadenas de glucosa, arabinosa, ramnosa, galactosa, xilosa y una parte no glúcídica denominada sapogenina o aglicona, que puede ser de naturaleza triterpénica o esteroidal. La clasificación de las saponinas se hace según la naturaleza de la aglicona. Así se distinguen entre saponinas triterpénicas y saponinas esteroidales. Algunos autores dividen a las saponinas en un tercer grupo denominando aminas esteroidales o alcaloides esteroidales. (Sparg *et al.*, 2004). Las saponinas esteroidales se encuentran principalmente en las plantas monocotiledóneas, las cuales pertenecen a los géneros Liliaceae, Dioscoreaceae y Agavaceae (Guclu & Mazza, 2007). Su síntesis en plantas es por la ruta del acetyl-CoA vía ácido mavalónico y escualeno. En donde una vez formado un precursor esteroide con 27 átomos de carbono, este es deshidrogenado para originar 3-colestonea. La colestonea es hidroxilada en los carbonos 16, 22 y 27. Este compuesto intermediario al ser altamente hidroxilado en la cadena lateral, puede sufrir una deshidratación en los hidroxilos unidos a los carbonos 16 y 22 lo que origina la 3-furestanona o también puede sufrir además otra deshidratación entre los hidroxilos restantes de las posiciones 22 y 27 lo que da lugar al anillo de espirostanos propiamente dicho. La 3-espirostanona puede ser reducida a 3espirostanol, el cual puede sufrir procesos enzimáticos de glicosilación para originar las saponinas esteroidales (Yang *et al.*, 2014). Aunque algunos autores también sugieren que las agliconas (sapogeninas) esteroidales se pueden producir a partir de los esteroides de las plantas seguidas por una oxidación en los carbonos C-16, C-22, C-27, seguido por el cierre del anillo, debido a que se ha observado que en las especies de Agave y Dioscoreaceae cuando la concentración de esteroides es alta la concentración de sapogenina es baja y viceversa (Heftmann, 1963). Estos compuestos se clasifican según su estructura en dos tipos:



a. Saponinas triterpenoides

Ampliamente distribuidas en el reino vegetal, presentes predominantemente en dicotiledóneas, poseen un esqueleto formado por la unión de seis unidades de isopreno, las estructuras pentacíclicas son más abundantes y conocidas que las tetracíclicas (Torres, 2011).

b. Saponinas esteroidales

Son menos distribuidas en la naturaleza, presentes predominantemente en monocotiledóneas, poseen una estructura tetracíclica derivada del ciclopentano fenantreno, son empleadas como materia prima para la síntesis de hormonas sexuales (Dini *et al.*, 2001).



Cuadro 5. Saponinas identificadas en algunas especies de Agave por Resonancia Magnética Nuclear

<i>A. americana</i> <i>L.</i>	<i>A.</i> <i>attenuata</i> <i>Salm-Dyck</i>	<i>A. cantala</i> <i>Roxb</i>	<i>A.</i> <i>kercho</i> <i>vei</i>	<i>A. lophantha</i> <i>Schiede</i>	<i>A. sisalana</i> <i>Perrine</i>
	<i>Agave</i>	<i>Agave</i>		<i>Agave</i>	
<i>Agamenoside</i> <i>a</i>	<i>attenuata</i> <i>saponin</i>	<i>cantala</i> <i>saponin 1</i>	<i>melongo</i> <i>side a</i>	<i>lophantha</i> <i>saponin 1</i>	<i>dongnoside</i> <i>a</i>
<i>Agamenoside</i> <i>b</i>	<i>attenuata</i> <i>saponin 1</i>	<i>cantala</i> <i>saponin 2</i>		<i>lophantha</i> <i>saponin 2</i>	<i>dongnoside</i> <i>b</i>
<i>Agamenoside</i> <i>c</i>		<i>cantala</i> <i>saponin 3</i>			<i>dongnoside</i> <i>c</i>
<i>Agamenoside</i> <i>d</i>		<i>Agave</i> <i>cantala</i> <i>saponin n</i>			<i>dongnoside</i> <i>d</i>
<i>Agamenoside</i> <i>e</i>		<i>agaveside</i> <i>a</i>			<i>dongnoside</i> <i>e</i>
<i>Agamenoside</i> <i>h</i>		<i>agaveside</i> <i>b</i>			
<i>Agamenoside i</i>		<i>agaveside</i> <i>c</i>			
<i>Agamenoside j</i>		<i>agaveside</i> <i>d</i>			
<i>Agavoside c</i>		<i>cantalani</i> <i>n-a</i>			
<i>Agavoside e</i>		<i>cantalani</i> <i>n-b</i>			
<i>Agavoside h</i>		<i>cantalasa</i> <i>ponin 1</i>			
<i>Saponin d</i>		<i>cantalasa</i> <i>ponin 2</i>			
<i>Agavoside a</i>		<i>cantalasa</i> <i>ponin 3</i>			



2.2.22. Actividad hemolítica de las saponinas

La actividad hemolítica de las saponinas se demostró cuando el compuesto activo se localizó en el cromatograma aspergado con sangre diluida 1/3 con solución salina. El cromatograma mostró una banda clara bien definida sobre un fondo rojo la zona que presentó hemólisis se ubicó en el mismo Rf donde se presentó la actividad antimicrobiana y hace suponer que las saponinas son la causa de la inhibición antimicrobiana (De los Angeles & Verastegui, 2000).

2.2.23. El género *Streptococo*

Es un grupo de bacterias formado por cocos Gram positivos pertenecientes al filofirmicutes y al grupo de las bacterias ácido lácticas. Estas bacterias crecen en cadenas o pares, donde cada división celular ocurre a lo largo de un eje. De allí que su nombre, del griego streptos, significa que se dobla o retuerce con facilidad, como una cadena. Los estreptococos son oxidasa y catalasa-negativos (Koneman, 2006). El estreptococo del grupo B [EGB]) es hoy en ausencia de medidas de prevención, la causa más frecuente de infección bacteriana perinatal de transmisión vertical en el mundo occidental (Arriaga & Ramos, 2007).

2.2.24. Aislamiento de los estreptococos beta hemolíticos

El aislamiento microbiológico se realiza principalmente en medios de cultivo sólidos y líquidos: caldo nutritivo, agar nutritivo, agar BHI enriquecido con sangre al 5% para la identificación de los *streptococos spp.* medios muy ricos que permite el crecimiento de todos los microorganismos con importancia clínica excepto el de los más exigentes. Ciertas bacterias producen enzimas extracelulares que actúan sobre los glóbulos rojos. Observando los halos hemolíticos alrededor de las colonias se determina el tipo de hemólisis que poseen: alfa, beta o gamma. Para leer con exactitud la hemólisis producida, se debe levantar la placa de agar sangre y observarla contra la luz. La hemólisis de tipo alfa es una hemólisis incompleta, caracterizada por la destrucción parcial de la membrana de los eritrocitos y pérdida de algo de hemoglobina en el agar. A simple vista este tipo de hemólisis se detecta por la aparición de una coloración verdosa alrededor de la colonia. La beta hemólisis se caracteriza por la destrucción total de la membrana por lo que se detecta por la aparición de un halo transparente alrededor de la colonia. Cuando los microorganismos no producen ningún tipo de hemólisis se dice que son gamma-hemolíticos (Concha, 2014).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Tipo y nivel de investigación

La investigación fue de tipo experimental con grupo control: longitudinal, nivel básico: Realiza comparaciones y se encamina a la solución de un problema.

3.2. Operacionalización de variables

Cuadro 6. El extracto de *Agave americana* tiene un efecto bactericida en Linfadenitis en (*Cavia porcellus*)

Variable	Indicadores	Índice
Variable independiente:		
Extracto de <i>Agave americana</i>	Solución acuosa de	Diámetro de halo
	2 mg/mL	
	5mg/mL	
	7 mg/mL	
Variable dependiente:		
<i>Streptococo spp.</i>		

3.3. Hipótesis de Investigación

3.3.1. Hipótesis general

El efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes soluciones de extracto del maguey (*Agave americana*) será significativo sobre *Streptococos spp.* aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*).

3.3.2. Hipótesis específicas

- El efecto antibacteriano *in vitro* de extracto del maguey (*Agave americana*) a 2 mg/mL será significativo sobre *Streptococos spp.* aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*).
- El efecto antibacteriano *in vitro* de extracto del maguey (*Agave americana*) a 5 mg/mL será significativo sobre *Streptococos spp.* aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*).
- El efecto antibacteriano *in vitro* de extracto del maguey (*Agave americana*) a 7 mg/mL será significativo sobre *Streptococos spp.* aislados de linfadenitis del cuy (*Cavia porcellus*).



3.4. Población y muestra

3.4.1. Lugar de investigación

El estudio se realizó en el distrito de Abancay en los meses de agosto de 2017 a enero de 2018 en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con coordenadas, Latitud Sur 13°38'31.56", Longitud Oeste 72°53'13.10" a 2377 msnm. con temperatura promedio anual es de 21° C máxima y mínima 9° C humedad relativa varía entre 59-70%. La precipitación anual varía de 641 a 1.119 mm/año, tiene una extensión de 3.447 km². (INEI, 2012).

