



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“CAPACIDAD DE INHIBICIÓN BACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO
ACUOSO DE AJO (*Allium sativum*) SOBRE LA MICROBIOTA BUCAL,
CECAL Y RECTAL DEL CONEJO”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A N:

**DAVID MEDINA MIRANDA
OSIRIS FUENTES CACHO**

ASESORES:

DRA. MARÍA ANTONIA MARIEZCURRENA BERASAIN
M. EN C. HÉCTOR DANIEL ARZATE SERRANO
M. EN A. EDUARDO NAVA NAVA

REVISORES:

Dr. Jorge Acosta Dibarrat
M. en C. Ada Elia Díaz-González Borja



Toluca, México; enero de 2018

DEDICATORIAS

A DIOS

Porque gracias a él he llegado hasta este momento, por la salud y los días de vida que me ha obsequiado a lado de los seres que amo.

A MI PADRE

David Medina Cervera que desde el cielo vigila cada uno de mis pasos protegiendo mi andar, siempre te llevo en mi corazón.

A MI PRIMO

Edgar Ricardo Peña Plata quien me acompaño en este proceso como el hermano que siempre quise, gracias por tu amistad primo, que dios te tenga en la gloria siempre estarás presente en mi corazón.

A MI MADRE

Felipa Miranda Pérez, quien ha sido madre y padre al mismo tiempo en el trayecto de mi vida, por la educación y valores que me inculcaste, por todo ese amor que a diario me demuestras, por todo tu apoyo incondicional, porque gracias a ti me he convertido en la persona que soy, gracias a ti mamita he llegado hasta este momento, te amo con todo mi corazón. Muchas gracias.

A MIS ABUELITOS

Tiburcio Miranda Plata y Carmen Pérez Jiménez, porque han sido parte fundamental en mi formación personal y profesional, por todos sus consejos, amor y apoyo que me han brindado, los amo abuelitos.

A MI FLAQUITA

Dalia Plata García, quien ha estado conmigo en los momentos más difíciles de mi vida, con quien he compartido alegrías, tristezas y enojos, por todo el apoyo y

amor que me has demostrado, por darme el mejor de los regalos, mi princesita Aurora. Te amo demasiado.

A MI HIJA

Aurora Medina Plata quien se convirtió en mi inspiración para poder llegar hasta este momento, a ti princesita hermosa que le diste un giro a mi vida de 360 grados, te amo como jamás imagine amar.

A MI AMIGO

Rolando Valentín Benítez Sánchez, por su valiosa amistad y por todo el apoyo brindado además de los valiosos consejos que me han orientado a ser una mejor persona. Muchas gracias.

A MIS TIOS

Severiano Miranda Pérez, eres de los mejores amigos que tengo, gracias por tus consejos, amor y apoyo brindado, te quiero mucho tío.

Regino García Carrasco y Helda Araceli Miranda Pérez, por todo su amor, por su apoyo incondicional y sus consejos, por todos los momentos de alegría que pasó a su lado. Los quiero mucho.

A MIS ASESORES

Dra. en C. María Antonia Mariezcurrena Berasain, M. en C. Héctor Daniel Arzate Serrano y M. en A. Eduardo Nava Nava, por todo el apoyo brindado para la realización del presente trabajo. Muchas gracias, que dios los bendiga siempre.

David Medina Miranda

DEDICATORIAS

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A las personas que me ayudaron en mi tesis

Por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis; a la Dra. María Antonia Mariezcurrena Berasain, M. en C. Héctor Daniel Arzate Serrano, M. en A. Eduardo Nava Nava, Mvz. David Medina Miranda

Osiris Fuentes Cacho

AGRADECIMIENTOS

A MI FACULTAD

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UAEMex por albergarme durante este tiempo y haberme brindado todo lo necesario para mi formación académica.

AL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS EN SALUD ANIMAL (CIESA)

En especial al departamento de Sanidad Acuícola por el gran apoyo para la realización de la presente investigación.

David Medina Miranda

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis es un esfuerzo conjunto en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad, por lo cual merecen las gracias porque sin su valiosa aportación no hubiera sido posible este trabajo.

Agradezco a Dios por permitirme realizar otra meta más en mi carrera a cada uno de mis maestros que participaron en mi desarrollo profesional durante mi carrera, compartiendo sus conocimientos, experiencias y formar parte de lo que ahora soy.

A mi madre que me apoyo en todo momento en las decisiones que he tomado y económicamente para solventar toda mi carrera, por haberme demostrado su cariño y comprensión en los momentos más difíciles durante todo el trayecto.

A mis amigos que formaron parte de mi vida como estudiante y que continúan siendo mis amigos, por estar conmigo en cada materia que cursamos juntos y que me acompañaron en cada situación y yo a ellos sin ellos la carrera hubiera sido aburrida gracias Claudia, Erik, Juan, Román, Ernesto.

Osiris Fuentes Cacho

**CAPACIDAD DE INHIBICIÓN BACTERIANA
in vitro DEL EXTRACTO ACUOSO DE AJO
(*Allium sativum*) SOBRE LA MICROBIOTA
BUCAL, CECAL Y RECTAL DEL CONEJO**

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIAS	II
DEDICATORIAS	IV
AGRADECIMIENTOS	V
AGRADECIMIENTOS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE CUADROS.....	XII
DEDICATORIAS	XIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. PLANTAS ANTIMICROBIANAS	3
2.1.1. <i>Historia de las plantas medicinales</i>	3
2.2. EL AJO (ALLIUM SATIVUM)	4
2.2.1. <i>Aspectos generales</i>	4
2.2.2. <i>Propiedades antimicrobianas</i>	5
2.2.2.1. <i>Actividad antibacteriana</i>	6
2.2.2.2. <i>Actividad antifúngica</i>	6
2.2.2.3. <i>Actividad antiparasitaria</i>	6
2.2.2.4. <i>Inhibición bacteriana del ajo</i>	7
2.3. TRACTO DIGESTIVO DEL CONEJO.....	8
2.3.1 <i>Anatomía digestiva</i>	8
2.3.2 <i>Fisiología digestiva</i>	11
III. JUSTIFICACIÓN	15
IV. HIPÓTESIS	16
V. OBJETIVOS.....	17
GENERAL	17
ESPECÍFICOS	17
VI. MATERIAL.....	18
MATERIAL BIOLÓGICO	18
MATERIAL DE MUESTREO	18
MATERIAL DE LABORATORIO.....	18

VII. MÉTODO.....	20
PREPARACIÓN DEL EXTRACTO.....	20
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
MUESTREO.....	21
SIEMBRA Y AISLAMIENTO BACTERIANO.....	21
CAPACIDAD DE INHIBICIÓN.....	21
VIII. LÍMITE DE ESPACIO.....	23
IX. LÍMITE DE TIEMPO.....	24
X. RESULTADOS.....	25
XI. DISCUSIÓN.....	29
XII. CONCLUSIÓN.....	34
XIII. SUGERENCIAS.....	35
XIV. REFERENCIAS.....	36
XV. ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía del sistema digestivo del conejo	9
Figura 2. Esquema de la digestión del conejo	13
Figura 3. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> aislada de boca de conejo	43
Figura 4. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Acinetobacter lwoffii</i> aislada de boca de conejo	43
Figura 5 Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> aislada de boca de conejo	43
Figura 6. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Pantoea aagglomerans</i> aislada de boca de conejo.....	44
Figura 7. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> aislada de boca de conejo	44
Figura 8. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Pantoea aagglomerans</i> aislada de boca de conejo.....	44
Figura 9. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Shigella</i> sp aislada de boca de conejo	45
Figura 10. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Shigella</i> sp aislada de ciego de conejo.....	45
Figura 11. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> aislada de ciego de conejo	45
Figura 12. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> aislada de ciego de conejo	46
Figura 13. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Shigella</i> sp aislada de ciego de conejo	46
Figura 14. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> aislada de ciego de conejo	46

Figura 15. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ano de conejo 47

Figura 16. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ciego de conejo 47

Figura 17. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ciego de conejo 47

Figura 18. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Pantoea agglomerans* aislada de ano de conejo 48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición en 100 g de ajo fresco	10
Cuadro 2. Inhibición bacteriana en milímetros (mm) de dos concentraciones de extracto acuoso de ajo	25
Cuadro 3. Clasificación de las bacterias en la concentración 0.125g/mL de EAA de acuerdo al diámetro del halo de inhibición (mm) según la CLCI 2012.	26
Cuadro 4. Clasificación de las bacterias en la concentración 0.0625g/mL de EAA de acuerdo al diámetro del halo de inhibición (mm) según la CLCI 2012	28

DEDICATORIAS

AGRADECIMIENTOS

I. INTRODUCCIÓN

La producción de conejo en México, mantiene una posición marginal, situación influenciada por los hábitos de consumo de la población, así como por los precios (OIEDRUSBC, 2009). Sin embargo, el Estado de México es el principal productor y consumidor de carne de conejo dentro del cual Texcoco, reporta el mayor consumo nacional 250 g/habitante/año (SAGARPA, 2012), razón por la que esta especie está tomando importancia en el ámbito de la investigación.

El uso indiscriminado de antibióticos sintéticos ha ocasionado el desarrollo de resistencia bacteriana. Hoy en día en la búsqueda de nuevas alternativas a los antibióticos se presta más atención al estudio de plantas medicinales de forma etno-farmacológica (Sánchez, 2013). Después de que la industria farmacéutica se dedicó exclusivamente a la fabricación de fármacos de síntesis, dejó atrás las antiguas medicinas que tenían como base los extractos de plantas medicinales, provocando un cambio cualitativo en los programas industriales con dedicación a la búsqueda de nuevos medicamentos de origen herbario, ya que los agentes antimicrobianos de origen vegetal no contribuyen hasta el momento, al desarrollo de cadenas de resistencia bacteriana (Ruiz y Roque, 2009).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Nychas *et al.*, 1998).

