

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



**DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBIÓTICO *IN VITRO*
DEL SUERO DEL ZOPILOTE COMÚN (*Coragyps atratus*)**

LINCOLN ALBERTO CARRANZA AUSTIN

Médico Veterinario

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2014

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



**DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBIÓTICO *IN VITRO*
DEL SUERO DEL ZOPILOTE COMÚN (*Coragyps atratus*)**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

LINCOLN ALBERTO CARRANZA AUSTIN

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, NOVIEMBRE 2014

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

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

ASESORES

M.V. HECTOR EDUARDO FUENTES ROUSSELLIN

M.V. BLANCA JOSEFINA ZELAYA DE ROMILLO

M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En el cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBIÓTICO *IN VITRO* DEL SUERO DEL ZOPILOTE COMÚN (*Coragyps atratus*)

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

Como requisito previo a optar el título de profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO A:

Yasmin Austin:

Mi madre que fue quien me dio la fuerza y el ejemplo para no rendirme

Carlos Carranza:

Mi padre, que me dio su apoyo y motivación para seguir adelante

AGRADECIMIENTOS:

- A mis padres: Yasmin Austin y Carlos Carranza, por el amor, el apoyo y la fuerza que me han dado durante todos estos años, este logro es tan mío como de ustedes.
- A mi abuelita Chana: por los cuidados y consejos que solo una abuela puede dar.
- A todos mis hermanos: pero en especial a José Raúl, que en todo este tiempo no ha sido solo mi hermano sino también mi mejor amigo y mi razón para querer ser una mejor persona.
- A Bayron Cantoral y Argentina López: por ayudarme y acompañarme también durante todo el largo camino.
- A mis padrinos: Byron Oliva y Miriam de Oliva: por ser mas parte que muchos otros, y por el gran amor que me han mostrado.
- A mis amigos de Veterinaria: Godzu, Zamora, Serrano, Waleska, Edgar, Alejandro, Youssef, Carlos, Carmen, Deborah, Raizha, Vico, Tephah, Daniel, Claudia, Olson, Anita, Zepy, Chino, David y los demás que no mencione. Gracias por ser parte de mis historias y parte de quien soy.
- A la organización: Gustavo, Oscar, José y Alan; gracias mucha por ayudarme a crecer.

A la 2004 y 2005:

Miguel, Miriam, Sergio, Rubén, Cynthia y en especial a las Familias Hernández Chea y Rosales Aguirre por haberme tratado como uno más de su familia.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo General.....	4
3.2 Objetivo Específico.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1 Resistencia bacteriana.....	5
4.2 Mecanismo de resistencia de las bacterias.....	6
4.3 <i>Staphylococcus Aureus</i>	7
4.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
4.4.1 Resistencia a los antibióticos.....	10
4.5 Cocodrilina.....	10
4.6 El zopilote común.....	12
4.6.1 Clasificación taxonómica.....	12
4.6.2 Descripción.....	12
4.6.3 Medidas biométricas.....	12
4.6.4 Rango geográfico.....	13
4.6.5 Hábitat.....	13
4.6.6 Comportamiento alimenticio.....	13
V. MATERIALES Y MÉTODOS	15
5.1 Área de estudio.....	15
5.2 Materiales.....	15
5.2.1 Recursos humanos.....	15
5.2.2 Recursos de campo.....	15
5.2.3 Recursos biológicos.....	16
5.2.4 Recursos de laboratorio.....	16
5.3 Metodología.....	16

5.3.1	Tamaño de la muestra.....	16
5.3.2	Procedimiento de campo.....	17
5.3.3	Procedimiento de laboratorio.....	17
5.3.4	Interpretación de resultados.....	18
5.3.5	Método estadístico.....	19
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
VII.	CONCLUSIONES.....	24
VIII.	RECOMENDACIONES.....	25
IX.	RESUMEN.....	26
	SUMMARY.....	27
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1

Resultados obtenidos de la prueba de inhibición del suero de zopilote
(*Coragyps atratus*) frente a las bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa*.....20

Cuadro No. 2

Comparación de efecto antibiótico de suero de zopilote con el efecto
de antibióticos de uso cotidiano.....21

I. INTRODUCCIÓN

La problemática que presentan las bacterias a la salud pública ha incrementado conforme el paso de los años debido a la gran capacidad de adaptación que presentan a su entorno. Éstas presentan una serie de características que las hacen desarrollar resistencia a su medio, como la cápsula, y en algunas ocasiones incluso a antibióticos ya que hay bacterias que son capaces de cambiar características físicas o químicas en ellas que les permiten inhibir el efecto de los antibióticos.