3.4.2. Tamaño muestral

Se utilizó el muestreo por conveniencia para esta investigación se recolectó animales con signos y síntomas característicos de linfadenitis en un número de diez animales, primer muestreo; cuatro cuyes con signos de linfadenitis del criadero ubicado en la avenida Circunvalación de localidad de Moyocorral – Abancay, segundo muestreo, tres cuyes con linfadenitis del criadero ubicado en la urbanización Santa Luisa las Américas – Abancay, tercer muestreo, tres cuyes con linfadenitis localizado en la carretera principal panamericana Pachachaca - Abancay. Las muestras de maguey (*Agave americana*) fueron recolectadas de diversos lugares de la provincia de Apurímac y del Parque Ecológico de Taraccasa "El Mirador", situado a 9 kilómetros de la ciudad de Abancay entre la carretera Abancay-Cusco.

3.5. Técnicas de investigación

3.5.1. Técnica de extracción de la solución acuosa del *Agave americana*

El material vegetal se obtuvo de las hojas *Agave americana* desde la base de las hojas posteriormente fueron limpiadas y desinfectadas con alcohol etílico al 90 % con el propósito de eliminar los materiales extraños y elementos contaminantes. Se selló en bolsas de polietileno cerrada para trasladar al laboratorio de microbiología. Las hojas desinfectadas entraron en proceso de desecación en una estufa a 40 °C por un período de 15 días hasta obtener hojas deshidratadas. Estas hojas deshidratadas y secas se trituraron en un mortero hasta llegar a la pulverización.

3.5.2. Preparación de la solución acuosa del maguey

Una vez pulverizada se separó en tres tubos de ensayo a diferentes concentraciones 2, 5 y 7 gramos de soluto en 100 mL de etanol y posteriormente se dejó en maceración por cinco días. Las maceraciones se filtraron utilizando papel filtro en un vaso de precipitados. La maceración filtrada se desecó en una estufa a 40 °C por tres



días. El material desecado se procedió a preparar con 20, 50, 70 mg en 10 mL de agua esterilizada cada uno respectivamente obteniéndose las dosis de 2 mg/mL, 5 mg/mL y 7 mg/mL.

3.5.3. Preparación de discos de sensibilidad

Se compraron discos de sensibilidad estériles sin antibiótico los cuales fueron preparados con infusiones del extracto acuoso del maguey a dosis de 2, 5, 7 mg / mL y se conservaron en refrigeradora a 4 °C por 24 horas para realizar las pruebas de antibiograma.

Materiales:

- Material vegetal (hojas de *Agave americana*).
- Alcohol etílico al 90%.
- Bolsas de polietileno.
- Agua estéril.
- Discos de sensibilidad sin antibiótico.
- Mortero y pilón.
- Tubos de ensayo.

Equipos:

- Estufa de desecación.
- Balanza analítica.
- Refrigeradora.

3.5.4. Técnica aislamiento del *Streptococcus spp.*

a. Recolección de Muestra

Para la recolección de muestras de *Streptococcus spp.* primeramente se recolectaron los cuyes con síntomas patognomónicos, visibles y palpables de inflamación submaxilar de tres diferentes granjas en diferentes momentos. La muestra se recolectó en frasco estéril y fue transportado inmediatamente al laboratorio de microbiología.

b. Inoculación y cultivo

Las muestras fueron inoculadas para su cultivo en caldo nutritivo y se dejó incubar por 24 horas a 37 °C en la incubadora. Al día siguiente se observó las características de crecimiento bacteriano de turbidez del medio.



c. Coloración de Gram

Una vez obtenido el crecimiento bacteriano se procedió a la técnica coloración de Gram para su observación en el microscopio óptico.

d. Observación al microscopio

A la observación del microscopio se pudo evidenciar la morfología característica de los *Streptococos spp.* en forma de cadena (anexo 17).

e. Aislamiento del *Streptococcus spp.*

El crecimiento bacteriano estuvo acompañado de otras bacterias como: Estafilococos, enterobacterias y estreptobacilos, para lo cual se inoculó en agar sangre con base BHI para el reconocimiento de las colonias y posterior aislamiento, re inoculación y repique para conservar la cepa bacteriana. Se incubó por 24 horas a 37 °C y se observaron las colonias características con beta hemolisis característico de los estreptococos patógenos, de esta manera se aisló al *Streptococcus spp.* para sus posteriores pruebas (anexo 17).

Materiales:

- Material biológico (muestras de linfadenitis del ganglio cervical).
- Frascos pequeños estériles.
- Medios de cultivo: Caldo Nutritivo, Agar Nutritivo, Agar BHI Base Sangre.
- Tubos de ensayo.
- Placas Petri.
- Reactivos de coloración de Gram: cristal violeta, lugol, alcohol acetona, safranina.
- Hansas de siembra.

Equipos:

- Microscopio óptico.
- Refrigeradora.
- Incubadora.

3.5.5. Técnica de Antibiograma, difusión en Agar, Método Kirby-bauer

a. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó el agar Mueller-Hinton y se preparó de acuerdo a las características del medio se disolvió 38 g de medio de cultivo para un litro de agua destilada para luego disolverlo en mechero de bunsen, seguidamente se procedió a auto clavar a 120 °C durante 15 minutos, esto se deja enfriar para poder llevar a la refrigeradora para su posterior uso.



b. Preparación de los discos de Sensibilidad

Se utilizaron discos de sensibilidad sin antibiótico, posteriormente se introdujo sobre las diferentes concentraciones 2, 5 y 7 mg de solución acuosa de *Agave americana* y luego ser colocados sobre el medio de cultivo.

c. Preparación del inóculo

Una vez obtenida la cepa de *Streptococcus spp.* se procedió a tomar una colonia de agar sangre con hisopos estériles y se inoculó en un tubo de agua esterilizada y se controló la turbidez de 0.5 de acuerdo a la escala Mac Farland, inmediatamente se realizó la inoculación en el medio Muller-Hinton con el método de siembra bacteriana a estrías por lados opuestos con hisopo estéril sobre todo el medio de cultivo.

d. Método estándar de kirby-bauer para antibiograma

El inóculo se preparó en tubos con agua esterilizada con el *Streptococcus spp.* fue sembrado por el método de difusión simple con hisopos estériles en placas de agar sangre y Muller hinton. Posteriormente se procedió a aplicar los discos de sensibilidad preparados a diferentes concentraciones por placa y ubicados a distancias proporcionales considerando el grupo control. Finalmente se incubó a 37 °C por 24 horas. Este procedimiento se repitió por cada muestra.

e. Escala de Duraffourd para medir el grado de sensibilidad

Esta escala se utilizó para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio *in vitro*, según diámetro de inhibición (Duraffourd, 1983).

- Nula (-) : Para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +) : Para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible = ++)
- Sumamente sensible (+++) : Para un diámetro superior a 20 mm.

f. Registro e interpretación de los resultados

Después de la incubación se realizó la medición con una regla milimetrada del diámetro completo de las zonas de inhibición y se registró (anexo 17,18 y 19).



3.6. Procesamiento y análisis de datos

El diseño estadístico utilizado en el presente estudio fue el diseño completamente al azar siendo el modelo aditivo lineal el siguiente.

$$Y_{ij} = \mu + S_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = Significa variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento lo que conlleva a los diez muestras que serían el tratamiento y 40 repeticiones.

μ = Media general sería 1.145 Lo que es la suma total de los datos dividido entre la cantidad de datos.

S_i = Es el efecto del i-ésimo (dosis 3 mg/mL, 5 mg/mL, 7 mg/mL de solución acuosa de *Agave americana*).

ε_{ij} = Error experimental.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Actividad antibacteriana a diferentes dosis de solución acuosa de extracto de *Agave americana* (2, 5, 7 mg/mL) y grupo control (Penicilina 10 ug)Cuadro 7. Efecto antibacteriano a diferentes dosis de extracto de *Agave americana* medida en milímetros de sensibilidad de los halos

Tratamiento	N	Media \pm Desviación Estándar (halo en mm)	Max mm	Min mm
T1= 2 mg/mL de extracto de <i>Agave americana</i>	10	6.40 \pm 0.46 d	7.00	6.00
T2= 5 mg/mL de extracto de <i>Agave americana</i>	10	10.40 \pm 2.07 c	14.00	8.00
T3= 7 mg/mL de extracto de <i>Agave americana</i>	10	14.40 \pm 1.58 b	16.00	12.00
T4= 10 ug de Penicilina (Grupo Control)	10	18.60 \pm 0.97 a	20.00	18.00

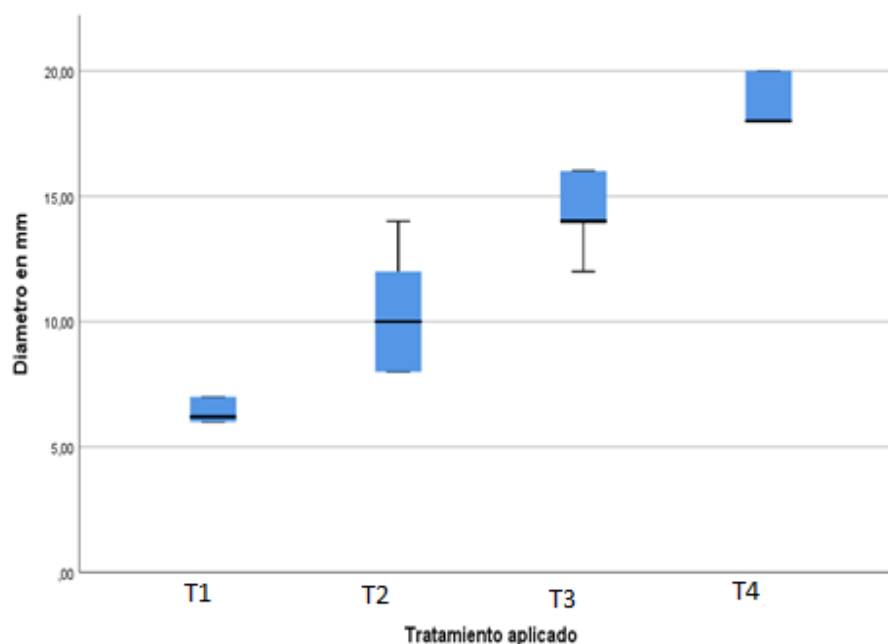
a,b,c,d = estadísticamente significativo ($P < 0,05$) . Prueba de Tukey

Cuadro 8. ANOVA del efecto antibacteriano a diferentes dosis T1, T2, T3 y T4

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	824.300	3	274.767	139.083	0.000
Dentro de grupos	71.120	36	1.976		
Total	895.420	39			



Figura 3. Efecto a diferentes dosis de la solución acuosa de *Agave americana* sobre *Streptococcus spp.*



Fuente (elaboración propia).