El ajo (*Allium sativum*) es un antimicrobiano natural, caracterizado por su alto contenido de compuestos sulfurados secundarios, los cuales le otorgan una amplia gama de propiedades nutraceuticas (López, 2007). Diferentes presentaciones de ajo han demostrado tener un amplio espectro de actividad

antibacteriana contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, incluyendo especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, y *Clostridium* (Gebreyohanne y Gebreyohanne, 2013). Por otra parte Deresse (2010), comprobó el potencial antibacteriano de extractos de ajo exhibiendo la actividad contra bacterias Gram negativas (*E. coli*, *Salmonella spp*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*) así como Gram positivas (*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *Estreptococos* del grupo A y *Bacillus anthracis*) causantes de morbilidad en todo el mundo.

El estudio de plantas medicinales sigue vigente y busca resolver problemas como la resistencia que han desarrollado diversos microorganismos a los antibióticos. Es por esto que el objetivo del estudio, es evaluar la capacidad de inhibición bacteriana *in vitro* del extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*) de la microbiota bucal, cecal y rectal de conejos en una producción comercial (CUNINEZA).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Plantas antimicrobianas

Desde los inicios de la humanidad la medicina tradicional se estableció a través de errores y aciertos, utilizada en la prevención, diagnóstico y eliminación de desequilibrios físicos, mentales o sociales, obtenidas exclusivamente sobre la experiencia, práctica y observación, empirismo transmitido a través de generación en generación (Hernández y Gally, 1989).

La utilización de fuentes naturales de medicamentos y de la fitoterapia, se justifica por razones económicas, disminución de efectos tóxicos crónicos muy frecuentes en sustancias químicas, teniendo mayor tendencia en los países desarrollados al retorno del empleo de productos naturales en el tratamiento de diversas afecciones (Morin y Bastide, 1983).

2.1.1. Historia de las plantas medicinales

La Biblia describe cerca de 200 plantas de uso medicinal. El papiro de Ebers, (escrito hace 3.500 años), describe enfermedades e indicaciones para curarlas mediante especies vegetales. En los siglos XII y XIII, la Escuela Árabe y la de Salerno en Italia, prescribían numerosas drogas vegetales de las cuales muchas son utilizadas hoy en día. El Códice De la Cruz Badiano, escrito en 1.552 por el indio Xochimilca Martín de la Cruz, contiene el tesoro herbolario de los antiguos mexicanos (Somolinos Palencia, 1990).

Hipócrates, el padre de la medicina, también prescribía ajos para el tratamiento de un considerable número de síntomas y/o enfermedades en la Antigua Grecia. Los chinos también utilizaban los bulbos de ajo ingiriéndolo en ayunas para desintoxicar su organismo (Brown, 2001).

Luis Pasteur, uno de los científicos más reconocido dentro de la Medicina convencional, en 1858 estudió los efectos del ajo y comprobó su acción antibacteriana contra infecciones respiratorias del tracto superior logrando buenos resultados en su investigación, atribuidos a sus sustancias activas, metabolitos secundarios que ejercen una acción generalizada o específica contra microorganismos patógenos (Quezada, 2008).

Ya a comienzos del siglo XX se habían utilizado racionalmente las propiedades antibacterianas del ajo y con este propósito fue utilizado por el ejército ruso durante la segunda guerra mundial (Edwards *et al.*, 2005; Ledezma y Apitz-Castro, 2006).

2.2. El ajo (*Allium sativum*)

El ajo (*Allium sativum*) es una especie que pertenece a la familia *Liliaceae*, originaria de Asia central. Se utilizan los bulbos, tanto para su uso culinario como por sus propiedades terapéuticas. Fue conocida por las culturas mediterráneas y en la Edad Media lo utilizaron para combatir la peste. Más tarde se conoció en el continente americano y en la actualidad se cultivan diversas variedades de ajo en numerosos países del mundo como España, Italia, Egipto, Argentina, México, Estados Unidos, China e India (López, 2007).

2.2.1. Aspectos generales

La planta puede alcanzar hasta los 50 centímetros de altura y cuenta con un tallo cilíndrico y recto que se curva después de la floración; sus hojas presentan nervios paralelos y son finas y planas en la parte baja; nacen de un bulbo subterráneo, que es la parte que se emplea (Berdonces, 2003).

Debido a la diversidad y cantidad de componentes bioactivos, identificarlos a todos sería una tarea muy difícil (García y Sánchez, 2000), sin embargo, ya se ha probado que entre los constituyentes de mayor actividad biológica destaca la alicina, compuesto sulfurado altamente inestable responsable de sus propiedades farmacológicas (Díaz y Jiménez, 2008).

La composición del bulbo de ajo se muestra en la tabla 1, contiene bajo aporte de minerales Calcio; 373mg/100g de Potasio; 80mg/100g de Fósforo; 1.5mg/100g de Hierro y 18mg/100g de Sodio (La Valle, 2001).

Cuadro 1. Composición en 100 g de ajo fresco.

Composición	Cantidad	Unidad
Agua	58.58	g
Energía	149	Kcal
Proteína	6.36	g
Lípidos totales	0.5	g
Carbohidratos	33.06	g
Fibra total dietética	2.1	g
Azúcares totales	1	g

Fuente: USDA, 2013.

2.2.2. Propiedades antimicrobianas

En los últimos 30 años, la ciencia ha descrito y probado diferentes compuestos que presentan efectos terapéuticos del ajo. Actualmente están documentadas sus propiedades, entre las que destacan su acción antimicrobiana, antifúngica, antiparasitaria, antioxidante e inmunomoduladora. Propiedades farmacológicas atribuidas a sus componentes azufrados (López, 2007).

2.2.2.1. Actividad antibacteriana

El mecanismo de acción de la alicina, molécula del ajo que posee una amplia gama de actividades biológicas (Borlinghaus, 2014), es primeramente su reacción con el grupo SH con los residuos de las enzimas en las bacterias lo que causa su inactivación (Kyung, 2012).

Las bacterias que muestran una mayor sensibilidad a los componentes sulfurados del ajo son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Providencia spp*, *Citrobacter spp*, *Klebsiella neumoniae*, *Hafnia spp*, *Aeromonas spp*, *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis* y *Helicobacter pylori*. Un estudio etnofarmacéutico, mostró que el ajo contiene sustancias que inhiben el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Aspergillus niger*. En donde se inhibe parcialmente el ADN y la síntesis de proteínas, sin embargo, el mecanismo de acción es dado por la inhibición de la síntesis de ARN (Bhagyalakshmi *et al.*, 2005).

2.2.2.2. Actividad antifúngica

La utilización del ajo como un antidermatofito ha sido tan efectivo como las drogas antifúngicas de la industria farmacéutica. El zumo de bulbo de ajo, aplicado por vía externa a conejos, muestra actividad antifúngica sobre *Microsporum canis*, *Sporotrichum shenkii* y sobre los géneros *Epidermophyton*, *Trychosporum*, *Trichosporon*, *Rodotorula* y *Torulopsis* (Harris *et al.*, 2001).

La propiedad contra los hongos del ajo parece ser atribuida más al ajojeno que a la alicina. Se ha visto su efectividad en hongos como *Aspergillus niger*, *Candida albicans* y *Coccidioides immitis* (Singh y Singh, 2008).

2.2.2.3. Actividad antiparasitaria

En una comparación del ajo y el metronidazol se mostró que la formulación de ajo presentó un efecto evidente en la multiplicación y motilidad de los trofocitos. Su

efecto se debe a la reacción química de los grupos tiol de varias enzimas, como lo es la alcohol deshidrogenasa, tioredoxin reductasa y ARN polimerasa. Esto puede afectar el metabolismo de la actividad proteínica de la cisteína involucrada en la virulencia del parásito. En este estudio se concluyó que el ajo es tan eficiente como el metronidazol, para tratar la *Trichomona vaginalis* (Ibrahim, 2013).

Tomando en cuenta el efecto antiparasitario del ajo, la literatura está enfocada principalmente a parásitos protozoos tales como: Trypanosomiasis, Amebiasis y Giardiasis. Se ha estudiado también su acción sobre *Opalina ranarum*, *O. dimidicita*, *Balantidium entozoon*, *Entamoeba histolytica*, *Trypanosomes*, *Leishmania*, *Leptomonas* y *Crithidia* (Bhagyalakshmi et al., 2005). Salama y colaboradores en 2014, demostraron el efecto inhibitorio de la alicina en el crecimiento de *Babesia* y *Theileria equi*. De igual manera Aboelhadid et al., (2013), reportaron los efectos inhibitorios del ajo contra la garrapata *Boophilus annulatus*.

2.2.2.4 Inhibición bacteriana del ajo

Los ajos poseen una increíble propiedad bactericida siendo capaces de eliminar determinadas especies patógenas de la flora intestinal de los animales, sin perjudicar a las inocuas (Font, 1996).

Diferentes presentaciones de ajo han demostrado tener un amplio espectro de actividad antibacteriana contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, incluyendo especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, y *Clostridium* (Gebreyohanne y Gebreyohanne, 2013).

Deresse en 2010, comprobó el potencial antibacteriano de extractos de ajo exhibiendo la actividad contra bacterias Gram negativas (*E. coli*, *Salmonella spp*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*) así como Gram positivas (S.

aureus, *S. pneumoniae*, *Streptococos* del grupo A y *Bacillus anthracis*) causantes de morbilidad en todo el mundo.