El problema que presenta la resistencia bacteriana a los antibióticos es que la dificultad de tratar infecciones ha aumentado y conforme el tiempo pasa, ejercemos mas presión de adaptación sobre ellas y se vuelven incluso más resistentes; teniendo bacterias como el *Staphylococcus aureus*, que es un coco gram positivo el cual es un problema importante en animales inmunosuprimidos al presentarse infecciones, ya que existe una gran dificultad para tratarla por la resistencia a la penicilina y antibióticos similares que esta bacteria ha desarrollado. También tenemos a *Pseudomonas aeruginosa*, que es un bacilo gram negativo que presenta uno de los mayores problemas en infecciones hospitalarias secundarias.

Ante este problema, la industria médica se encuentra estancada desde el punto de vista de los antibióticos, ya que los de uso convencional han dejado de funcionar frente a las bacterias, pero actualmente se llevan a cabo investigaciones en otras fuentes potenciales de antibióticos, como por ejemplo los cocodrilos. Estos animales a pesar de sufrir heridas graves y vivir en medios muy contaminados, no muestran signos de enfermedad, esto se debe a que ellos poseen un péptido en la sangre con capacidades antibióticas al que se denominó “Cocodrilina”.

Al existir este péptido en la sangre de los cocodrilos se generó la duda de, si en animales con condiciones similares a los cocodrilos podrían existir compuestos similares, como por ejemplo los zopilotes comunes (*Coragyps atratus*) que también son animales que viven en medios altamente contaminados. Se han realizado estudios que muestran la gran resistencia que poseen estos animales, lo poco que se enferman y lo prolíficos que son en su medio, lo que podría sugerir la presencia de algún compuesto con la misma capacidad que la cocodrilina. Con este estudio se pretende investigar si dicho compuesto existe y poder contribuir con el estudio de nuevos antibióticos.

II. HIPÓTESIS

El suero del Zopilote común (*Coragyps atratus*) demuestra actividad antimicrobiana.

La actividad antibacteriana tiene la misma magnitud contra las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general:

- Generar información sobre las propiedades antibióticas del suero del zopilote común (*Coragyps atratus*).

3.2 Objetivo específico:

- Determinar el efecto inhibitorio del suero del zopilote común (*Coragyps atratus*) sobre las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Resistencia bacteriana

La resistencia antibiótica es una consecuencia de la evolución vía selección natural. La acción antibiótica es una presión ambiental: las bacterias que tengan una mutación que les permita sobrevivir, se reproducirán; estas pasarán este rasgo a su descendencia, que será una generación totalmente resistente. (Sánchez, 2006)

Varios estudios han demostrado que ciertos patrones de uso de los antibióticos afectan en gran medida al número de organismos resistentes que se desarrollan. El uso excesivo de antibióticos de amplio espectro, tales como las cefalosporinas de segunda y tercera generación, acelera en gran medida el desarrollo de resistencia a la meticilina. Otros factores que contribuyen a la resistencia incluyen los diagnósticos incorrectos, prescripciones innecesarias, uso incorrecto de antibióticos por parte de los pacientes y el uso de los antibióticos como aditivos en la alimentación del ganado para aumentar el engorde. (Baos, 2006)

La resistencia bacteriana a antibióticos no es un fenómeno nuevo, la innovación en el arsenal químico disponible para el control de infecciones se viene dando desde 1945, cuando se reportó la primera evidencia de resistencia a la penicilina: el llamado «medicamento que ganó la 2ª Guerra Mundial». Después de 1945 se han desarrollado varios grupos de antibióticos derivados de las moléculas originales en los cuales se hacen cambios en la estructura química de la molécula original sin hacer cambios en el sitio activo de la misma. (Sánchez, 2006.)

Esto ha traído las llamadas generaciones de antibióticos, llegándose a tener cuatro generaciones y penicilinas y cefalosporinas, tres generaciones de antibió-

ticos macrólidos e innumerable cantidad de moléculas antibióticas que se volvieron obsoletas. Estos datos reales son testimonio de cuán capaces son las bacterias de desarrollar resistencia a los antibióticos impulsadas por la presión evolutiva que el arsenal químico de la humanidad ha impuesto sobre ellas. (Sánchez, 2006)

4.2 Mecanismo de resistencia de las bacterias

Las bacterias, gracias a su tremenda capacidad de adaptación, pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos; existe una resistencia natural o intrínseca en las bacterias cuando estas carecen de diana para un antibiótico (como la falta de pared en el *Mycoplasma* en relación con los betalactámicos). La resistencia adquirida es la más importante desde el punto de vista clínico, se origina a través de la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica, o por mecanismos de transferencia genética. La primera puede ir seguida de la selección de las mutantes resistentes (rifampicina, macrólidos), pero la resistencia transmisible es la más importante, estando mediada por plásmidos, transposones o integrones que pueden pasar de una bacteria a otra. (Pérez, 1998)