La actividad antibacteriana a diferentes dosis de solución acuosa de extracto de *Agave americana*. Se observa que T3 = 7 mg/mL de extracto de *Agave americana* tuvo mayor efecto en comparación con T2 = 5 mg/mL de extracto de *Agave americana* y T1= 2 mg/mL de extracto de *Agave americana* se observa diferencia estadística $p \leq 0.05$. Sin embargo el grupo control todavía muestra mayor efecto que los demás tratamientos lo que nos indica que el extracto acuoso de *Agave americana* no logró superar el efecto del antibiótico control.

4.2. Actividad antibacteriana del T1 extracto de *Agave americana* a 2 mg/mL sobre *Streptococcus spp.*

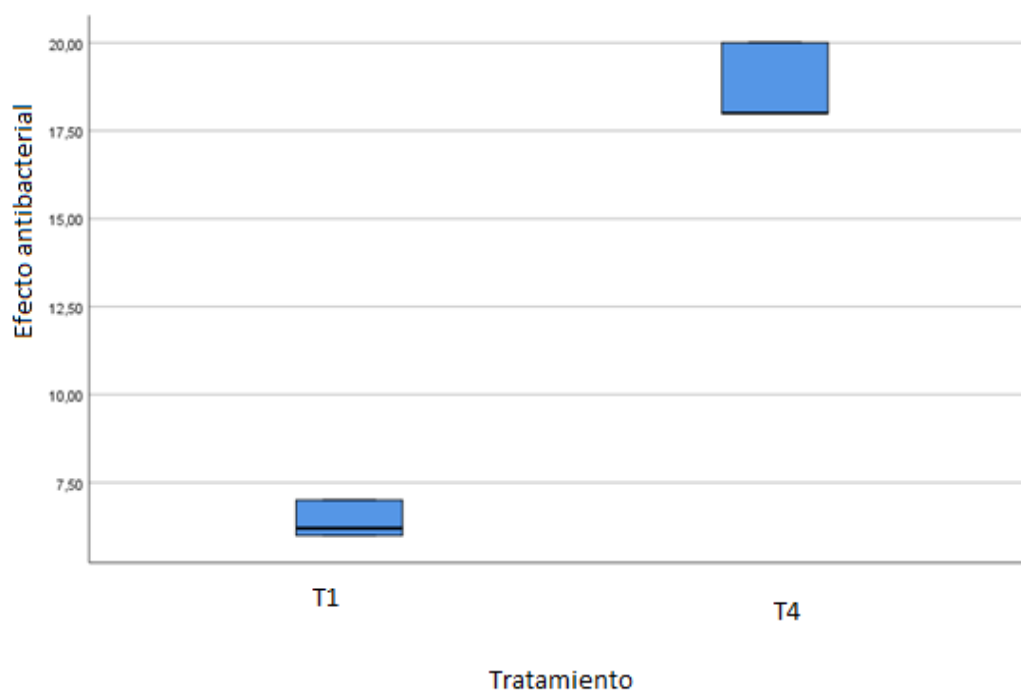
Cuadro 9. Efecto antibacteriano de extracto de *Agave americana* 2 mg/mL y el grupo control, medida de los halos y sensibilidad en milímetros

Tratamiento	n	Media \pm Desviación Estándar (halo en mm)	Max Mm	Min mm
T1= 2 mg/mL de extracto de <i>Agave americana</i>	10	6.40 \pm 0.46 b	7.00	6.00
T4= (Grupo Control)	10	18.60 \pm 0.97 a	20.00	18.00

a,b = estadísticamente significativo ($P < 0.05$).

Cuadro 10. ANOVA del Efecto antibacteriano T1 y T4

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F calculada	Significancia
Entre grupos	824.300	3	274.767	139.083	0.0000
Dentro de grupos	71.120	36	1.976		
Total	895.420	39			

Figura 4. Efecto antibacteriano T1 y T4 de la solución acuosa de *Agave americana* sobre *Streptococcus spp.*

Fuente (elaboración propia).

La actividad antibacteriana en el T1 solución acuosa de extracto de *Agave americana* 2mg / mL y Grupo control (Penicilina 10 ug) *in vitro* sobre *Streptococcus spp.* extraído de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) se presenta en el Cuadro 10. Se observa que T1 tuvo un efecto mínimo en comparación con T4. Resultados con una diferencia estadística significativa $p \leq 0.05$ determinado por ANOVA.

4.3. Actividad antibacteriana del T2 de extracto de *Agave americana* a 2 mg/mL sobre *Streptococcus spp.*

Cuadro 11. Efecto antibacteriano de extracto de *Agave americana* 5 mg/mL y el grupo control, medida de los halos y sensibilidad en milímetros

Tratamiento	N	Media ± Desviación Estándar (halo en mm)	Max Mm	Min mm
T2= 5 mg/mL de extracto de <i>Agave americana</i>	10	10.40 ± 2.07 b	14.00	8.00
T4= 10 ug de Penicilina (Grupo Control)	10	18.60 ± 0.97 a	20.00	18.00

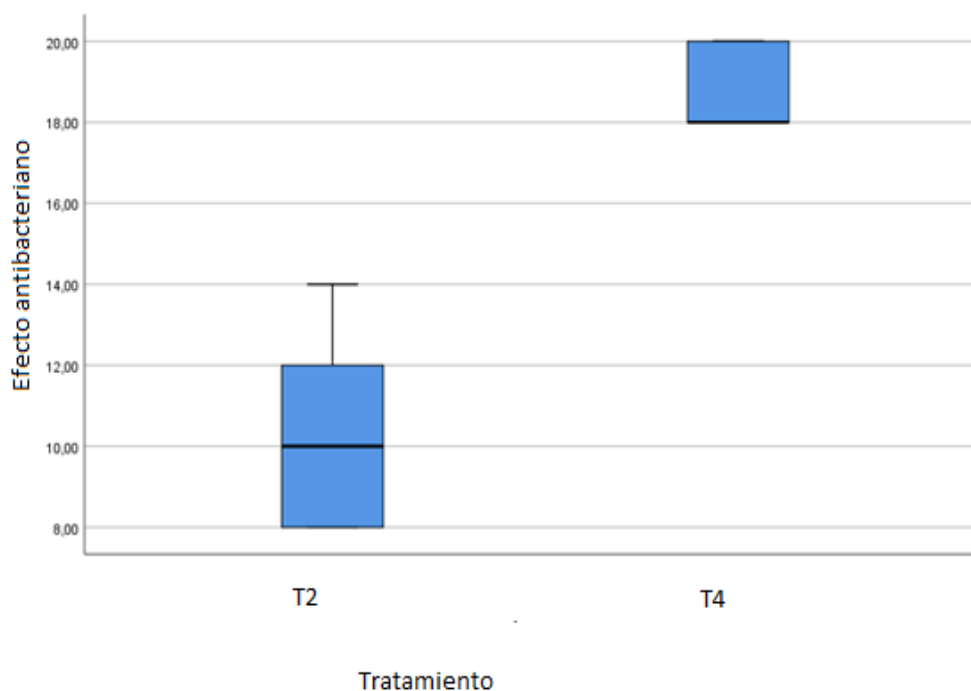
a,b = estadísticamente significativo ($P < 0.05$).

Cuadro 12 ANOVA del efecto antibacteriano T2 y T4

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	336.200	1	336.200	129.308	0.000
Dentro de grupos	46.800	18	2.600		
Total	383.000	19			



Figura 5. Tratamiento 2 en comparación con Grupo control



Fuente (elaboración propia).