2.3. Tracto digestivo del conejo

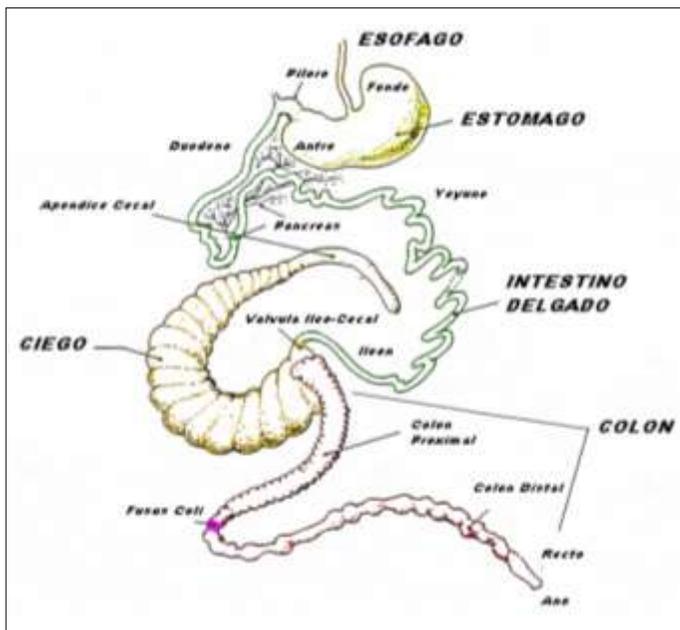
El conejo es una especie peculiar por su anatomía y fisiología digestiva. En su sistema digestivo se destaca el papel del ciego como órgano fermentativo y clasificador de heces, el área fermentativa cecal, el proceso de la cecotrofia, el tránsito digestivo y su influencia sobre la eficacia digestiva además de la capacidad de ingestión (De Blas *et al.*, 2002).

El desarrollo de la flora del conejo ocurre durante la lactancia, pero es a partir del inicio del consumo de alimento cuando se desarrolla el área fermentativa. De acuerdo con Lebas *et al.*, (1972), el peso del contenido cecal (relativo al peso vivo del animal) se duplica entre la tercera y quinta semana de vida, manteniéndose esta importancia hasta la séptima semana.

2.3.1 Anatomía digestiva

El sistema digestivo del conejo está conformado por dos grupos de órganos, los órganos tubulares alineados, que conforman el tracto digestivo propiamente dicho y las glándulas anexas las que solo participan dentro de la función digestiva sin formar parte del aparato digestivo. El tubo digestivo está conformado por la boca, faringe, esófago, estómago, intestino delgado, el cual se divide en tres porciones, el ciego, intestino grueso, el ano, glándulas anexas, hígado y páncreas, con una longitud de 4.5 a 5 m como se muestra en la Figura 1 (Palmieri, 2002).

Figura 1. Anatomía del sistema digestivo del conejo.



Fuente: Lebas *et al.*, 1996.

A continuación, se describen las partes anatómicas que conforman el tracto digestivo del conejo.

- **Boca:** En ella se llevan a cabo las siguientes funciones:
 - Prehensión:** Es el acto mediante el cual se recoge el alimento y se interioriza a la cavidad bucal, dicha acción es realizada por los labios, incisivos y lengua (Reece 2009).
 1. Labios. En el conejo se presenta un labio inferior redondeado y un superior hendido (labio leporino) ambos enmarcan una abertura bucal reducida de gran motilidad.
 2. Dientes. Los dientes en el conejo son elodontos, es decir crecen continuamente y carecen de una verdadera raíz. (Crossley 1995). Los incisivos son afilados en forma de bisel, después del diastema o espacio inter-dentario aparecen los premolares y por último los molares de superficie dura y muy rugosa.

3. Lengua. Presenta botones gustativos y diferentes tamaños de papilas en la porción anterolateral y superior.

Masticación: Fragmentación mecánica de los alimentos, es el primer paso en el desdoblamiento de estos para la posterior acción de las enzimas digestivas (Barret *et al.*, 2013).

Insalivación: Acción por la cual se mezcla y se humedece con saliva el alimento para su deglución (Motta *et al.*, 2006).

- **Esófago:** Conducto mediante el cual se traslada el alimento de la faringe hacia el estómago. Transcurre junto a la tráquea, atraviesa el diafragma y desemboca en el estómago a la altura del cardias.
- **Estomago:** Se trata de un órgano voluminoso con una capacidad de 40 a 50 ml dividido estructuralmente en dos partes: el saco cardinal o fundus de paredes finas el cual actúa como reservorio y el antro pilórico (estomago secretor) de paredes gruesas caracterizado por una mucosa glandular (Motta *et al.*, 2006).
- **Intestino delgado:** Conducto tubular de paredes lisas, en el cual desembocan los conductos secretores del hígado y páncreas. En conejos adultos tiene un diámetro de 1 cm y una longitud de 2 a 3 m, conformado por tres porciones: duodeno, yeyuno e íleon, surge en el píloro y termina su trayecto en la glándula íleo-cecal (González, 2007).
- **Ciego:** Órgano digestivo de gran importancia en la alimentación del conejo. Es una porción individualizada del intestino grueso, de gran volumen (de 250 a 600 cc) y una longitud de 30 a 50 cm dispuesto en forma de espiral que termina en un apéndice tubular sin salida. Estructuralmente se divide en tres porciones: cuerpo, apéndice y válvula íleo-cecal (Dihigo, 2007).
- **Intestino grueso:** Órgano digestivo dividido estructuralmente en tres porciones.

Válvula ileocecal: Válvula en forma de cúpula convexa rica en vasos linfáticos que actúa entre el intestino delgado, ciego y colon.

Colon proximal: Situado después del ciego, plisado y ondulado aproximadamente 50 cm.

Colon distal: Caracterizado por su aspecto liso, que contiene una mucosa de células cúbicas ricas en glándulas mucígenas que posiblemente secretan el moco que recubre a los cecotrofos.

- **Recto:** Órgano encargado de fragmentar las heces, recibe el contenido fecal del colon con un 50 a 60% de humedad y expulsa los desechos con 15 a 18% ya que también está encargado de reabsorber la mayor cantidad posible de agua.
- **Ano:** Es el último órgano del sistema digestivo, por medio del cual son expulsadas las heces fecales en forma de bolas provenientes del recto (Lebas *et al.*, 1996).

2.3.2 Fisiología digestiva

En el conejo la fisiología digestiva está íntimamente ligada al proceso de la cecotrofia, por esta razón existen diferencias en cuanto a motricidad, actividad secretora, absorción entre otras, todo esto depende de la ingestión del conejo, si ingiere alimento o cecotrofos (Lleonart, 1980).

Las partículas de alimento que consume el conejo llegan al estómago para permanecer en un medio ácido de tres a seis horas aproximadamente produciéndose una fuerte acidificación que a la vez provoca el inicio de la hidrólisis de proteínas por la acción de la pepsina. Posteriormente el contenido se inyecta al intestino delgado aquí el contenido se diluye por el aflujo de la bilis, por las primeras secreciones del intestino y por ultimo por el jugo pancreático (Lebas y FAO, 1986).

El intestino delgado realiza diversas funciones, recibe el jugo pancreático y secreta el jugo intestinal para completar la digestión final de las proteínas, y en el duodeno

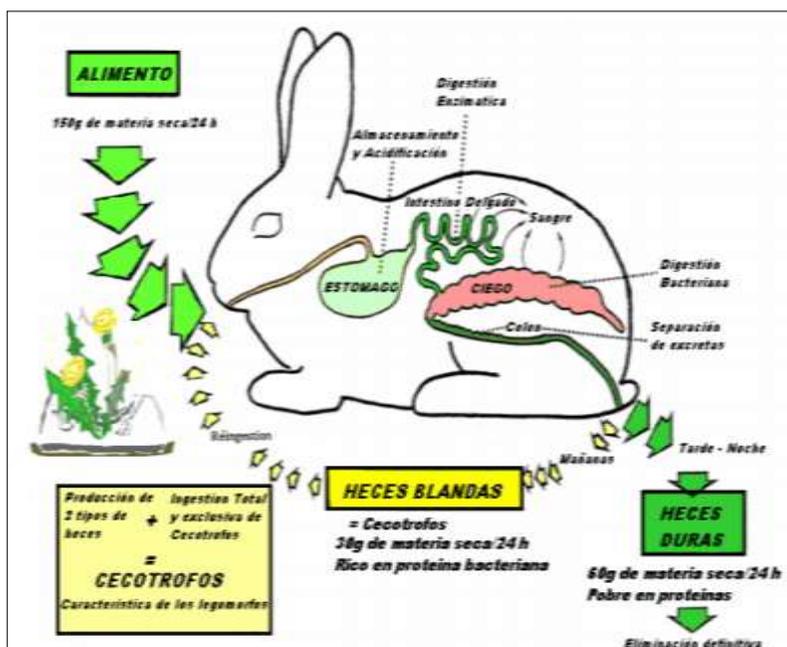
convierte los azúcares en compuestos más sencillos. Otra función del intestino delgado es absorber el alimento digerido para después enviar al torrente circulatorio los nutrientes, también obliga al material no digerido pasar al ciego realizando una función peristáltica (Dihigo, 2007).

Las partículas no degradadas que llegan al ciego tienen que permanecer allí de 2 a 12 h, periodo durante el cual son atacadas por las enzimas de las bacterias que colonizan el ciego para ser degradadas en ácidos grasos volátiles los que al ser liberados pasan por la pared del tubo digestivo introduciéndose en la sangre. (Lebas *et al.*, y FAO, 1986).

Si el contenido del ciego llega al colon en las primeras horas de la mañana no sufrirá grandes transformaciones bioquímicas. En la pared del colon se secreta una mucosidad que va envolviendo progresivamente las bolas formadas por las contracciones, estas bolas se encuentran reunidas en racimos alargados y reciben el nombre de cecotrofias. Por otra parte, si el contenido del ciego ingresa en el colon en otro momento del día sufrirá otras modificaciones. En el colon existen contracciones sucesivas de sentido alterno; unas tienden a evacuar normalmente el contenido mientras que las otras lo empujan hacia el ciego. Por causa en la diferencia de potencia y velocidad de desplazamiento de las contracciones, el contenido se exprime como una esponja que se aprieta, la parte líquida (sustancias solubles y partículas pequeñas) en su mayoría es empujada hacia el ciego y la parte sólida que contiene partículas grandes forma las cagarrutas duras que serán evacuadas en las camas. Debido a este funcionamiento dual se fabrican dos tipos de bolo fecal en el colon, el bolo fecal duro y las cecotrofias, estas últimas las recupera el animal volviéndose hacia atrás para aspirarlas cuando salen del ano tragándose las sin masticar, unas horas después del final de la mañana puede encontrarse gran cantidad de cecotrofias en el estómago, a

partir de esta fase el contenido de ellas sigue una digestión igual al resto de los alimentos como se observa en la Figura 1 (Lebas *et al.*, y FAO, 1986).