Las bacterias se hacen resistentes a los antibióticos al desarrollar mecanismos de resistencia que impiden al antibiótico ejercer su mecanismo de acción; los mecanismos de resistencia de las bacterias son fundamentalmente tres:

- Inactivación del antibiótico por enzimas: la bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico, las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas. En los gram positivos suelen ser plasmídicas, inducibles y extracelulares, y en las gram negativas de origen plasmídico por transposones, constitutivas y periplasmáticas. También hay enzimas modificantes de

aminoglucósidos y aunque no es este su principal mecanismo de resistencia, también el cloranfenicol, las tetraciclinas y los macrólidos pueden ser inactivados por enzimas. (Pérez, 1998)

- Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana: las bacterias producen mutaciones en las porinas de la pared que impiden la entrada de ciertos antibióticos (betalactámicos) o alteran los sistemas de transporte (aminoglucósidos en los anaerobios). En otras ocasiones pueden provocar la salida del antibiótico por un mecanismo de expulsión activa, impidiendo que se acumule en cantidad suficiente para que actúe eficazmente. (Pérez, 1998)
- Alteración por parte de la bacteria a su punto diana: impidiendo o dificultando la acción del antibiótico; aquí podemos contemplar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de quinolonas), del ARNr 23s (macrólidos) de las enzimas PBPs (proteínas filtradoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos). (Pérez, 1998)

Una misma bacteria puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diversas especies bacterianas, esto complica sobremanera el estudio de la resistencia de las bacterias a los distintos antimicrobianos. (Pérez, 1998)

4.3 *Staphylococcus aureus*

Esta bacteria es uno de los principales patógenos resistentes a los antibióticos, se encuentra en las mucosas y en la piel de aproximadamente la mitad de la población y es extremadamente adaptable a la presión antibiótica. Fue la primera bacteria en la que se descubrió la resistencia a la penicilina en 1947. La

meticilina era entonces el antibiótico alternativo, pero desde entonces ha sido reemplazada por la oxacilina debido a su importante toxicidad renal. El primer MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) fue inicialmente detectado en Inglaterra en 1961 y es ahora bastante común en los hospitales. MRSA fue responsable del 37% de los casos locales de sepsis en Inglaterra en 1999, y hasta un 4% en 1991. La mitad de todas las infecciones de *S. aureus* en EE.UU. son resistentes a penicilina, meticilina, tetraciclina y eritromicina. (Maree, 2007)

Es un patógeno importante que coloniza e infecta a pacientes hospitalizados con defensas disminuidas y a individuos inmunocompetentes en la comunidad. Produce patologías diversas, desde un absceso de piel hasta septicemias mortales y choque tóxico estafilocócico (SSTS); además, puede ser causante de intoxicación por alimentos, la cual ocurre en epidemias y es debida a la ingestión de la enterotoxina B termoestable preformada, producida por una cepa toxigénica de *S. aureus* que crece en el alimento. (Maree, 2007)

Son cocos grampositivos de 0,5 a 1,5 μm de diámetro, que se agrupan en parejas y en tétradas y que en forma característica se dividen en más de un plano para formar racimos irregulares, la pared celular contiene peptidoglucano y ácido teicoico. *S. aureus* es anaerobio facultativo y habitualmente catalasa y coagulasa positivos, no esporulados, resistentes ya que pueden sobrevivir a muchas condiciones ambientales adversas; es productor de gran variedad de enzimas y toxinas, así como la fermentación del manitol y positivo para la prueba de la desoxirribonucleasa. (Maree, 2007)

La β -lactamasa es una enzima que inactiva la penicilina. Las proteínas fijadoras de penicilina son enzimas localizadas en la membrana citoplasmática implicadas en el ensamblaje de la pared bacteriana. Una proteína fijadora de penicilina nueva es responsable de la resistencia del estafilococo a las penicilinas

penicilinas-resistentes y a las cefalosporinas. La coagulasa es un activador de la protrombina que convierte el fibrinógeno en fibrina. *S. aureus* tiene componentes diversos y productos que contribuyen con la patogénesis de la infección. Estos componentes y productos tienen funciones que se sobreponen y que pueden actuar solos o en sinergia. (Hurtado, 2007.)