La actividad antibacteriana en el T2 solución acuosa de extracto de *Agave americana* 5mg/mL y Grupo control (Penicilina 10 ug) *in vitro* sobre *Streptococcus spp.* extraído de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) se presenta en el cuadro 12. Se observa que T2 tuvo un efecto intermedio de 10.40 ± 2.07 mm de halo en promedio y en comparación con T4 aún es menor, con una diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

4.4. Actividad antibacteriana *in vitro* de extracto de *Agave americana* a 7 mg/mL

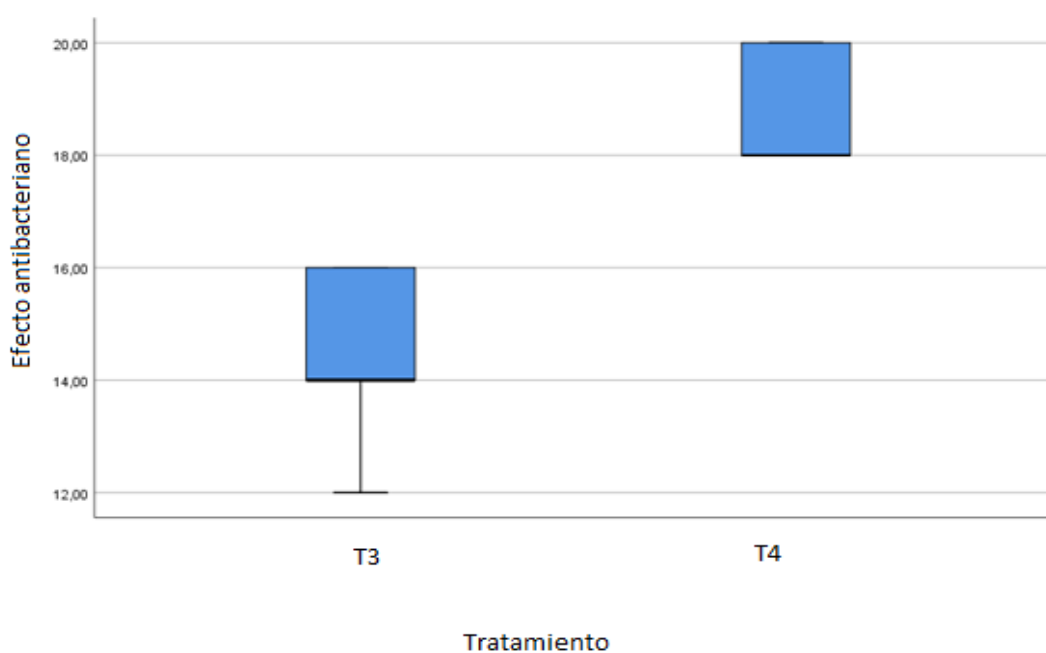
Cuadro 13. Efecto antibacteriano de la solución acuosa de *Agave americana* 7 mg/mL sobre *Streptococcus spp.* medida en milímetros

Tratamiento	N	Media \pm Desviación Estándar (halo en mm)	Max Mm	Min mm
T3= 7 mg/mL de extracto de <i>Agave americana</i>	10	14.40 ± 1.58 b	16.00	12.00
T4= 10 ug de Penicilina (Grupo Control)	10	18.60 ± 0.97 a	20.00	18.00

a,b = estadísticamente significativo ($P < 0.05$) .

Cuadro 14. ANOVA del efecto antibacteriano T3 y T4.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	88.200	1	88.200	51.545	0.000
Dentro de grupos	30.800	18	1.711		
Total	119.000	19			

Figura 6. Tratamiento 3 en comparación con Grupo control.

Fuente (elaboración propia).

La actividad antibacteriana en el T3 solución acuosa de extracto de *Agave americana* 7mg/mL y Grupo control (Penicilina 10 ug) se presenta en el Cuadro 14. Se observa que T3 tuvo un efecto de 14.40 ± 1.58 mm de halo en promedio y en comparación con T4 aún es menor. Resultados con una diferencia estadística significativa $p < 0.05$ determinado por ANOVA.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La actividad antibacteriana a diferentes dosis de solución acuosa de extracto de *Agave americana* T1= 2mg/mL, T2= 5 mg/mL y T3 = 7 mg/mL y T4= grupo control (Penicilina 10 ug) *in vitro* sobre *Streptococcus spp.* extraído de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) se presenta en el cuadro 7. Se observa que T3 = 7 mg/mL de extracto de *Agave americana* tuvo mayor efecto en comparación con T2 = 5 mg/mL de extracto de *Agave* y T1= 2 mg/mL de extracto de *Agave americana* con una diferencia estadística significativa $p \leq 0.05$ determinado por ANOVA y comprobado con la prueba de Tukey. Sin embargo el grupo control todavía muestra mayor efecto que los demás tratamientos lo que nos indica que el extracto acuoso de *Agave americana* no logró superar el efecto del antibiotico control. Este resultado es similar a lo encontrado con (Corrales, 2013) quien encontró 15 mm para *Streptococcus uberis* y 14 mm *Streptococcus sanguis* y 14.50 *S. aureus* con extracto etanolico de *Croton lecheri*. Pero fueron menores a los encontrados por (Cruz, 2010) quien encontró un promedio de 17.66 con valores de 20, 15, y 18 mm para el extracto de *Bidens pilosa* como efecto antibacteriano sobre *S. aureus*. sin embargo nuestros resultados fueron mayores a los encontrados por (Donayre, 2013) quien reportó un halo promedio de 10.72 ± 1.05 mm con el extracto etanólico de hojas de *C. surinamense L.* (huaca) frente a *S. aureus* (De los Ángeles & Verastegui, 2008) quien encontró en extractos de *Agave americana* y *Agave picta* zonas de inhibición de 9 a 13 mm para *Streptococcus piogenes*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* y *V. cholerae* y (Ochoa, 2012) quien reportó 6 mm de halo de diámetro para solución de propóleo y 10 mm de diámetro para *Streptococcus agalactiae* estas diferencias podrían deberse a varios factores como el tipo de solución, los tipos de microorganismos y el grado de resistencia, la naturaleza de la composición de las hojas debido a que dosis graduadas demostraron poseer un mayor en animales experimentales y se pueden usar dosis más altas de hojas de *A. americana* para estudios adicionales. Por lo tanto, las hojas de *A. americana* deben explorarse de manera intensiva para que puedan usarse para tratar diversos trastornos (Misra, 2018). El resultado de la prueba muestra que el extracto de hojas de *Agave americana* tiene buena actividad antibacteriana contra las bacterias Gram negativas y Gram positivas (Krishnaveni, 2017). Es posible que las saponinas esteroidales presentes en los agaves como metabolitos secundarios estén involucrados en los mecanismos de defensa de las plantas contra el ataque de microorganismos especialmente bacterias (Alcázar, 2016). Las saponinas esteroides es decir, (25R) 3 beta, 6 alfa-dihidroxi-5-alfa-Spirostan12 un 3,6 di-O-beta-D-glucopiranosido junto con proteínas, aminoácidos y otros aceites esenciales son las que poseen la actividad antimicrobiana (Babu *et al.*, 2015).



4.5. Actividad antibacteriana del T1 extracto de *Agave americana* a 2 mg/mL sobre *Streptococcus spp.*

La actividad antibacteriana en el T1 solución acuosa de extracto de *Agave americana* 2mg/mL y grupo control (Penicilina 10 ug) *in vitro* sobre *Streptococcus spp.* extraído de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) se presenta en el Cuadro 9. Se observa que T1 tuvo un efecto mínimo en comparación con T4 resultados con una diferencia estadística significativa $p \leq 0.05$ determinado por ANOVA. Este resultado es muy similar a lo encontrado por (Ochoa, 2012). quien reportó 6 mm de halo de diámetro para solución de propóleo a 50, 75, 10 y 125 mg y solución madre de propóleo a 250 con 10 mm de diámetro para *Streptococcus agalactiae* y el control con penicilina 30 mm de diámetro. De igual manera (Rojas, 2005) reportó 7 mm. a 1.25 ug de extractos acuoso acetónico de *Spilantes americana* sobre *Streptococcus hemolitico*, el extracto acuoso mostró una actividad muy leve con diámetros de inhibición de 6 - 10 mm (Babu *et al.*, 2015) menciona que este efecto puede deberse a fitoconstituyentes y a la potencialidad de los extractos de hojas de *Agave americana* de plantas con diversos disolventes como éter de petróleo, cloroformo, metanol y agua presencia de saponinas esteroidales junto con proteínas, aminoácidos y otros aceites esenciales presentes en la solución acuosa.

4.6. Actividad antibacteriana del T2 de extracto de *Agave americana* a 5 mg/mL sobre *Streptococcus spp.*

La actividad antibacteriana en el T2 solución acuosa de extracto de *Agave americana* 5mg/mL y grupo control (Penicilina 10 ug) *in vitro* sobre *Streptococcus spp.* extraído de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) se presenta en el cuadro 11. Se observa que T2 tuvo un efecto intermedio de 10.40 ± 2.07 mm de halo en promedio y en comparación con T4 aún es menor. Resultados con una diferencia estadística significativa $p < 0.05$ determinado por ANOVA. Este resultado coincide con lo encontrado por (Cruz, 2010) quien encontró un promedio de 10.66 mm de halo de sensibilidad con extracto de *Lantana camara* y 10.33 mm para extracto de *Schimus molle* sobre bacterias Gram positivas *S. aureus* con valores de 13, 9, 10 mm. (Donayre, 2013) reportó un halo promedio de 10.72 ± 1.05 mm con el extracto etanólico de hojas de *C. surinamense L.* (huaca) frente a *S. aureus*. (Corrales, 2013) Encontró 12.50 mm para *Streptococcus. agalactiae* con extracto etanolico de *Croton lecheri* (De los Ángeles & Verastegui, 2008) encontró en extractos de *Agave americana* y *Agave picta* zonas de inhibición de 9 a 13 mm para *Streptococcus piogenes*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* y *V. cholerae*. (De los Angeles & Verastegui, 2000) probó la actividad antimicrobiana de extractos de *Agave americana*, *Agave lecheguilla Ton*, *A. cabra*, *A. lophanta*, sobre 15 especies microbianas y bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, 06 fúngicas



Cryptococcus neoformans, *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton tonsurans* y *Sporothrix schenckii*, Este efecto puede deberse a agliconas (manogenina y gentrogenina) de carácter esteroidal unidas a una serie de cadenas de azúcares que posiblemente puedan ser dos nuevas estructuras de saponinas que no se han reportadas hasta el momento en el extracto de *A americana* (Alcázar, 2016). Los extractos acuosos liofilizados obtenidos de *Agave americana* contienen saponinas esteroidales con propiedades antiinflamatorias con efectos sobre edema. Las geninas (saponinas esteroides totales, hecogenina y tigogenina) en los extractos poseen efecto anti edematosos (Peana, 1997).