Figura 2. Esquema de la digestión del conejo.



Fuente: Lebas *et al.*, 1996.

El proceso de la cecotrofia les permite a los conejos adquirir proteína microbiana y vitaminas que se producen en el ciego (Lebas *et al.*, 1996).

Glándulas anexas: Poseen actividades vinculadas directamente con el proceso digestivo.

- Salivales: Segregan saliva que al impregnarse en los alimentos los humedece facilitando la deglución.
- Hígado: Constituye el órgano principal del metabolismo de las sustancias que se absorben a nivel intestinal, y por la secreción de bilis esta última disminuye la tensión superficial, emulsiona las grasas y alcaliniza el medio

favoreciendo de esta manera la acción enzimática del páncreas y del intestino (Lebas *et al.*, 1996).

- c) Páncreas: Las enzimas del jugo pancreático son vertidas al intestino a través del conducto pancreático, este jugo es rico en enzimas (tripsina, quimotripsina) degradan las proteínas del almidón y (amilasa) quien degrada las proteínas de las grasas (Lebas *et al.*, 1996).

III. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades infecciosas del tracto digestivo del conejo, representan el 71% de las enfermedades que lo afectan. Aunado a la prohibición europea sobre el uso de antimicrobianos para prevenir enfermedades digestivas y la poca diversidad de sustancias permitidas en la cunicultura ha hecho imprescindible la búsqueda de soluciones alternativas para tratar de reducir su incidencia, como el uso de plantas medicinales, como el ajo. Es considerado un antimicrobiano natural potente, capaz de combatir microorganismos causantes de enfermedades, además de otras características, como su bajo costo y las bajas cantidades que se utilizan. Se ha probado su efecto en diferentes especies y en diferentes presentaciones (polvo, aceite esencial y fresco), sin embargo; una de las mejores opciones en costo-beneficio es en fresco por medio del agua o alimento, ya que sus compuestos antimicrobianos están activos al ser ingeridos y la probabilidad de que sean metabolizados de manera positiva por el organismo del conejo es alta. Para la aplicación de antimicrobianos de origen natural, se necesita comprobar su eficacia por medio de estudios *in vitro*, en medios microbiológicos y en productos alimenticios. Las pruebas *in vitro* proporcionan información valiosa acerca de la efectividad de un compuesto, y pueden ser evaluados de igual manera, las variables que afectan a la actividad antimicrobiana, de la cual depende del tipo, género, especie y microorganismo a probar.

IV. HIPÓTESIS

El extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*) tiene la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro*, de la microbiota bucal, cecal y rectal de conejos.

V. OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la capacidad *in vitro* del extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*) sobre el crecimiento de las bacterias presentes en la microbiota bucal, cecal y rectal en conejos de una granja comercial (CUNINEZA).

ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar la capacidad antimicrobiana del extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*) sobre la microbiota bucal, cecal y rectal de los conejos.
- ❖ Identificar las bacterias de la microbiota bucal, cecal y rectal de los conejos.
- ❖ Reportar la concentración con mayor capacidad de inhibición bacteriana al extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*).

VI. MATERIAL

Material biológico

- 21 conejos Chinchilla/Nueva Zelanda de 40±2 d
- Extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*)

Material de muestreo

- Bata
- Guantes de látex
- Marcador indeleble
- Solución salina fisiológica
- Hisopos estériles
- Medio de transporte Stuart
- Refrigerante

Material de laboratorio

- Bata
- Guantes de látex
- Marcador indeleble
- **Reactivos**
 - Agar McConkey
 - Agar Mueller Hinton
 - Agar Tripteina Soya
 - Kit de identificación de bacterias Enteropluri Test
- **Cristalería**
 - Cajas Petri
 - Tubos de ensayo
- **Equipo**
 - Balanza analítica
 - Incubadora

- Autoclave
- **Varios**
 - Gradillas metálicas con capacidad para 80 tubos de 13X100 mm
 - Mechero
 - Asa bacteriológica
 - Papel Whatman

VII. MÉTODO

Preparación del extracto

Se elaboraron dos concentraciones de extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*) como lo sugiere Salem y colaboradores en 2014, donde en la primer dilución (1:8) se utilizaron 50 g de ajo por cada 400 mL de agua (0.125 g/mL^{-1}) y para la segunda (1:16) 50 g de ajo por 800 mL de agua (0.0625 g/mL^{-1}). Los ajos se licuaron durante 5 min (Oster 6630-13) filtrando dicho extracto dos veces con gasas, el extracto acuoso de ajo (EAA) resultante se almacenó en refrigeración (4 °C).

Diseño Experimental

Para el experimento se utilizó un muestreo aleatorio simple, utilizando 21 conejos Chinchilla/Nueva Zelanda de 40 ± 2 d de la granja comercial Cunicultores Nezahualcóyotl (CUNINEZA), este trabajo será el antecedente de posteriores experimentos que se realicen en dicha granja, además de ya haber probado estas concentraciones en un trabajo de producción de gas *in vitro* con el contenido cecal de animales procedentes de esta instalación. El número de muestras se determinó con la siguiente formula:

$$n = \frac{k^2 * p * q * N}{(e^2 * (N-1)) + k^2 * p * q}$$

Donde:

n: Tamaño de la muestra (21).

N: Tamaño de población o universo (30).

K: Nivel de confianza (90%).

q: Proporción de individuos que no poseen la característica de estudio (1-p).

p: Proporción de individuos que poseen la característica a estudiar (0.5), (Aguilar-Barojas, 2005).

Muestreo

La toma de muestras se realizó por la mañana, tomando de cada animal un hisopado bucal y anal; posterior a esto se sacrificó a los conejos, se extrajo el sistema digestivo identificando el ciego y con un hisopo se obtuvo una muestra del contenido cecal. Por lo que se obtuvieron 63 muestras, las cuales se transportaron en tubos con medio Stuart a temperatura de refrigeración (4 ± 1 °C) al laboratorio de bacteriología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA), para su posterior procedimiento.

Siembra y Aislamiento bacteriano

Las 63 muestras se sembraron (37 ± 2 °C 24 h) en cajas petri con Agar Tripteina Soya (TSA) y Agar McConkey, por lo que se realizaron 126 siembras bacteriológicas. Posterior a esto se realizó un análisis morfológico mediante tinción de Gram y microscopia de cada muestra por lo que se utilizaron 73 muestras (cabe mencionar que en algunas cajas no hubo crecimiento bacteriano). Las bacterias que morfológicamente eran parecidas se consideraron una sola, por dicha razón se trabajó con 19 muestras para proceder a su purificación y sobre estos aislados se realizaron las pruebas de sensibilidad. Como paso siguiente se realizó la identificación con ayuda del Kit Enteropluri test, basado en pruebas bioquímicas convencionales (Vullo *et al.*, 2000).

Capacidad de Inhibición

Para esta prueba se utilizó el método de Kirby-Bauber, en la cual se determinó la capacidad de inhibición bacteriana del EAA por difusión en placa, cultivando la cepa bacteriana purificada en peptona de carne sumergiendo un hisopo estéril en dicho caldo con el cultivo bacteriano cubriendo la superficie de la placa de Agar Mueller Hinton, incubándose a 37 ± 2 °C 10 min. Después de esto se colocaron los discos estériles de papel Whatman empapados con dos concentraciones (0.125

g/mL⁻¹ y 0.0625 g/mL⁻¹) diferentes de EAA, un disco de antibiótico comercial de Gentamicina (10 Mcg), Amikacina (30 Mcg) y Sulfametoxazol/Tripetropim (25 Mcg) y el control para lo cual se utilizó agua, se incubaron a 37±2 °C 18 h para su posterior lectura. Con ayuda de una regla de vernier se midió el área de inhibición bacteriana alrededor del disco, de acuerdo al halo de inhibición se clasificaron en sensible (S), intermedio (I) o resistente (R). Se evidenciaron los resultados con fotografías digitales (Wayne, USA: CLSI; 2012).

VIII. LÍMITE DE ESPACIO

La toma de muestras (boca, ciego y ano) de los conejos se realizó en las instalaciones de la granja CUNINEZA ubicada en la Colonia Virgencitas, Nezahualcóyotl, Estado de México. Teniendo la siguiente ubicación geográfica: latitud norte del paralelo 19°21'36" y 19°30'04" al paralelo; longitud oeste del meridiano 98°57'57" y 99°04'17" al meridiano. Situado a una altura de 2,220 msnm con un clima templado, semiseco, con lluvias abundantes en verano y escasas en primavera; en invierno el clima es frío.

Los análisis de las muestras y las pruebas de laboratorio, se llevaron a cabo en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA), ubicado en el Kilómetro 15.5 Carretera Panamericana Toluca-Atlacomulco, Toluca, Estado de México.

IX. LÍMITE DE TIEMPO

El presente trabajo se realizó conforme a lo descrito en el siguiente cuadro:

Actividad	2017					2018
	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic.	Enero
Elaboración y aprobación del protocolo	X	X				
Muestreo		X				
Pruebas de sensibilidad		X				
Identificación de la microbiota intestinal			X			
Análisis de resultados			X			
Elaboración del documento final				X	X	
Revisión Bibliográfica	X	X	X	X		
					X	
Conclusión del Documento						X

X. RESULTADOS

Los halos de inhibición sobre el crecimiento bacteriano presentados por dos concentraciones de EAA (0.125 g/mL y 0.0625 g/mL) se muestran en el Cuadro 2 y en los anexos se muestran las imágenes.

Cuadro 2. Inhibición bacteriana en milímetros (mm) de dos concentraciones de extracto acuoso de ajo.