4.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Es un relevante patógeno oportunista causante de infecciones crónicas; una de las características más preocupantes de *P. aeruginosa* es que presenta una baja susceptibilidad antibiótica. Esta baja susceptibilidad es debida a la acción concertada de un bombeo multidroga al exterior, genes en los cromosomas que codifican la resistencia antibiótica y la baja permeabilidad de la envoltura celular bacteriana. Además de esta resistencia intrínseca, *P. aeruginosa* desarrolla fácilmente una resistencia adquirida por mutaciones en los genes cromosómicos o por transferencia horizontal de genes. El agrupamiento de varios genes de resistencia a los antibióticos en integrones favorece la adquisición concertada de los factores determinantes a la resistencia antibiótica. Algunos estudios recientes muestran que los fenotipos de resistencia asociados a la formación de biopelículas o a la aparición de pequeñas variantes en las colonias puede ser importante para la respuesta de las poblaciones de *P. aeruginosa* al tratamiento antibiótico. (Cornelis, 2008)

Es un microorganismo de amplia distribución en la naturaleza, que se encuentra frecuentemente en el suelo, el agua, ocasionalmente en la piel, nasofaringe, el tubo digestivo del hombre y los animales y en todo lugar donde exista materia orgánica en descomposición. (Stanchi, 2007)

Es un bacilo gramnegativo de 0.5 a 1 μm de largo por 3 a 4 μm , es móvil por la presencia de uno a tres flagelos polares. Posee pili y fimbrias. No forma

esporas. Algunas cepas están rodeadas de una capa de mucus o polisacárido extracelular denominado “slime”, con capacidad de formar biofilm. (Stanchi, 2007)

Es un bacilo aerobio estricto, utiliza el oxígeno como aceptor final de electrones, aunque puede crecer en un ambiente anaeróbico empleando nitratos como aceptor terminal de electrones. No tiene exigencias nutritivas y crece en medios comunes de laboratorio. En medios sólidos puede formar dos tipos de colonias: una grande, de 3 a 5 mm de diámetro, lisa, con centro elevado y bordes ondulados y otra pequeña de alrededor de 2 mm, rugosa y convexa. (Stanchi, 2007)

También se puede cultivar en agar McConkey y en todos los medios utilizados para el crecimiento de enterobacterias. Un medio de elección es agar cetrimida, por la resistencia que presenta esta especie a los compuestos de amonio cuaternario. (Stanchi, 2007)

4.4.1. Resistencia a los antibióticos

Es una bacteria resistente y puede mutar a cepas multiresistentes durante el tratamiento. Se han identificado numerosos mecanismos de resistencia los cuales son: la resistencia natural o intrínseca, codificada en el cromosoma de todas las especies; la resistencia mutacional, que es la impermeabilidad y el flujo en betalactámicos. La depresión de betalactamasas cromosómicas, el flujo y la alteración de la ADN girasa que inactivan las quinolonas fluoradas; la adquirida, mediante plásmidos por conjugación de enzimas inactivantes de aminoglucósidos y betalactamasas plasmídicas transferibles. (Stanchi, 2007)

4.5 Cocodrilina

La inmunidad de las especies animales ha evolucionado desde mecanismos innatos hasta respuestas inmunes más complejas y adaptables, diseñadas para

reconocer materiales ajenos a estos. El sistema inmune innato también juega un rol importante al intuir a la respuesta inmune adaptativa. El concepto de una inmunidad innata se refiere a la primera línea de defensa del huésped, la cual sirve para restringir las infecciones en las primeras horas luego de la exposición a los microorganismos. Es ampliamente conocido que la sangre contiene elementos importantes que median respuestas rápidas a la infección. Estudios han demostrado que el sistema de complemento es parte del mecanismo innato de peces y otros vertebrados poiquilotérmicos y es más diverso que el de otros vertebrados superiores, así que un espectro más amplio de antígenos puede ser reorganizado. (Sirosky, 2009)

Los cocodrilos exhiben un comportamiento social bien definido, el cual generalmente resulta en heridas serias como consecuencia de disputas sociales, incluyendo la pérdida de miembros; a pesar de la severidad de muchas heridas, típicamente hay poca señal de infección. Una pregunta común es, ¿como estos animales pueden sobrevivir a heridas tan serias sin mostrar signos obvios de enfermedad? particularmente cuando viven en ambientes que contienen microbios que podrían potencialmente causar una infección. (Sirosky, 2009)

La actividad antimicrobiana de la sangre de los cocodrilos fue descrita anteriormente, los factores higiénicos y contaminantes de sus condiciones de vida sugieren que estos animales tienen un sistema inmune muy potente y eficiente. (Sirosky, 2009)

Los agentes antibacterianos fueron purificados del suero de cocodrilo y se sumaron un total de 6, los cuales se demostró poseían actividad contra *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*. El análisis de estas moléculas reveló que son unas moléculas pequeñas, con una masa molecular inferior a 1 kilo Dalton. El escaneo por microscopio electrónico demostró

que estos agentes atacan la membrana bacteriana y actúan como péptidos antimicrobianos, este agente antimicrobiano en el suero representa la primera línea del sistema de defensa inmune en los cocodrilos. (Preecharram, 2008)

4.6 El zopilote común

4.6.1 Clasificación taxonómica

Reino:	<i>Animalia</i>
Phylum:	<i>Chordata</i>
Subphylum:	<i>Vertebrata</i>
Clase:	<i>Aves</i>
Orden:	<i>Ciconiformes</i>
Familia:	<i>Ciconidae</i>
Género:	<i>Coragyps</i>
Especie:	<i>atratus</i>