4.7. Actividad antibacteriana *in vitro* de extracto de *Agave americana* a 7 mg/mL

La actividad antibacteriana en el T3 solución acuosa de extracto de *Agave americana* 7mg/mL y grupo control (Penicilina 10 ug) *in vitro* sobre *Streptococcus spp* extraído de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) se presenta en el cuadro 13. Se observa que T3 tuvo un efecto de 14.40 ± 1.58 mm de halo en promedio y en comparación con T4 aún es menor. Resultados con una diferencia estadística significativa $p < 0.05$ determinado por ANOVA. Este resultado es menor a lo encontrado por (Cruz, 2010) quien encontró un promedio de 17.66 con valores de 20, 15, y 18 mm para el extracto de *Bidens pilosa* como efecto antibacteriano sobre *S. aureus* (Corrales, 2013). Encontró 15 mm para *Streptococcus uberis* 14 mm *Streptococcus sanguis* y 14.50 *S. aureus* con extracto etanolico de *Croton lecheri* (Galarza, 2016) encontró halo de inhibición de 22.5 mm para el extracto oleoso de Arrayán frente a *Streptococcus sanguis* y 17 mm de diámetro para *Streptococcus mutans*. Este efecto puede deberse a flavonoides, cumarinas, flavanona, hecogenina, kammogenina, saponinas esteroideas, tetratriacontanol y homoisoflavonoides, carrageninas, presentes en el extracto hidroalcoholico de *Agave americana* (Misra, 2018). Así como la presencia de componentes fotoquímicos como: proteínas, esteroides, alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (Krishnaveni, 2017).



CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- El mejor efecto antibacteriano *in vitro* de los tres tratamientos con extracto de solución acuosa de *Agave americana* fue con el tratamiento 3 (7 mg/mL) con un diámetro promedio de 14.40 mm de sobre el *Streptococcus spp.* causante de linfadenitis cervical en cuyes.
- El efecto antibacteriano *in vitro* para el tratamiento 1 de 2 mg/mL fue 6.40 ± 0.46 mm de diámetro promedio sobre el *Streptococcus spp.* causante de linfadenitis cervical en cuyes.
- El efecto antibacteriano *in vitro* para el tratamiento 2 de 5 mg/mL fue de 10.40 ± 2.07 mm de diámetro promedio sobre el *Streptococcus spp.* causante de linfadenitis cervical en cuyes.
- El efecto antibacteriano *in vitro* para el tratamiento 3 de 7 mg/mL fue de 14.40 ± 1.58 mm de diámetro promedio sobre el *Streptococcus spp.* causante de linfadenitis cervical en cuyes.
- El efecto antibacteriano *in vitro* para el tratamiento 4 grupos control de 10 ug de Penicilina fue de 18.60 mm de diámetro promedio sobre el *Streptococcus spp.* causante de infadenitis cervical en cuyes.



RECOMENDACIONES

- Realizar trabajos de investigación con soluciones alcohólicas e hidroalcohólicas del *Agave americana* utilizando sus diferentes estructuras, hojas, tallo, fruto.
- Realizar trabajos de investigación con solución acuosa de extracto de *Agave americana* en con otras especies bacterianas causantes de enfermedades en animales y humanos.
- Realizar trabajos de investigación para el tratamiento con extracto de *Agave americana* de la linfadenitis cervical in vivo y utilizar las dosis encontradas
- Probar y comparar el efecto antibacteriano con los demás familias del maguey que existe en nuestra zona
- Realizar comparaciones con otros métodos como extracto metanólico, hidroalcohólico acuosa, etc.
- Realizar reconocimiento del tipo de *streptococcus spp.* en Abancay porque no existe tal estudio en nuestra zona.
- A mayor dosis tiene mayor efecto antibacteriano lo que indica una nueva investigación con más dosis.
- Investigar aplicando dosis de 7mg/mL del extracto acuoso de *Agave americana* como medida de prevención y control para la linfadenitis cervical en cuyes.



BIBLIOGRAFÍA

1. Abbott, Y, Acke, E, Khan, S, Muldoon, E.G., Markey B.K., Pinilla M, Leonard F.C., Steward K, Waller A. Zoonotic transmission of *Streptococcus equi subsp. Zooepidemicus* from a dog to a handler. J Med Microbiol, January 2010, vol. 59 (Pt. 1), p. 120 - 123.
2. Acha P.N., Szyfres B. *Zoonoses and communicable diseases common to man and animals*. Editado por Acha P.N., Szyfres B. 3a ed. Washington DC (USA): PAHO. Scientific and Technical Publication, 2003, pp. 257-265. ISBN 92-75-11991-0.
3. Ahmad V. U., Basha A. (2007) Spectroscopic data of steroid glycosides, Springer. New York
4. Alcázar ,Valle Elba Montserrat. 2016. “Caracterización de Saponinas de *Agave Durangensis*, *A.americana* y *Salmiana* , y Su Efecto En La Pared y Membrana Celular de *Kluyveromyces Marxianus* y *Saccharomyces Cerevisiae* Opción Terminal: Biotecnología Productiva.”
5. Ambuludi, Gualan Manuel Maria. 2012. “Universidad Politecnica Salesiana Sede Cuenca.”
6. Anzai, T, Walker, J.A., Blair, M.B., Chambers, T.M., Timoney, J.F. Comparison of the phenotypes of *Streptococcus zooepidemicus* isolated from tonsils of healthy horses and specimens obtained from foals and donkeys with pneumonia. Am J Vet Res, February 2000, vol. 61, n° 2, p. 162 - 166.
7. Aranibar, Tito Gledy Mabel. 2014. “Efecto inhibitorio de la saponina de quinua (*Chenopodium quinoa willd.*) en la flora fúngica natural e inducida de *Penicillium digitatum* en naranjas .
8. Arriaga, Maria;, and Cristina. Ramos. 2007. “Infección Perinatal Por Estreptococo Del Grupo B (Profilaxis).”: 1–6.
9. Artigao, F Baquero; T Rosal; Rabes, and M J García. Miguel. 2010. “Adenitis Cervical.” Protocolos diagnóstico - terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica.
10. Ayón, Peña Yaneth 2007. Estudio etnofarmacológico de las diferentes especies de *Agave* en la medicina tradicional del estado de Hidalgo. Tesis de Farmacia. Universidad del Estado Hidalgo. Mexico.
11. Ávila, L.; Baquero, E.; Viña, A.; Murrillo, E. 2006. Actividad antibacteriana de *Diplostephium tolimense* Cuatrec. (Asteraceae) frente a *Staphylococcus aureus*. Vitae. 3(1):55-60.
12. Boxmeyer, C.H. Epizootic lymphadenitis. A new disease of guinea-pigs. J Infect Dis, November 1907, vol. 4, n° 4, p. 657-664.



13. Babu, M P, Raman Dang, and Kuntal Das. 2015. "Phytochemical Investigations and Characterization of Antimicrobial Activity of Bioguided Fractionated Leaves of *Agave americana L.*" 4(1): 61- 67.
14. Brack, E. A. (2000). Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas. Cuzco, Perú.
15. Chauca, L. 2002. "Desarrollo de La Crianza de Cuyes En Latinoamérica. En: resúmenes. XXV Reunión Científica de La Asociación Peruana de Producción Animal. Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional 'Pedro Ruiz Gallo'. Lambayeque, Perú."
16. Chauca, Zaldívar Lilia. 1997. Producción de Cuyes (*Cavia Porcellus*).
17. Concha, Monroy Daniela Vianey. 2014. "Identificación de La Etiología de Abscesos Subcutáneos (Linfadenitis) En Cuyes (*Cavia Porcellus*) En Etapa de Crecimiento Mediante Aislamiento Microbiológico. En La Sección d-2 de La Irrigación de Majes – 2013." : 1.
18. Correa Nieto Ramon (1999) V Curso Latinoamericano de Cuyicultura, octubre 1999, Venezuela.
19. Corrales, L. 2013. Evaluación del potencial antibacterial *in vitro* de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas - Issn: 1794-2470 - Vol. 11 No. 19
20. Cruz ,A. 2010. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient. 13 (2): 117-124.
21. Davidson, Judith R, and Bernard R. De Montellano Ortiz. 1983. "The Antibacterial Properties of an Astec Wound Remedy." 8: 149–61.
22. De los Angeles Verastegui, 1996 J.S., Antimicrobial activity of extracts of agave and three major plants form the Chihuahuan desert. J. Etnopharmacol) 52(3):175-7
23. De los Angeles Verastegui, Montemayor 2000. "Evaluación de La Actividad Antimicrobiana' de Compuestos de Agaves y Su Acción Sobre El Tigmotropismo y Dimorfismo de *Candida Albicans*." Universidad Autonoma de Nuevo Leon: 1.
24. De los Angeles, Verástegui; et al. 2008. "Species of Agave with Antimicrobial Activity against Selected Pathogenic Bacteria and Fungi." World Journal of Microbiology and Biotechnology 24(7): 1249–52.
25. Dini, I, O. Schettino, T. Simioli, and A. Dini. 2001. "Studies on the Constituents of *Chenopodium Quinoa* Seeds: Isolation and Characterization of New Triterpene Saponins. Agriculture and Food Chemistry.": 49, 741–46.
26. Dominguez, X. A. 2003. Métodos de investigacion fitoquímica y fitoterapia Ed. Limusa Mexico.