Identificación de la muestra	Origen de la Muestra	Aislamiento	Antibiótico Control	Inhibición	EAA Concentración	
					0.125 g/mL ⁻¹ Inhibición	0.0625 g/mL ⁻¹ Inhibición
1 TSA	Boca	<i>Escherichia coli</i>	Gentamicina ¹	21.20	0	10.96
2 TSA	Boca	<i>Acinetobacter lowffii</i>	Sulfametoxazol/ Trimetroprim ²	30.64	8.42	8.61
3 TSA	Boca	<i>Escherichia coli</i>	Amikacina	26.53	10.97	17.48
6 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	Gentamicina ¹	27.05	13.48	17.91
9 MC	Boca	<i>Escherichia coli</i>	Sulfametoxazol/ Trimetroprim ²	25.45	11.54	13.31
18 TSA	Boca	<i>Escherichia coli</i>	Amikacina ³	0	12.49	19.54
19 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	Gentamicina ¹	23.45	10.79	15.55
21 TSA	Boca	<i>Shigella sp</i>	Sulfametoxazol/ Trimetroprim ²	32.07	18.59	21.51
22 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	Amikacina ³	16.17	15.47	15.85
2 I TSA	Ciego	<i>Shigella sp.</i>	Gentamicina ¹	25.59	18.22	26.77
3 TSA	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	Sulfametoxazol/ Trimetroprim ²	23.97	13.60	16.07
12 TSA	Ciego	<i>Acinetobacter lowffii</i>	Amikacina ³	13.05	9.40	12.60
11 MC	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	Gentamicina ¹	21.89	12.19	16.17
14 TSA	Ciego	<i>Shigella sp</i>	Sulfametoxazol/ Trimetroprim ²	47.43	21.49	30.34
17 TSA	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	Amikacina ³	23.41	11.20	17.67
8 TSA	Ano	<i>Escherichia coli</i>	Gentamicina ¹	21.16	9.73	15.58
8 MC	Ano	<i>Escherichia coli</i>	Sulfametoxazol/ Trimetroprim ²	24.36	9.81	12.11
9 MC	Ano	<i>Escherichia coli</i>	Amikacina ³	18.77	8.59	14.10
17 TSA	Ano	<i>Escherichia coli</i>	Gentamicina ¹	33.49	19.15	23.91

TSA: Tripteína Soya Agar; MC Agar Mac Conkey.

Concentración de sensidiscos: Gentamicina¹ 10 Mcg, Sulfametoxazol/Trimetroprim² 25 Mcg y Amikacina³ 30 Mcg.

De acuerdo a lo que establece la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), para la clasificación de las bacterias respecto al antibiótico según el diámetro del halo de inhibición (mm), hemos comparado la acción de dos concentraciones de extracto acuoso de ajo con los antibióticos utilizados en el presente trabajo y de esta manera clasificamos su acción en Resistente, Intermedia y Sensible, presentada en los cuadros 3 y 4.

Cuadro 3. Clasificación de las bacterias en la concentración 0.125 g/mL de EAA de acuerdo al diámetro del halo de inhibición (mm) según la CLSI 2012.

Identificación de la muestra	Origen de la muestra	Aislamiento	Antibiótico		
			Gentamicina	Sulfametoxazol /Trimetroprim	Amikacina
1 TSA	Boca	<i>Escherichia coli</i>	R	R	R
2 TSA	Boca	<i>Acinobacter lwoffii</i>	R	R	R
3 TSA	Boca	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S
6 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	S	S
9 MC	Boca	<i>Escherichia coli</i>	I	I	R
19 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	I	I
21 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	S	S
2 I TSA	Ciego	<i>Shigella sp.</i>	S	S	S
3 TSA	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	S	S	I
11 MC	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	S	S	I
14 TSA	Ciego	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	S	S
17 TSA	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S
8 TSA	Ano	<i>Escherichia coli</i>	S	I	I
8 MC	Ano	<i>Escherichia coli</i>	R	I	R
9 MC	Ano	<i>Escherichia coli</i>	I	I	I
17 TSA	Ano	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	S	S

Resistente (R), Intermedia (I), Sensible (S)

Gentamicina: R ≤ 12 I 13-14 S ≥ 15

Sulfatoxazol/Trimetroprim: R ≤ 10 I 11-15 S ≥ 16 Amikacina: R ≤ 14 I 15-16 S >17

Se muestra que del 100% de aislamientos de *Escherichia coli* 55.5% son sensibles a la Gentamicina y 22.2% muestran resistencia, para el Sulfatoxazol/Trimetroprim, 55.5% son sensibles y el 11.1% muestran resistencia mientras que para la Amikacina se muestra una sensibilidad de 22.2% y una resistencia de 33.3%.

En el aislamiento *Pantoea agglomerans*, para la Gentamicina se observa una sensibilidad del 100%, mientras que para el Sulfatoxazol/Trimetroprim y la Amikacina hay una sensibilidad del 80% y el 20% corresponde a la clasificación intermedia.

Por último en los aislados *Acinetobacter lwoffii* hay una resistencia del 100% para los 3 antibióticos y *Shigella* sp muestra sensibilidad para los 3 antibióticos equivalente al 100%.

En el Cuadro 4 se observa que para el aislamiento *Escherichia coli* existe una resistencia del 88.8% en el antibiótico Gentamicina el resto corresponde a una clasificación intermedia, en el caso del antibiótico Sulfametoxazol/Trimetroprim hay una clasificación intermedia equivalente al 44.4 % y el 55.5% muestra resistencia, para la Amikacina hay una resistencia de 100%.

Para el aislamiento *Pantoea agglomerans* hay una resistencia del 20% y una sensibilidad del 60% estos datos coinciden para los antibióticos Gentamicina y Sulfatoxazol/Trimetroprim, mientras que en el antibiótico Amikacina este aislado muestra una resistencia del 40% y una sensibilidad equivalente al 60%.

En los aislados *Acinobacter lwoffii* la resistencia es de 100%, para *Shiguella* sp la sensibilidad equivale al 100%.

Cuadro 4. Clasificación de las bacterias en la concentración 0.0625 g/mL de EAA de acuerdo al diámetro del halo de inhibición (mm) según la CLCI 2012.

Identificación de la muestra	Origen de la muestra	Aislamiento	Antibiótico		
			Gentamicina	Sulfametoxazol /Trimetroprim	Amikacina
1 TSA	Boca	<i>Escherichia coli</i>	R	R	R
2 TSA	Boca	<i>Acinobacter lwoffii</i>	R	R	R
3 TSA	Boca	<i>Escherichia coli</i>	R	R	R
6 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	I	I	R
9 MC	Boca	<i>Escherichia coli</i>	R	I	R
19 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	R	R	R
21 TSA	Boca	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	S	S
2 I TSA	Ciego	<i>Shigella sp.</i>	S	S	S
3 TSA	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	I	I	R
11 MC	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	R	I	R
14 TSA	Ciego	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	S	S
17 TSA	Ciego	<i>Escherichia coli</i>	R	I	R
8 TSA	Ano	<i>Escherichia coli</i>	R	R	R
8 MC	Ano	<i>Escherichia coli</i>	R	R	R
9 MC	Ano	<i>Escherichia coli</i>	R	R	R
17 TSA	Ano	<i>Pantoea agglomerans</i>	S	S	S

Resistente (R), Intermedia (I), Sensible (S)

Gentamicina: R ≤ 12 I 13-14 S ≥ 15

Sulfatoxazol/Trimetroprim: R ≤ 10 I 11-15 S ≥ 16

Amikacina: R ≤ 14 I 15-16 S >17

XI. DISCUSIÓN

La familia *Enterobacteriaceae* la conforma un gran grupo de bacterias gramnegativas, mismas que reciben este nombre porque se localizan de manera habitual como saprofitos en el sistema digestivo formando parte normal de la flora intestinal de animales y el hombre, aunque también se encuentran en el agua, suelo y vegetación. Entre algunas de las enterobacterias de importancia clínica encontramos *Escherichia sp*, *Pantoea agglomerans* y *Shigella sp*, entre otras (García y Rodríguez 2010).

En el presente trabajo se obtuvieron distintos aislados de las muestras que se tomaron de la boca, ciego y ano de los conejos muestreados, en los cuales encontramos *Escherichia coli*, *Shigella sp*, *Paantoea agglomerans* y *Acinobacter lowffii*. Comi y Cantoni (1984), en un estudio demuestran la presencia de *Escherichia coli* en intestino delgado, intestino grueso y ciego, de conejos muestreados luego del sacrificio.

Hasta la fecha no existen estudios que comprueben la presencia de *Pantoea agglomerans* y *Acinobacter lowffii* en el tracto digestivo de los conejos, sin embargo se han reportado casos de *Pantoea agglomernas* en enfermedades del aparato urinario en caninos, pero con muy baja incidencia (Çetin *et al.*, 2003). Se sabe que es una bacteria Gram negativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, y que se ha aislado a partir de heces humanas y de animales (Segado y col., 2012). En el 2015 Decuadro y col., lograron aislar la bacteria *Pantoea agglomerans* de una muestra obtenida mediante punción pulmonar en un gato con neumonía, sin embargo se cree que podría haberse tratado de una infección secundaria derivada de otra infección bacteriana o viral.

Las especies de *Acinobacter* se encuentran distribuidas en la naturaleza, principalmente en el agua y suelo, pero también se han aislado a partir de aves

de corral, de leche y sus derivados (De Vegasa y Nieves, 2005). En 2005, en un estudio realizado por Robino y col., se aisló la bacteria *Acinobacter lowffii* de muestras tomadas a partir de sacos aereos (pulmonar y abdominal) que se obtuvieron de un *Agapornis roseicollis*, después de morir de una enfermedad respiratoria. Chaverri en el 2006, realizó un estudio sobre el tracto digestivo de murciélagos, en el cual aisló a partir de muestras tomadas de intestino, diversas bacterias como *Acinobacter lowffii* y *Pantoea agglomerans* entre otras.