4.6.2 Descripción

Es una especie que se ha beneficiado por las actividades humanas, y se encuentra en mayor número en áreas habitadas, comparado con áreas boscosas. Al igual que el zopilote de cabeza roja, sus poblaciones están en aumento y su distribución se ha expandido como respuesta a los cambios climáticos y a la extensión de las poblaciones humanas. (Morales, 2010)

4.6.3 Medidas biométricas

- Largo: 50-69 centímetros
- Envergadura: 137 – 152 centímetros

- Peso: 2 – 2.7 kg.
- No existe dimorfismo sexual.
- Cola corta y terminada en cuadrado.
- Piernas largas y gruesas de color grisáceo.
- Pico largo, oscuro y grueso.
- Cuello y cabeza grisáceos y desplumados.
- Plumaje completamente negro excepto plumas primarias externas blancas.
- Longevidad: 21 años en cautiverio, 16 años confirmados en estado silvestre.

4.6.4 Rango geográfico

Son residentes de temperaturas tropicales y templadas, desde el sur de Canadá hasta Suramérica. En las porciones más nórdicas de su distribución presentan una migración sureña en el otoño y retorno en primavera. (Morales, 2010)

4.6.5 Hábitat

Se mantienen en áreas abiertas, evitando bosques densos, siendo fácilmente visibles en bajos campos abiertos, terreno desértico, basureros, áreas urbanas y rurales, habitan sin problema desde dunas desérticas hasta pantanos. (Morales, 2010)

4.6.6 Comportamiento alimenticio

Localiza su alimento por visualización del mismo, su sentido del olfato no es

muy desarrollado en comparación del zopilote de cabeza roja (*Cathartes aura*), especie con la que cohabita y la utiliza como localizadora de alimento. Se alimenta de carroña, carne fresca, desechos humanos. Al descubrir un cadáver o fuente de alimento, un zopilote en solitario circula el aire por varias horas, atrayendo a otros individuos, hasta que caen en picada con aleteos frenéticos, que llaman la atención de otros ejemplares hacia la fuente de alimento. Se han registrado individuos alimentándose de crías de garza, patos domésticos, becerros recién nacidos, mamíferos y aves pequeñas, fruta madura y podrida. (Ocando, 1991)

El zopilote se caracteriza por alimentarse de carroña, en general, tejido animal en descomposición. Se extiende por toda América y se constituye como el ave carroñera más común de todas. La carroña es un reservorio considerable de microorganismos de carácter patógeno y saprófito, que comprometería la integridad y salud de otros animales con hábitos alimentarios similares. (Ocando, 1991)

El zopilote al alimentarse está expuesto a una agresión biológica constante, frente a la cual es capaz de defenderse, dada la fuerte estabilidad de la especie, así como la longevidad individual. (Ocando, 1991)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

El siguiente estudio se realizó en el país de Guatemala, obteniendo las muestras de animales localizados en distintos lugares del mismo en donde hay poblaciones de zopilotes. Guatemala es un país que cuenta con una gran variedad climática, producto de su relieve montañoso que va desde el nivel del mar hasta los 4220 metros sobre ese nivel. Posee una superficie de 108.889 km².

5.2 Materiales

5.2.1 Recursos humanos

- Asesores de tesis
- Estudiante investigador
- Asistentes de campo

5.2.2 Recursos de campo

- Agujas hipodérmicas
- Jeringas de 5ml
- Alcohol
- Algodón
- Tubos vacutainer sin anticoagulante
- Gradilla para tubos
- Hielera con refrigerante
- Cámara fotográfica
- Tubos de PVC
- Malla de gallinero

- Anillos para la identificación de los animales
- Red para de captura
- Guantes de cuero

5.2.3 Recursos biológicos

- Zopilote común (*Coragyps atratus*)
- Carne en descomposición
- Cultivos de *Staphylococcus aureus*
- Cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*

5.2.4 Recursos de laboratorio

- Asa bacteriológica
- Mechero
- Tubos de ensayo esterilizados
- Papel absorbente en círculos pequeños
- Incubadora
- Agar sangre
- Agar Mueller Hinton
- Regla
- Contador de colonias

5.3 Metodología

5.3.1 Tamaño de la muestra

Los lugares con poblaciones de zopilotes se seleccionaron por conveniencia y se procedió a capturar 20 zopilotes para obtener la muestra.