27. Donayre M, 2013. “Actividad Antibacteriana del Extracto Etanólico de hojas y tallo de *Clibadium surinamense* L. (Huaca) Mediante el Método de difusión en disco (Kirby-Bauer)” Tesis Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional de la Amazonía Peruana
28. Duraffourd C, D' hervicourt L, La praz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1° edición. París: editorial Masson SA; 1983.
29. Farrar, We; Jr; Kent, and Th. Elliot. 1966. “Vr Gramo Lethal Bacteriana Negativa Superinfección En Cobayas Dado Bacteracin. J. Bact.” 92: 496.
30. Fernandez, A. L. 2005. " Propiedades Fitoquímicas del Agave" Cholula Puebla Mexico
31. Fulde, M., Valentin-Weigard, P. Epidemiology and pathogenicity of zoonotic streptococci. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2013, 368, p. 49-81.
32. Galarza D, 2016 “*Myrtus communis* como alternativa natural sobre cepas de microorganismos bucales: *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis* KIRU. Facultad de Odontología. Universidad Central del Ecuador; 13(1):45-50.
33. Gentry, H. S. 1982. “*Agave americana*.”
34. Gonzáles - Elizondo M., López - Enrique L., González - Elizondo S., Tenla - Flores J. Plantas Medicinales del Estado de Durango y zonas aledañas. Dirección de publicaciones del Instituto Politécnico Nacional, México 2004
35. Gould, G.W. (1995). Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *Journal of Food Protection* 45: 82-86.
36. Goldman, P. 2001. Herbal medicines today and the roots of modern pharmacology *Ann. Intern. Med.* 16; 135(8): 594-00.
37. Guclu, Ustundang O, and G Mazza. 2007. “Saponins: Properties, Applications and Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47.” (231–258.).
38. Guerra, León César R. 2009. Manual Tecnico de Crianza de Cuyes.
39. Guillot, Ortiz Daniel ; Piet Van Der; Meer, and Emilio Laguna. Lumbreras. 2009. El Género *Agave* L. En La Flora Alóctona Valenciana.
40. Grayer, R.J. y J.B. Harborne (1994). A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry* 37: 19-42.
41. Halberstein, R.A. 2005. Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns *Ann. Epidemiol.* 15(9): 686-99.
42. Harkness, Je, and Je Wagner. 1983. “La Biología y La Medicina de Conejos y Roedores.”
43. Hawkins, MG & Bishop, CR. 2012. “Disease Problems of Guinea Pigs. Chapter 23. Section III Guinea Pigs and Chinchillas, Ed St. Louis: WB Saunders.” (295–310).
44. Heftmann, E. 1963. “Bichemistry of Plant Steroids. *Annual Reviews Plant Physiology*.” (14: 225-248.).



45. Hernandez Diaz Lizet, 2001. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. Rev Cubana Plant Med. 6(2): 44 – 47.
46. Iannacone, José *et al.* 2013. “Toxicidad de Los Bioplaguicidas *Agave americana*, *Furcraea Andina* (Asparagaceae) y *Sapindus Saponaria* (Sapindaceae) Sobre El Caracol Invasor *Melanoides Tuberculata* (Thiaridae).” 7(2): 231–41.
47. Kahn, Cynthia. 2007. “Manual Merck de Veterinaria. Barcelona España : Oceano.”: 978-84-7841-079-8.
48. Koneman, 2006. “Diagnostico Microbiológico texto y atlas en color 6ta Edición. Edit. Panamericana.
49. Krishnaveni, V. 2017 Investigation of phytochemical and anti-bacterial activity on *Agave americana* methanolic extract for medical applications Int J Pharm Bio Sci; 8(3): (B) 500 –505
50. Lavado, M.A. Análisis fisicoquímico de la cabuya azul. Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial 18(1): 98-100 (2015) UNMSM.
51. Leroux, P., F. Chapeland, D. Desbrosses y M. Gredt (1999). Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards- Biological and Chemical Approaches. Crop Protection 18: 687-697.
52. Lizcano, A, 2008 Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos . Pontificia Universidad Javeriana facultad de Ciencias Microbiología Industrial, Bogotá – Colombia
53. Molina, Nogales Adán Javier. 2012. “Microorganismos Eficientes Autoctonos (EMAs) En La Productividad Del Cuy.”
54. Morales, Cauti Siever. 2016. “Tratamiento y Control de Principales Enfermedades de Cuyes.” Avances y perspectivas en la producción de cuyes: 1–59.
55. Morales, cauti Siever. 2017 "Composición y características de la orina en cuyes (*Cavia porcellus*) con linfadenitis cervical" REDVET - Revista electrónica de Veterinaria - ISSN 1695-7504
56. Nicklas, W; et al. 2002. “Recommendations for the Health Monitoring of Rodent and Rabbit Colonies in Breeding and Experimental Units.”
57. https://es.wikipedia.org/wiki/Agave_americana.
58. <https://es.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>.
59. Ochoa, Isaí. 2012, “Actividad Terapeutica de Propoleo en el tratamiento de mastitis clínica bovina en el establo lechero San Isidro, Cañete 2011-2012”. Tesis FMVZ UNAMBA Apurimac- Peru.



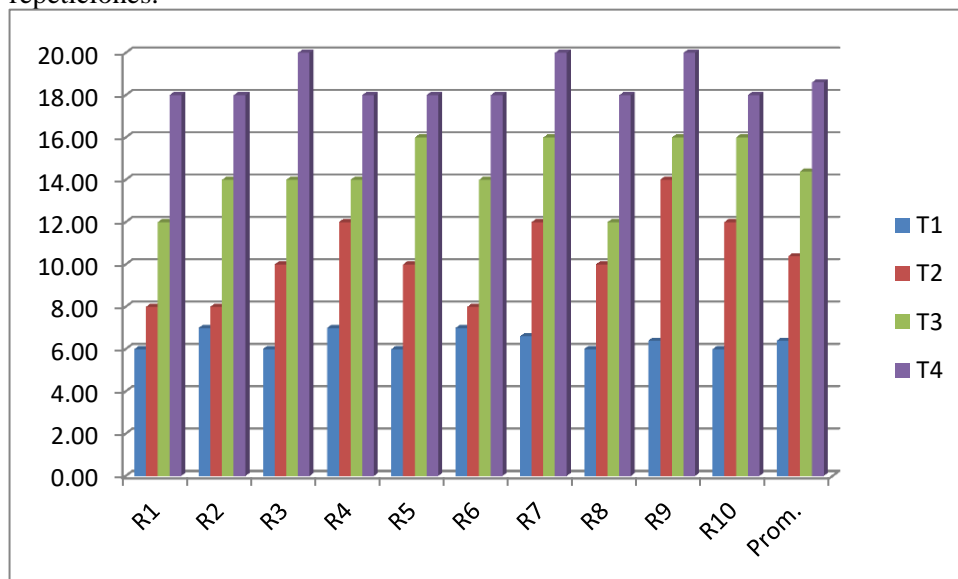
60. Oglesbee, Barbara L. 2008. "La consulta veterinaria en 5 minutos hurones y conejos. Buenos Aires : INTER-Medica Editoriales, 2008.": 978-950-555-343-3.
61. Oleszek, W., and Z. Bialy. 2006. "Chromatographic Determination of Plant Saponins-an Update (20022005). Journal of Chromatography a 62."
62. OMS, 2004. Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. WHO/CDS/CSR/RMD/2004.6 Original: inglés.
63. OMS. 2001. Strategy to contain resistance to antimicrobial drugs. Rev.Panam. Salud Pública 10(4):284-294.
64. Peana, A.1997 Anti-Inflammatory Activity of Aqueous Extracts and Steroidal Sapogenins of *Agave americana* Pianta Med. 63 (1997),195-290, No. 3,june 1997
65. Percy, D., and S. Barthold. 2001. "Laboratorio de Patología de Roedores y Conejos. 2da Ed, Iowa State University Press, Ames. 260 P." : 2001.
66. Peris, S. y Asensio, J.J. 2002. Organic acids plus botanicals. Feed Int. March: 17-19
67. Pino, GI. 2006. "Estado Actual de Las Suculentas En El Perú. Zonas Áridas, Vol. 10, Pp. 155- 173. *Agave americana* L. Subsp. *americana* Var. *Expansa* (Asparagaceae) Conocida Comúnmente Como Cabuya, Maguey, Cabuya Azul o Penca Azul, Es Una Planta Grande Con Hojas En Ros." 10: 2006.
68. Radostits, Otto, Clive Gay, Douglas Blood, and Kenneth. Hinchcliff. 2002. "Medicina Veterinaria-Tratado de Las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. aravaca Madrid : McGraw-hill-interamericanade España, S.A.U., 2002." : 494. 84-486-0319-2.
69. Ramirez, Felipe. 2006. "Vademécum veterinario. Bogota Colombia : Grupo Latino Ltda., 2006." : 8203.
70. Rojas J, 2004.Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. BLACPMA.Volumen4,n 2, p. 28.Colombia.
71. Ruiz,Martha 2000 Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies Burseraceas frente a microorganismos. Departamento Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C, Pág. 40
72. Misra AK, Varma SK.2018. Anti-inflammatory Effect of an Extract of *Agave americana* on Experimental Animals Pharmacognosy Res. 2018 Jan-Mar; 10(1): 104-108.
73. Saiz, L;, J; García, and C. Compaire. 1983. "La Ciencia de Los Animales de Laboratorio. In: Animales de Laboratorio. INIAE. Madrid, España." : 596.
74. Sanches, Cristian R. 2002. "Crianza y Comercialización de Cuyes, Alimentación e Infraestructura, Reproducción y Manejo de La Produccion, Productos y Sanidad. San Juan de Lurigancho. Lima-Perú : RIPALME." : 9, 83, 89. 9972-9641-0-8.