En 1984 apareció en el Parque Zoológico Nacional de Washington, D.C., una epizootia causada por *Shigella flexneri*, entre las especies afectadas se encontraban gibones (*Hylobates concolor* y *H. syndactylies*), macacos (*Macaca silenus*, *M. nigra* y *M. sylvanus*), monos colobus (*Colobus guerzea*) y gorilas (*Gorilla gorilla*). Fue a partir de ese año cuando la shigelosis se hizo endémica (Banish *et al.*, 1993). Este dato coincide con Weinberg y Bral, quienes en 1999 mencionan que *Shigella sp* se puede encontrar de manera común en primates en cautiverio siendo rara en otras especies animales, y es de los primates de donde se han aislado todas las especies de *Shigella*, incluida la especie considerada como la más patógena para el hombre, *Shigella dysenteriae*.

Vila y col. en 2009, establecen que después de consumir alimentos y agua contaminados con materia fecal, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* son las bacterias responsables de las enfermedades gastrointestinales infecciosas que se producen, este dato esta relacionando con García y Rodríguez en 2010, quienes asocian a *Shigella dysenteriae* como la responsable de la disentería bacilar en humanos, infección producida por la contaminación de vegetales.

Actualmente se realizan numerosos trabajos de investigación encaminados a la búsqueda de componentes de origen natural con actividad antimicrobiana, es por esta razón que en el presente trabajo se evaluaron dos concentraciones (0.125 grs/mL y 0.0625 grs/mL) de extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*), para conocer su actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram negativas, aisladas a partir de

muestras tomadas de boca, ciego y ano de conejos en una granja comercial de Nezahualcóyotl, Estado de México (CUNINEZA).

Se comprueba que el extracto acuoso de ajo en sus dos concentraciones tiene efecto antimicrobiano sobre bacterias Gram negativas como: *Escherichia coli*, *Shigella sp*, *Pantoea agglomerans*, *Acinobacter sp* y *Providencia stuartii*. Lo que concuerda con otros autores como Ankri y Milerman (1999) quienes comprobaron el efecto antimicrobiano del ajo en algunos microorganismos entre los que se encontraban especies de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus*. En el 2006 Indu y colaboradores, también obtuvieron resultados positivos sobre la actividad antimicrobiana del ajo en microorganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *Aeromonas hydrophil*.

Los resultados obtenidos muestran que la media estadística en el diámetro del halo de inhibición obtenida de la concentración de extracto acuoso de ajo 0.125 grs/mL, es de 17.37 mm, mientras que para la concentración 0.0625 grs/mL es de 12.35 mm de diámetro en el halo de inhibición. Este dato concuerda con el resultado obtenido por Al-Astal en 2003, quien establece que a mayor concentración de ajo se obtendrán halos de inhibición con mayor diámetro, por el efecto de la alicina y otros compuestos sulfurados, debido a la reacción del grupo SH con los residuos de las enzimas en las bacterias, lo que causa su inactivación (Kyung, 2012).

En el presente trabajo se aisló la bacteria *Escherichia coli* en las tres zonas muestreadas (boca, ciego y ano) obteniendo resultados positivos en su inhibición con ambas concentraciones del extracto acuoso de ajo utilizadas, lo que concuerda con Arroyo-Lara *et al.*, en 2015, quienes reportan que la cantidad de ajo necesaria para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* fue de 12.5 mg/mL.

Por otra parte, García Rico en 2007 realizó un estudio en el cual evaluó la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de tres especies de la familia *Allium* (*Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*) sobre cinco cepas bacterianas, en su estudio encontró que el extracto acuoso de *Allium cepa* fue el que mostró mayor acción efectiva contra *Escherichia coli* al generar halos de inhibición de 15 mm de diámetro en promedio, mientras que Yaguana en 2015, en un estudio similar con una concentración de ajo de 0.25 g/mL establece un promedio de 12 mm de diámetro en los halos de inhibición de *Escherichia coli*. En el presente trabajo, el promedio en el diámetro de halos de inhibición que generó el extracto acuoso de ajo sobre la misma bacteria, fue de 14.71 mm en promedio, en la concentración 0.125 grs/mL, mientras que para la concentración 0.0625 grs/mL el promedio en los halos de inhibición fue de 10.21 mm. Salazar Córdova en 2014, demuestra el efecto antimicrobiano del ajo sobre *Escherichia coli*, con una concentración de extracto acuoso al 25%, en dicho estudio el promedio de diámetro en los halos de inhibición es de 14.3 mm, este promedio es casi semejante al del presente trabajo en la concentración 0.125 grs/mL, mencionada anteriormente.

Christensen y col. en 2001 establecen la necesidad de nuevas alternativas en la terapia antimicrobiana debido a la notable resistencia de gran número de patógenos oportunistas con los antibióticos existentes. Mientras que León en 2002, en un artículo publicado sobre Shigelosis, menciona que en todo el mundo han surgido cepas de *Shigella* que muestran resistencia a diversos antibióticos, tal es el caso de la cepa que se aisló entre el periodo de 1969-1970 en la epidemia de Centroamérica y México misma que mostro resistencia a sulfonamidas, estreptomycin, tetraciclinas y cloranfenicol. De acuerdo a la acción antimicrobiana comprobada del extracto acuoso de ajo en este trabajo, establecemos que es una de las posibles alternativas de sustitución en el uso de antibióticos sintéticos.

Arzate-Serrano (2017), en un estudio *in vivo* sobre la adición de extracto de ajo en la dieta de conejos, no reportan efectos significativos sobre las variables ganancia de peso, conversión alimenticia y eficacia alimenticia, por esta razón el extracto acuoso de ajo puede ser una buena alternativa como antimicrobiano, además de ser más económico comparándolo con los productos sintéticos.

XII. CONCLUSIÓN

El extracto acuoso de ajo a las concentraciones 0.125 grs/mL y 0.0625 grs/mL, tiene capacidad de inhibición bacteriana sobre cepas de boca, ciego y ano de conejos de la granja CUNINEZA, por lo que se establece como un antimicrobiano natural de bajo costo y sin problemas de resistencia bacteriana a los antibióticos.

Se determinó que la capacidad antimicrobiana del extracto acuoso de ajo (*Allium sativum*) sobre la microbiota bucal, cecal y rectal de los conejos, es mayor para algunos de los aislados comparado contra antibióticos sintéticos de uso común en la cunicultura.

Se identificaron las bacterias de la microbiota bucal, cecal y rectal de los conejos de la granja CUNINEZA con ayuda de evaluaciones morfológicas y microscopia así también con el kit Enteropluri test se lograron identificar los géneros bacterianos *Escherichia coli*, *Acinetobacter lwoffii*, *Pantoea agglomerans* y *Shigella* sp.

En este estudio se probó que la concentración más alta de EAA (0.125 grs/mL) fue la que mayor capacidad de inhibición bacteriana presentó, en comparación con la concentración de 0.0625 grs/mL que si bien también mostro acción antimicrobiana, sus halos de inhibición eran de menor diámetro.

XIII. SUGERENCIAS

Es necesario realizar más estudios en diferentes granjas y zonas del Edo. de México para probar la efectividad del extracto acuoso de ajo a las concentraciones 0.125 y 0.0625 grs/mL, ya que la literatura y estudios científicos corroboran la efectividad del ajo como antimicrobiano. Además es una alternativa natural y de bajo costo como tratamiento preventivo o curativo de granjas canículas.

Es importante que se realicen pruebas de desafío del extracto acuoso de ajo contra cepas bacterianas que muestran resistencia a distintos antimicrobianos comerciales.

XIV. REFERENCIAS

1. Aboelhadid S.M., Kamel A.A., Arafa W.M., Shokier K.A. 2013. Effect of *Allium sativum* and *Allium cepa* oils on different stages of *Boophilus annulatus*. Parasitology research, 112 (5), 1883-1890.
2. Aguilar-Barojas, S. 2005. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. Salud en Tabasco, 11(1-2), 333-338.
3. Al-Astal, Z. Y. 2003. Effect of storage and temperature of aqueous garlic extract on the growth of certain pathogenic bacteria. J Al Azhar Univ-Gaza, 6(2), 2-11.
4. Ankri S. y Mirelman, D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and infection, 1(2), 125-129.
5. Arroyo-Lara A., Landín-Grandvallet L.A., Alonso-Bustamante A., Sánchez-Aguilar M.A. y Suárez-Franco G. 2015. Actividad inhibitoria de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan 3(5): 1045-1052.
6. Arzate-Serrano H.D. 2017. Efecto de la adición de ajo en la dieta de conejos sobre la calidad sanitaria de la carne. Tesis doctoral. Universidad Autónoma del Estado de México.
7. Banish L.D., Sims R., Sack D., Montali R.J., Phillips J.L., Bush M. 1993. Prevalence of shigellosis and other enteric pathogens in a zoologic collection of primates. Journal of the American Veterinary Medical Association, 203 (1), 126-132.
8. Barret K., Barman S., Boitano S., Brooks H. 2013. Ganong Fisiología Médica. 24 edición. México: MacGraw Hill Lange, 497-538.
9. Berdonces D. 2003. Herbal Medicines Enciclopedia de las plantas medicinales, Ediciones Océano, (3), 11-12.
10. Bhagyalakshmi N., Thimmaraju R., Venkatachalam L., Murthy K.C., Sreedhar R.V. 2005. Nutraceutical applications of garlic and the intervention

- of biotechnology. Critical reviews in food science and nutrition, 45 (7-8), 607-621.
11. Borlinghaus J., Albrecht F., Gruhlke M.C., Nwachukwu I.D., Slusarenko A. J. 2014. Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules*, 19 (8), 12591-12618.
 12. Brown P. 2001. Los efectos antibióticos del ajo. Vol. 81. USA.
 13. Çetin, C., Şenturk, S., Kocabiyik, A. L., Temizel, M., & Özel, E. 2003. Bacteriological examination of urine samples from dogs with symptoms of urinary tract infection. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27 (5), 1225-1229.
 14. Chaverri G. 2006. Flora bacteriana aeróbica del tracto digestivo del vampiro común, *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Revista de biología tropical*, 54 (3), 717-724.
 15. Christensen D.J., Gottlin E.B., Benson R.E., Hamilton P.T. 2001. Phage display for target-based antibacterial drug discovery. *Drug discovery today*, 6 (14), 721-727.
 16. Comi G. y Cantoni C. 1984. Flora microbica intestinale del coniglio. *Rivista di Coniglicoltura*, 11 (9), 79-81.
 17. Crossley, D. 1995. Clinical aspects of rodent dental anatomy. *Journal of veterinary dentistry*, 12, 131-136.
 18. De Blas J.C., García J., Carabaño R. 2002. Avances en nutrición de conejos. *Simposium de Cunicultura*, 27, 83-91.
 19. De Vegasa E.Z.S., y Nieves B. 2005. *Acinetobacter* spp.: aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. *Rev Soc Ven Microbiol*, 25, 64-71.
 20. Decuadro A., Ruiz N., Martino P., Sala T. Benech. A. 2015. Neumonía en gato causada por *Enterobacter (Pantoea) agglomerans*, reporte de un caso clínico. *Veterinaria (Montevideo)*, 51 (198), 3-3.