5.3.2 Procedimiento de campo

1. Con la ayuda de los trabajadores y residentes de los vertederos y áreas aledañas a los lugares de captura, se atraparon e inmovilizaron 20 zopilotes.
2. Se extrajeron 3 ml de sangre de la vena alar con una jeringa de 3 ml y una aguja hipodérmica.
3. Se colocó la sangre dentro de un tubo vacutainer sin anticoagulante y se dejó reposar 1 día en refrigeración hasta que se formó el coágulo y se liberó el suero.
4. Se les colocó un anillo en el miembro pélvico derecho antes de liberarlos, para identificarlo y así evitar riesgo de recaptura.

5.3.3 Procedimiento de laboratorio

Se aislaron las cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa* en agar sangre. Una vez aisladas, en un tubo de fondo plano, se hizo una dilución de 0.5 McFarland con 5 ml de solución salina estéril. Con ésta se realizó la siembra masiva en los agares Mueller Hinton, usando 2 para cada muestra de suero, una con *Pseudomonas* y una con *Staphylococcus*.

Se tomaron círculos de papel absorbente, los cuales estaban previamente esterilizados y se embebieron en cada una de las muestras. Se colocaron los círculos de papel embebidos con pinzas en el agar en el que previamente se realizaron las siembras masivas y se pusieron en una incubadora a 37° C por 24 horas.

Después de las 24 horas, se retiraron las cajas de la incubadora para verificar si hubo inhibición. En caso de haberla, se midió con una regla desde el centro hasta el borde del halo.

5.3.4 Interpretación de resultados

El resultado del experimento se interpretó a través del halo de inhibición.

Presencia del halo de inhibición: se observa como un área que rodea al papel absorbente en la que no hay crecimiento bacteriano. Este resultado se interpretó como positivo a inhibición de crecimiento bacteriano.

Ausencia de halo de inhibición: no se observa una diferencia en el área que rodea al papel absorbente, ya que las bacterias crecen en toda la superficie del agar por igual. Este resultado se interpretó como negativo a inhibición de crecimiento bacteriano.

En los casos en los que sí existió un halo de inhibición, se midió en milímetros el radio del mismo para así obtener el diámetro. En caso de no ser un halo de inhibición circular y haberse presentado uno con forma irregular, se midieron las distancias de los puntos más alejados al centro y luego se calculó un promedio de las distancias, obteniendo así un radio aproximado y por ende el diámetro.

Debido a que no existen registros anteriores de este análisis, no hay una medida comparativa que utilizar, así que para este estudio, con un halo de 0 a 1 mm se consideró negativo a inhibición, y de 1 mm en adelante se consideró como positivo a inhibición.

5.3.5 Método estadístico

Se realizó un análisis porcentual de los resultados para determinar el porcentaje de inhibición en caso de que existiera.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aumento en la resistencia bacteriana a los antibióticos es uno de los problemas médicos más importantes de nuestro tiempo, ya que es el causante de infecciones hospitalarias y una mayor dificultad en el tratamiento de enfermedades bacterianas. En vista de la necesidad que se tiene de encontrar nuevos métodos para combatir las bacterias, se buscan nuevas opciones de fármacos antibióticos. Por ello, el presente estudio tiene como objetivo principal evaluar la actividad antibiótica del suero del zopilote común (*Coragyps atratus*) frente a dos de las bacterias que han generado más resistencia: *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Para la realización de dicho estudio fue necesario recolectar un total de 20 muestras de suero de zopilote. Cinco fueron obtenidas de aves capturadas en el rastro municipal de Puerto Barrios, Izabal. Otras 10 muestras se obtuvieron de aves capturadas en el relleno sanitario de la zona 3 de la ciudad capital. Las restantes cinco fueron obtenidas de animales capturados en el Cementerio General de la ciudad capital. Los resultados obtenidos se pueden observar en la Cuadro no. 1

Cuadro no. 1: Resultados obtenidos de la prueba de inhibición del Suero de Zopilote (*Coragyps atratus*) frente a las bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa*

Ave	Procedencia	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
1	Rastro de Izabal	18 mm	10 mm
2	Rastro de Izabal	16 mm	16 mm
3	Rastro de Izabal	18 mm	16mm
4	Rastro de Izabal	14 mm	18 mm
5	Rastro de Izabal	16 mm	16 mm
6	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
7	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
8	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
9	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
10	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm

11	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
12	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
13	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
14	Vertedero zona 3	0 mm	0 mm
15	Cementerio General	0 mm	0 mm
16	Cementerio General	0 mm	0 mm
17	Cementerio General	0 mm	0 mm
18	Cementerio General	0 mm	0 mm
19	Cementerio General	0 mm	0 mm
20	Cementerio General	0 mm	0 mm
PROMEDIO		2.05 mm	1.9 mm

Fuente: Elaboración propia

Se puede observar que las cinco muestras que fueron tomadas en el rastro municipal de Puerto Barrios, Izabal, presentaron un halo de inhibición de crecimiento bacteriano con diámetros que comprende de 14 a 18 milímetros para *S. aureus* (16.4 en promedio) y de 10 a 18 milímetros para *P. aeruginosa* (15.2 en promedio).