75. San martín, B.; Bravo, B.; Borie, C. 2005. Evaluación de la resistencia antimicrobiana en ganado bovino en Chile, utilizando *E. coli* como bacteria indicadora. Arch. Med. Vet. (Chile). 37(2):117-123
76. Seastone, C. 1939. "The Virulence of Hemolytic Streptococci of Animal Origin." 4(70): 1939.
77. silva, D.A.J.G. 2013. "Crianza de Cuyes. En Cuyes: Curso- Produccion de Animales Menores. EAP.MV-FCA. UNSM-T, Tarapoto-Peru." : 2013.
78. Sparg, S. G., M. E. Light, and Staden J. Van. 2004. "Biological Activities and Distribution of Plant Saponins. Journal of Ethnopharmacology 94." (219–243.).
79. Torres, P.A. 2011. "Identificación de La Principales Sapogeninas de Una Fracción Apolar Obtenida de La Hidrolisis de Un Extracto Acuoso de Quillaja Saponaria Mol. y Su Actividad Frente a La Enzima Glicógeno Fosforilasa A. Tesis de Grado Para Obtener El Grado de Químico Farma."
80. Villavicencio, N. M. 2003. "Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo. Universidad Autonoma del estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Biologicas. Mexico" p.53-54
81. Wagner, E. 1999. "Cobayos. Patología de Los Animales de Laboratorio. Zaragoza: Acribia." : 134.
82. Yang, Z. F., M. M. Xi, and A. D. Wen. 2014. "Antihyperglycemic, Hypolipidemic and Antioxidant Activities of Total Saponins Extracted for *Aralia Taibaiensis* in Experimental Type 2 Diabetic Rats. Journal of Ethnopharmacology." (152: 553-560.)
83. Yocusada, A Mimaki, Y. Kuroda M .Yashida. A new steroidal saponin from the leaves of *Agave americana*. Planta medica Mayo 2002 66(4):393-6.



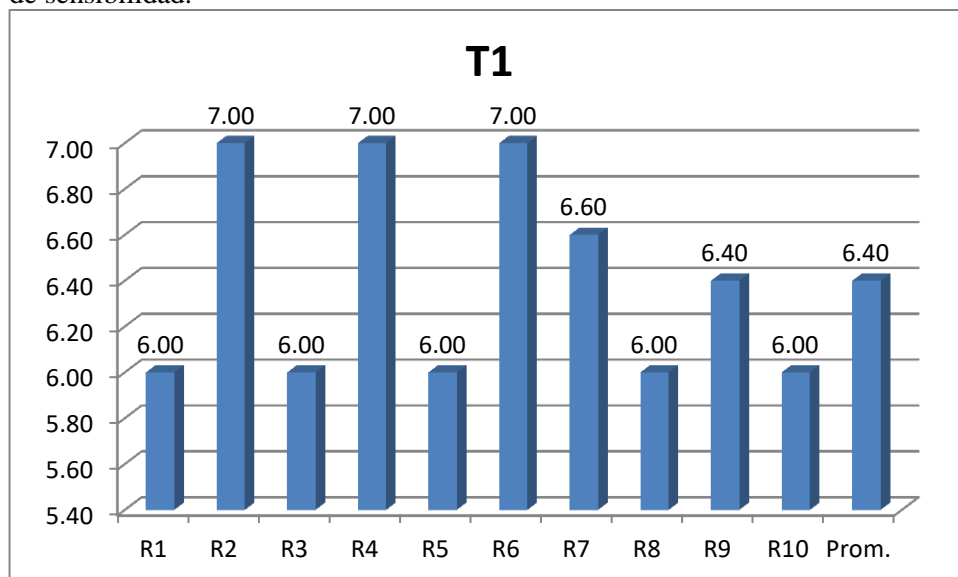
ANEXO

Anexo 1. Efecto a diferentes dosis de la solución acuosa de *Agave americana* sobre *Streptococcus spp.* Medida del diámetro en milímetros con sus respectivas repeticiones.



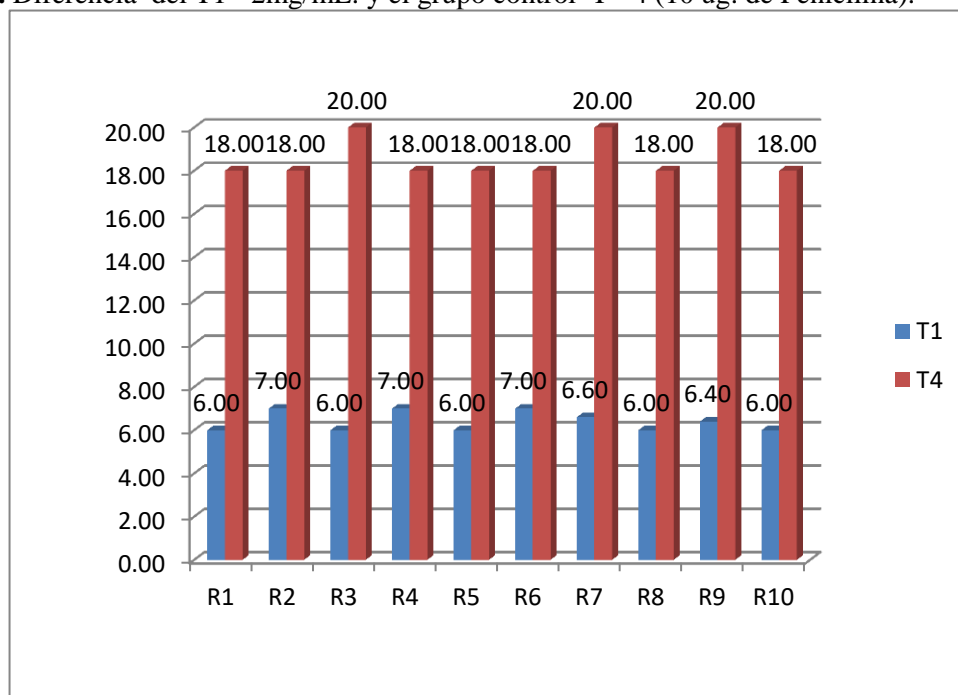
Fuente (elaboración propia).

Anexo 2. Efecto a T1 = 2 mg/ mL de la solución acuosa de *Agave americana* sobre *Streptococcus spp.* medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.



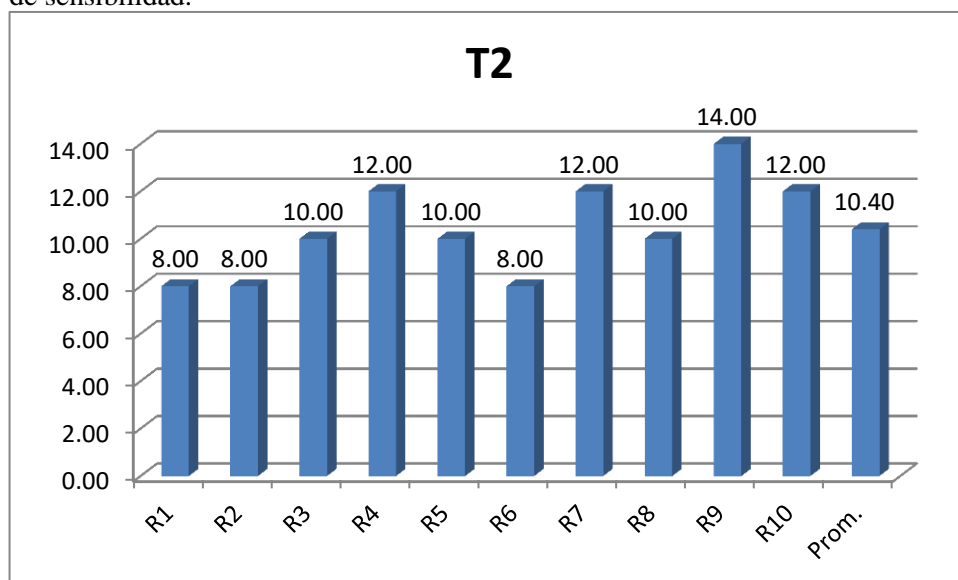
Fuente (elaboración propia).

Anexo 3. Diferencia del T1= 2mg/mL. y el grupo control T= 4 (10 ug. de Penicilina).



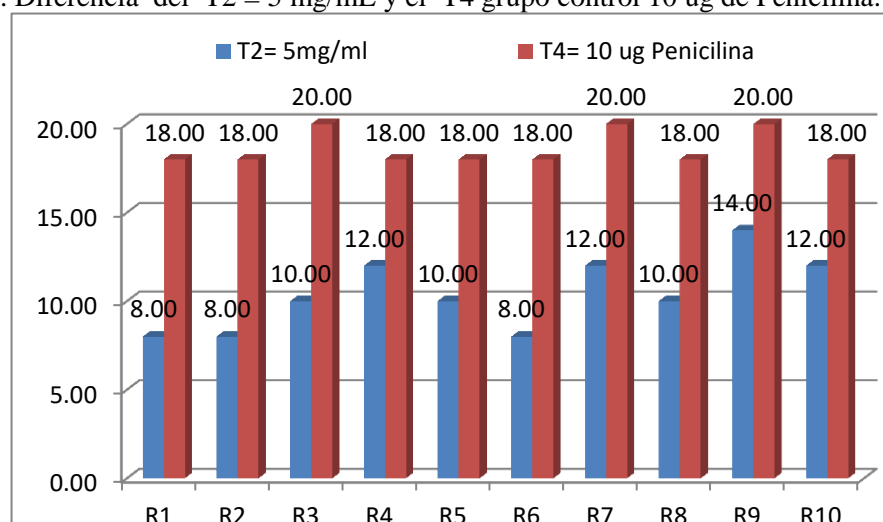
Fuente (elaboración propia).