21. Deresse D. 2010. Antibacterial Effect of Garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus*: An *in vitro* Study. Asian Journal of Medical Sciences, 2 (2), 62-65.
22. Díaz L. y Jiménez K. 2008. Validación de un método de extracción de alicina en ajo y su cuantificación por HPLC. Simposio de Metrología, Santiago de Querétaro, México.
23. Dihigo L.E. 2007. Caracterización físico-química de productos tropicales y su impacto en la morfofisiología digestiva del conejo. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal ICA. La Habana, Cuba.
24. Edwards Q.T., Colquist S., Maradiegue, A. 2005. What's cooking with garlic: is this complementary and alternative medicine for hypertension?. Journal of the American Association of Nurse Practitioners, 17 (9), 381-385.
25. Font, 1996. Ajo. En Enciclopedia de Plantas Medicinales.
26. García A.P. y Rodríguez F.M. 2010. Enterobacterias. Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, 10 (51), 3426-3431.
27. García J. y Sánchez F. 2000. Revisión: efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). ALAN, 50, 3.
28. García Rico, R. O., & Herrera Arias, F. C. 2007. Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar *in vitro*. Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, 5(2).
29. Gebreyohanne G. y Gebreyohanne M. 2013. Medicinal values of garlic: A review. International Journal of Medicine and Medical Sciences, 5 (9), 401-408.
30. González M.R. 2007. Nutrición y alimentación del conejo. Disponible en: <http://www.uabcs.mx/maestros/mto05/nutricion.htm> Consultado: 30 de agosto de 2017.
31. Harris J., Cottrell S., Plummer S., Lloyd D. 2001. Antimicrobial properties of

- Allium sativum* (garlic). Applied Microbiology and Biotechnology, 57(3): 282-286.
32. Hernández R. y Gally M. 1989. Plantas Medicinales. México. Monografía.
33. Ibrahim A.N. 2013. Comparison of *in vitro* activity of metronidazole and garlic-based product (Tomex®) on *Trichomonas vaginalis*. Parasitology research, 112 (5), 2063-2067.
34. Indu, M. N., Hatha, A. A. M., Abirosh, C., Harsha, U., & Vivekanandan, G. 2006. Antimicrobial activity of some of the south-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*. Brazilian Journal of Microbiology, 37(2), 153-158.
35. Jiménez Y. y Sebastián C. 2015. "Evaluación del efecto antibiótico de los extractos acuosos de *Allium sativum* (ajo) y de *Coriandrum sativum* (cilantro) mediante el método de sensibilidad por difusión en agar Bauer-Kirby, sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* entérica serovar *typhi* y *Salmonella* entérica serovar *choleraesuis*; en comparación con los antibióticos gentamicina y ampicilina (Bachelor's thesis, PUCE).
36. Kyung K.H. 2012. Antimicrobial properties of *Allium* species. Current opinion in biotechnology, 23 (2), 142-147.
37. La Valle J. 2001. Natural therapeutics pocket guide 2000-2001, 1 edition, Lexi- corpo, Ohio, USA.
38. Lebas F. y FAO. 1986. El conejo: cría y patología. FAO.
39. Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H., Thébault R.G. 1996. El conejo: cría y patología.
40. Lebas F., Laplace J.P., Cousin M.C., Germain C., Chapel J. 1972. Mensurations viscérales chez le lapin. I.--croissance du foie, des reins et des divers segments intestinaux entre 3 et ii semaines d'âge. In annales de zootechnie, 21 (1), 37-47.
41. Ledezma E. y Aritz-Castro R. 2006. Ajoene, el principal compuesto activo

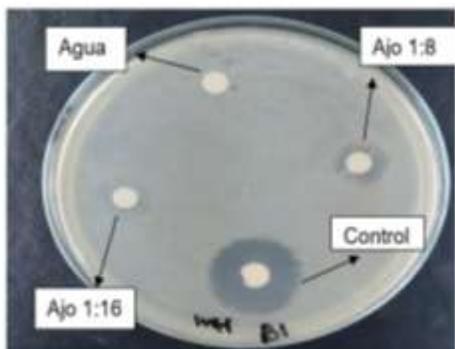
- derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. Revista Iberoamericana de Micología, 23 (2), 75-80.
42. León-Ramírez, S. 2002. Shigelosis (disentería bacilar). Salud en tabasco, 8 (1), 22-25.
43. Lleonart F. 1980. Anatomía y fisiología del aparato digestivo. En: Tratado de Cunicultura Tomo 1: Ed. Mundi Prensa Libros S.A., Madrid, España: 61-83.
44. López T. 2007. El ajo propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. Ámbito farmacéutico Fitoterapia. 26: 78-81.
45. Morin J. y Bastide P. 1983. Aromatherapy. Pharmacie Hospitaliere Francaise, 63, 23-28.
46. Motta W.F., Borges F.M. Apocaypse R. 2006. Fundamentos da nutrição de coelhos, Memorias del III Congreso de Cunicultura de las América. Paraná. Brasil.
47. Nychas G.J.E., Drosinos E.H., Board R.G. 1998. Chemical changes in stored meat. En Davies A., y R. Board. The Microbiology of Meat and Poultry. Blackie Academic and Professional, London. 288-326.
48. OIEDRUSBC. Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable de Baja California. 2009. Estudio sobre cunicultura en el Estado de Baja California. Baja California, México. 21.
49. Palmieri D. 2002. Alimentación del conejo. Disponible en: <http://www.engormix.com/nuevo/prueba/colaboraciones.asp>. Consultado: 30 de agosto de 2017.
50. Quezada A. 2008. Las plantas medicinales. Revista Biocinesis. 21, 20-23.
51. Reece W.O. 2009. Fuctional Anatomy and Physiology of Domestic Animals. Cuarta Edición; Editorial, Wiley-Blackwell. State Avenue, Ames, Iowa USA.
52. Robino P., Bert E., Tramuta C., Cerruti Sola S., Nebbia P. 2005. Isolation of *Acinetobacter lwoffii* from a Lovebird (*Agapornis roseicollis*) with severe respiratory symptoms: Isolierung von *Acinetobacter lwoffii* bei einem

- Rosenköpfchen (*Agapornis roseicollis*) mit schwerer Atemnot. Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 147 (6), 267-269.
53. Ruiz J. y Roque M. 2009. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-oriental peruano. Ciencia e Investigación, 12 (1), 41-47.
54. SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2012. El Estado de México primer lugar en producción y consumo de conejo. Boletín 78. México. 2.
55. Salama A.A., AbouLaila M., Terkawi M.A., Mousa A., El-Sify A., Allaam M., Igarashi I. 2014. Inhibitory effect of allicin on the growth of *Babesia* and *Theileria equi* parasites. Parasitology research, 113 (1), 275-283.
56. Salazar Córdova, L. 2014. Efecto antimicrobiano de extractos de *Allium sativum* L." ajo" sobre el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
57. Salem A.Z., Ryena A.C., Elghandour M.M., Camacho L.M., Kholif A.E., Salazar M.C., Mariezcurrena M.A. 2014. Influence of *Salix babylonica* extract in combination or not with increasing levels of minerals mixture on *in vitro* rumen gas production kinetics of a total mixed ration. Italian Journal of Animal Science, 13 (4), 3110.
58. Sánchez M.A. 2013. Efecto inhibitorio de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. Universidad de Veracruzana en: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32118/1/sanchezaguilarmariaantonina.PDF>. Consultado: 31 de Agosto de 2017.
59. Segado-Arenas A., Alonso-Ojembarrena A., Lubián-López S.P., García-Tapia A. M. 2012. *Pantoea agglomerans*: un nuevo patógeno en la unidad de cuidados intensivos neonatales: a new pathogen at the neonatal intensive care unit. Archivos argentinos de pediatría, 110 (4), 77-79.
60. Singh V.K. y Singh D.K. 2008. Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum* L.). Annual Review of Biomedical Sciences, 10.

61. Somolinos Palencia, J. 1990. El código de la Cruz Badiano. Salud Pública de México, 32 (5).
62. USDA. 2013. Nutrient data for raw garlic .Disponible: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2953?fg=Vegetables+and+Vegetables+Products&man=&facet=&format=&count=&max=25&offset=150&sort=&qlookup>. Consultado 29 de agosto de 2017.
63. Vila J., Álvarez-Martínez M.J., Buesa J., Castillo J. 2009. “Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales”. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 27: 406-411.
64. Vullo D., Wachsman M., Alche L. 2000. *Microbiología en Práctica. Manual de técnicas de laboratorio para la enseñanza de Microbiología básica y aplicada*. Primera edición Editorial Atlante S.R.L., Buenos Aires.
65. Wayne, P.A. USA: CLSI. 2012. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Second Informational Supplement. CLSI Document M100-S22*.
66. Weinberg M.A. y Bral M. 1999. Laboratory animal models in periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 26 (6), 335-340.

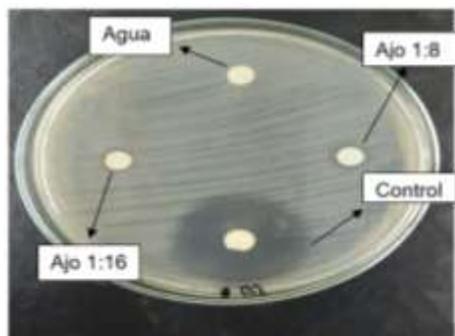
XV. ANEXOS

Figura 3. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de boca de conejo.