El 25% de las muestras procesadas mostraron sensibilidad a la capacidad antibiótica del suero frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Si comparamos el efecto antibiótico que se observó en el suero de zopilote con el efecto antibiótico de fármacos de uso cotidiano según la empresa OXOID, podemos tener una idea de su efectividad, como se observa en la cuadro no. 2.

Cuadro no. 2: Comparación de efecto antibiótico de suero de zopilote con el efecto de antibióticos de uso cotidiano.

Antibiótico	<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	Resistente	Sensible	Resistente	Sensible
Amikacina	0 – 14mm	> 17mm	0 – 14mm	> 17mm
Amoxicilina + ac. clavulánico	0 – 19mm	> 20mm	0 – 19mm	> 20mm
Gentamicina	0 -12mm	> 15mm	0 -12mm	> 15mm
Penicilina	0 – 28mm	> 29mm	0 – 28mm	> 29mm
Suero de zopilote	16.4mm		15.2mm	

Fuente: Elaboración propia

Las 15 muestras restantes, las cuales fueron tomadas de animales capturados en el relleno sanitario de la zona 3 y en el Cementerio General de la Ciudad de Guatemala, sí presentaron crecimiento bacteriano.

La diferencia de resultados obtenidos entre las muestras tomadas en el rastro de Izabal, en el relleno sanitario y el cementerio de la ciudad capital, sugiere que hay algún factor ya sea alimenticio o ambiental que influye en la capacidad antibiótica observada en las mismas. Una de las posibilidades es que los zopilotes provenientes del rastro municipal de Puerto Barrios, Izabal, al alimentarse con restos de animales faenados en el lugar, pudieran estar ingiriendo desechos que contengan trazas de antibióticos, y al hacerlo de manera sostenida, pudieran tener una cantidad suficiente de antibiótico circulante que les dé esta capacidad de inhibición de crecimiento bacteriano.

En 2005, Soulsby concluyó que la cepa de *Staphylococcus aureus* que es resistente a la Metacilina (MRSA) que afecta a los animales, deriva de los humanos. Se ha comprobado que el uso irresponsable de antibióticos en animales destinados al consumo humano es un factor que influye en el desarrollo de mecanismos de resistencia por parte de las bacterias. Se han encontrado en gatos, perros y caballos cepas de *Staphylococcus* que pueden causar las mismas enfermedades que en los humanos, los cuales pueden transferir la bacteria a los animales y viceversa.

Si se comprobara que el efecto antibiótico que se observó en las muestras obtenidas de los zopilotes capturados en el rastro de Puerto Barrios, se deriva del hecho que los zopilotes están consumiendo restos de animales que contienen antibióticos, implicaría un riesgo a la salud pública.

Actualmente se estima que más del 70% en volumen de los antibióticos producidos en EE.UU. se usa en alimentación animal (pollos, cerdos y vacas) en

ausencia de enfermedad. El uso de algunos antibióticos en la alimentación animal se ha asociado con la emergencia de cepas de bacterias resistentes a los antibióticos, incluyendo *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* y *Enterococcus*, entre otros. Existen pruebas sólidas en EE.UU. y en la Unión Europea de que esas bacterias resistentes causan infecciones a los seres humanos.(Nelson, 2007).

En el año 2000 la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (FDA) anunció su intención de revocar la autorización del uso de la fluoroquinolona en la producción avícola puesto que se comprobó que causó la aparición de infecciones de *Campylobacter* resistentes a la fluoroquinolona en seres humanos. (Nelson, 2007)

VII. CONCLUSIONES

- Se determinó que el 25% de las muestras procesadas de suero de zopilote común (*Coragyps atratus*) presentaron inhibición contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- Las muestras obtenidas en un rastro municipal de Puerto Barrios, Izabal presentaron efecto antibiótico contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Las muestras obtenidas en el relleno sanitario de la zona 3 y el cementerio general de la ciudad de Guatemala no presentaron efecto antibiótico.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio en el que se obtengan muestras de zopilotes que se alimenten de desechos en rastros y determinar si el suero posee efecto antibiótico.
- Hacer una comparación de resultados obtenidos de suero de zopilotes capturados en rastros, con suero de zopilotes que habiten en lugares donde tengan una dieta más variada.
- Generar más información sobre otras cualidades que puedan tener los zopilotes que puedan darle resistencia a patógenos.

IX. RESUMEN

El presente estudio tiene como propósito determinar la capacidad antibiótica del suero del zopilote común. Basados en lo prolíficos que son estos animales, la dieta que llevan y su aparente resistencia a enfermedades, da pauta a pensar que pueden tener algún antibiótico natural que los ayude a tener resistencia bacteriana.