Anexo 4. Efecto de la solución acuosa de *Agave americana* T2 = 5mg/mL sobre *Streptococcus spp.* medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.



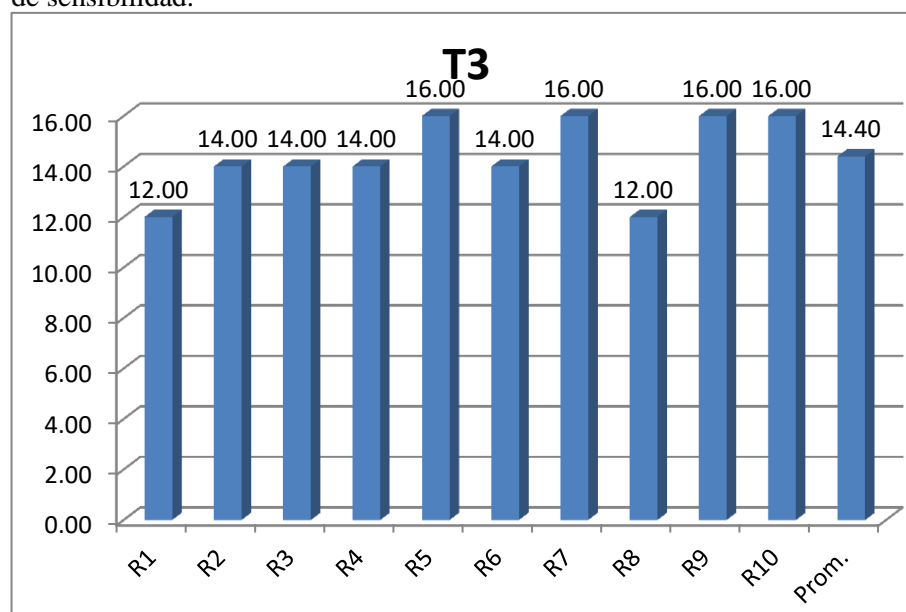
Fuente (elaboración propia).

Anexo 5. Diferencia del T2 = 5 mg/mL y el T4 grupo control 10 ug de Penicilina.



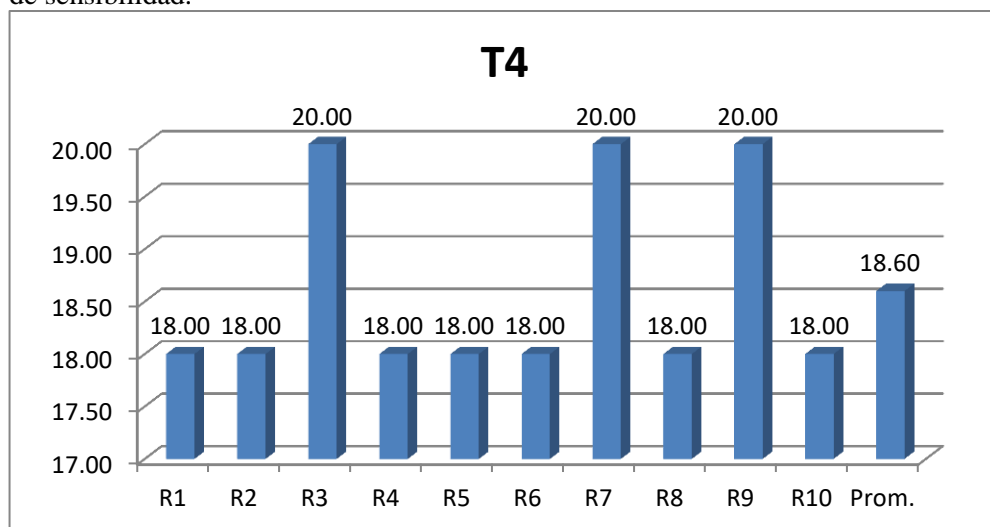
Fuente (elaboración propia).

Anexo 6. Efecto de la solución acuosa de *Agave americana* T3 = 7 mg/mL sobre *Streptococcus spp.* medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.



Fuente (elaboración propia).

Anexo 7. Efecto antibacteriano de T4 grupo control, 10 ug de Penicilina sobre *Streptococcus spp.* medida en milímetros considerando el diámetro del disco de sensibilidad.



Fuente (elaboración propia).

Anexo 8. Recolección de las hojas de *Agave americano*.



Anexo 9. Preparación de extracto, triturado de la hoja y secado en estufa del *Agave americano*



Anexo 10. Preparación de solución acuosa



Anexo 11. Filtración para separar la solución del soluto.



Anexo 12. Obtención de dosis de 2mg 5mg 7mg en tubos de ensayo.



Anexo 13. Obtención de *Streptococos spp. in vitro* de cuy vivo infectado.



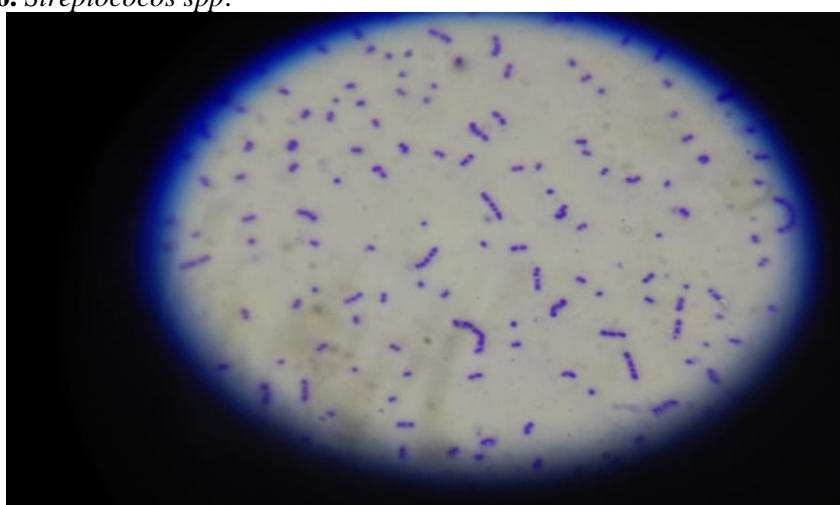
Anexo 14. Cultivo en caldo nutritivo.



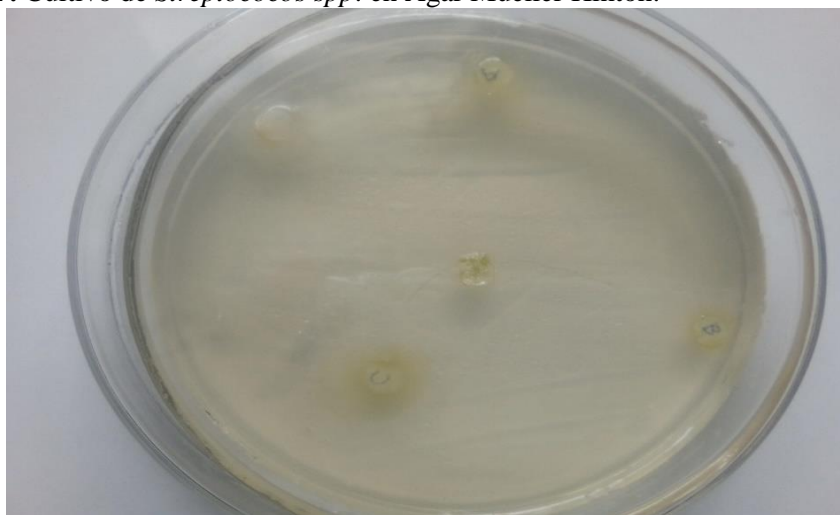
Anexo 15. Aislamiento de *Streptococcus spp.* en Agar Sangre.



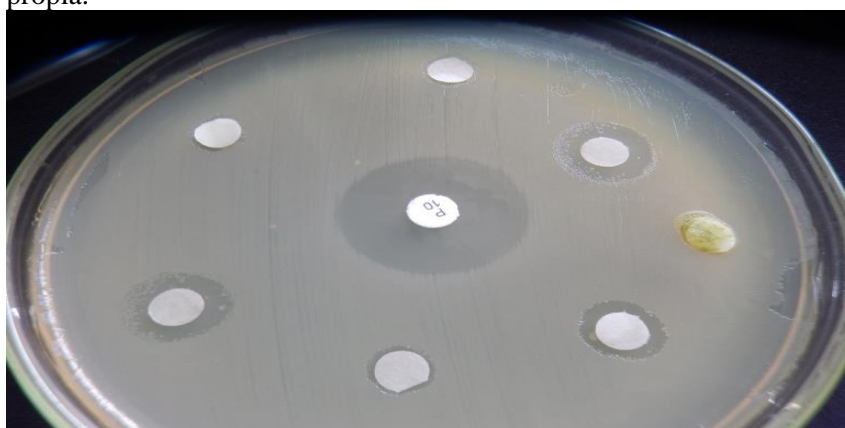
Anexo 16. *Streptococcus spp.*



Anexo 17. Cultivo de *Streptococos spp.* en Agar Mueller Hinton.



Anexo 18. Exposición del extracto empapado en disco de sensibilidad de elaboración propia.



Anexo 19. Resultado final.