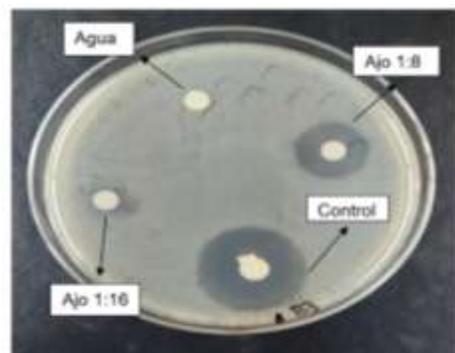
En la Figura 3 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 (0.125 grs/mL) es de 10.96 mm (diámetro) sobre la bacteria *Escherichia coli*, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 21.20 mm mientras que la concentración 2 (0.0625 grs/mL) no mostró resultados.

Figura 4. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Acinetobacter Iwoffii* aislada de boca de conejo.



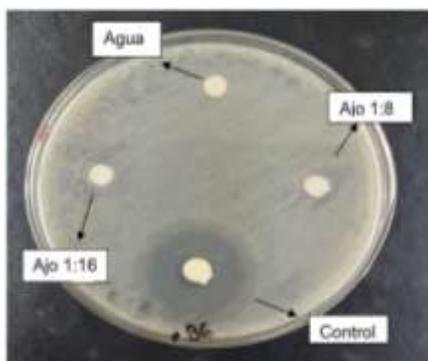
En la Figura 4 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 8.61 mm sobre la bacteria *Acinetobacter Iwoffii*, mientras que en la concentración 2 es de 8.42 mm, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetroprim) que inhibió 30.64 mm.

Figura 5. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de boca de conejo.



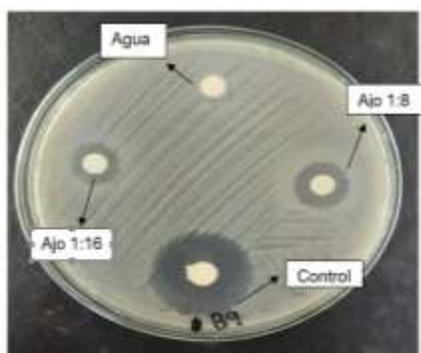
En la Figura 5 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 17.48 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 10.97 mm, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 26.53 mm.

Figura 6. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Pantoea agglomerans* aislada de boca de conejo.



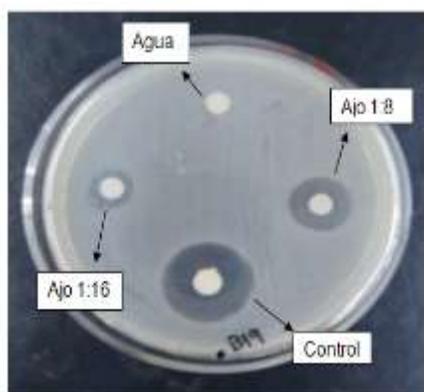
En la Figura 6 se muestra que no hubo inhibición en ninguna de las concentraciones del EAA sobre la bacteria *Pantoea agglomerans* a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetroprim) que inhibió 27.05 mm.

Figura 7. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de boca de conejo.



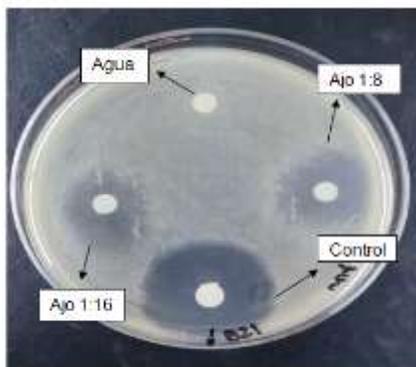
En la Figura 7 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 13.31 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 11.54 mm, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 25.45 mm.

Figura 8. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Pantoea agglomerans* aislada de boca de conejo.



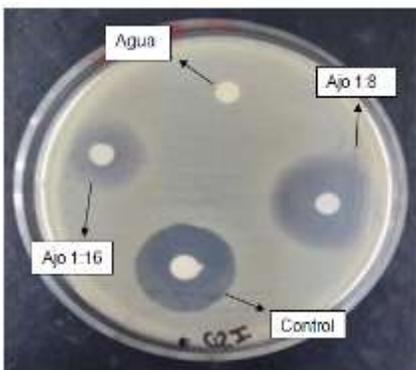
En la Figura 8 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 15.55 mm, sobre la bacteria *Pantoea agglomerans*, mientras que en la concentración 2 es de 10.79 mm a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetroprim) que inhibió 23.45 mm.

Figura 9. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Shigella* sp aislada de boca de conejo.



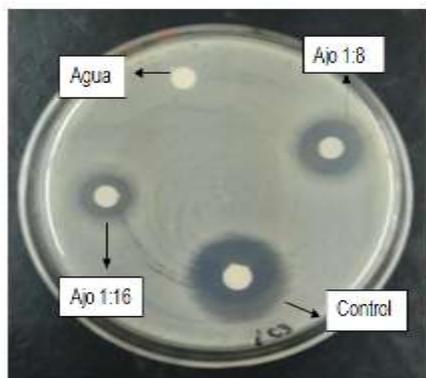
En la Figura 9 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 21.51 mm sobre la bacteria *Shigella* sp, mientras que en la concentración 2 es de 18.5 mm, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 32.07 mm.

Figura 10. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Shigella* sp aislada de ciego de conejo.



En la Figura 10 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 26.77 mm sobre la bacteria *Shigella* sp, mientras que en la concentración 2 es de 18.22 mm, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetoprim) que inhibió 25.59 mm.

Figura 11. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ciego de conejo.



En la Figura 11 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 16.07 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 13.60 mm, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 23.97 mm.

Figura 12. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ciego de conejo.



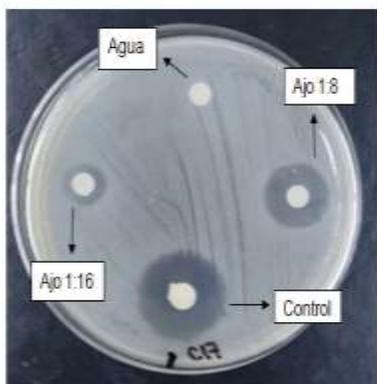
En la Figura 12 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 16.17 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 12.19 mm, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetroprim) que inhibió 21.89 mm.

Figura 13. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Shigella* sp aislada de ciego de conejo.



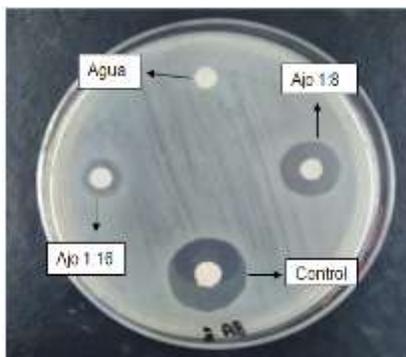
En la Figura 13 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 30.34 mm sobre la bacteria *Shigella* sp, mientras que en la concentración 2 es de 21.49 mm, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 47.43 mm.

Figura 14. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ciego de conejo.



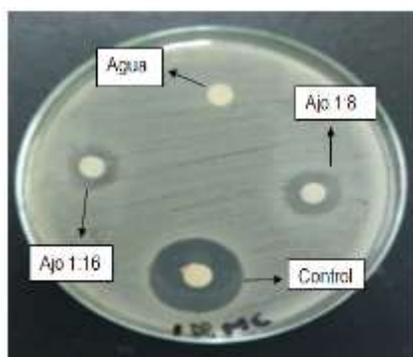
En la Figura 14 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 17.67 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 11.20 mm, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 23.41mm.

Figura 15. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ano de conejo.



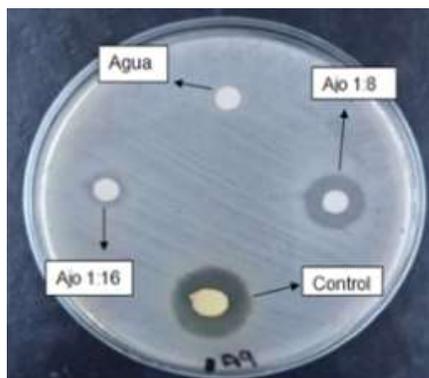
En la Figura 15 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 15.58 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 9.73 mm, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetroprim) que inhibió 21.16 mm.

Figura 16. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ano de conejo.



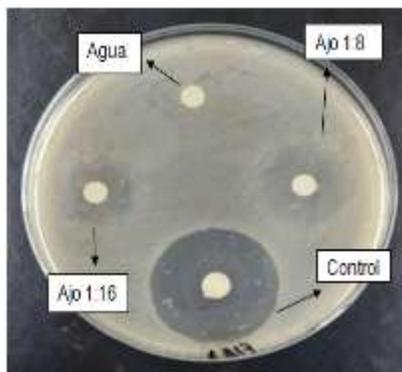
En la Figura 16 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 12.11 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 9.81 mm, a diferencia del control (Amikacina) que inhibió 24.36 mm.

Figura 17. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Escherichia coli* aislada de ano de conejo.



En la Figura 17 se muestra que la inhibición del EAA es de 14.10 mm sobre la bacteria *Escherichia coli*, mientras que en la concentración 2 es de 8.59 mm, a diferencia del control (Gentamicina) que inhibió 18.77mm.

Figura 18. Prueba de sensibilidad bacteriana sobre la bacteria *Pantoea agglomerans* aislada de ano de conejo.



En la Figura 18 se muestra que la inhibición del EAA en la concentración 1 es de 23.91mm sobre la bacteria *Pantoea agglomerans*, mientras que en la concentración 2 es de 19.15 mm, a diferencia del control (Sulfametoxazol/Trimetoprim) que inhibió 33.49