Para tal fin, se capturaron 20 zopilotes y se les extrajo 3 ml de sangre que se dejó coagular para luego extraer el suero. En el laboratorio se embebieron discos de papel absorbente estéril con el suero y se enfrentaron a cultivos de *S. aureus* y *P.aeruginosa*, consideradas como los estándares de las bacterias Gram positivas y Gram negativas utilizadas para la determinación de resistencia a antibióticos. Esto se hizo para determinar si había capacidad antibiótica, expresada por medio de un halo de inhibición similar al de un antibiograma.

En los resultados se puede observar que hubo efecto antibiótico en 25% (5 muestras) de las muestras procesadas. Éstas provenían de animales capturados en un rastro municipal de Puerto Barrios, Izabal. Las otras 15, provenientes del relleno sanitario de la zona 3 y el cementerio general, no presentaron inhibición, lo que podría llevar a pensar que hay un factor ya sea alimenticio o ambiental que influyó en la inhibición de crecimiento que mostraron las primeras 5 muestras.

SUMMARY

The present study has as purpose to determine the antibiotic capacity of the American black vulture's blood serum. Based on how prolific they are, their diet and their apparent resistance to disease, one may think they could possibly have some kind of natural antibiotic that grants them resistance to bacteria.

To prove this, 20 vultures were captured. After the capture, 3 ml of blood was extracted and left to coagulate so the serum could be acquired. In the laboratory, small paper discs of sterilized absorbent paper were soaked in the serum and put in a petri dish with *S. aureus* and *P. aeruginosa* cultures, this bacteria are considered as the Standard Gram + and Gram – bacteria for antibiotic resistance tests. All this was made to determine if there was any antibiotic capacity in the serum, expressed as a inhibition halo similar to that of an antibiogram.

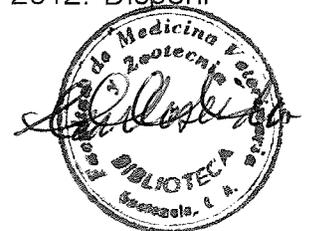
In the results we can observe that there was an antibiotic effect on 25% (5 samples) of the processed samples. This samples came from vultures captured in a slaughterhouse in Puerto Barrios, in the department of Izabal. The other 15 came from the zone 3 landfill and the general cemetery of the capital city. These samples showed no inhibition. The results lead us to think there could be an alimentary or environmental factor which influenced the inhibition observed in the first 5 samples.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baos, V; Barbero, A; Diogene, E; Pastor-Sánchez, R. 2006. "Documento de consenso sobre la utilización de antibióticos en atención primaria" (en línea). España. Consultado 9 sep. 2012. Disponible en http://www.antibioticos.msc.es/PDF/resist_Documento_consenso_utilizacion_antibioticos_en_atencion_primaria.pdf
2. Cornelis, P. 2008. "*Pseudomonas: Genomics and molecular Biology*" (en línea). Bélgica. Consultado 14 sep. 2012. Disponible en <http://www.horizonpress.com/pseudo>
3. Hurtado, MP; De la Parte, A. 2002. "*Staphylococcus aureus*: revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica" (en línea). España. Consultado 11 sep. 2012. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S1315255620020002000003&script=sci_arttext
4. Marea, C; Daum, R; Boyle-Vavra, S; Matayoshi, K.; Miller, L. 2007. "Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing healthcare-associated infections" (en línea). USA. Consultado 11 sep. 2012. Disponible: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2725868/>
5. Morales, S. 2010. "Determinación de anticuerpos circulantes contra las enfermedades de Newcastle e Influenza aviar en zopilotes de cabeza negra (*Coragyps atratus*) en inmediaciones del parque zoológico Petencito" Tesis Lic. Med. Vet. Guatemala, GT. USAC/FMVZ. pag 4 – 7
6. Nelson, J; Chiller, T; Powers, J; Angulo, F. 2007. "Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones of



- poultry: a public health succes" (en línea). USA. Consultado 23 jul. 2014. Disponible en <http://www.press.uchicago.edu/ucp/journals/journal/cid.html>.
7. Oxoid (2009) "Productlist 2010/2011: antimicrobial susceptibility test" (en línea) Inglaterra. Consultado el 30 de jul. 2014. Disponible en: <http://www.oxoid.com/pdf/prodlist/Prod List2010.pdf>
 8. Ocando, D; Rivera, S; Ajjam, E; Salas, R. 1991. "Caracterización proteica del suero del ave *Coragyps atratus* (zamuro de cabeza negra) y algunos estudios serológicos". Venezuela. Consultado 25 sep. 2012. Disponible en http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23663/2/articulo_9.pdf
 9. Pérez, D. 1998. "Resistencia bacteriana a los antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones de la práctica diaria" (en línea). España. Consultado 11 sep. 2012. Disponible en <http://www.msc.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
 10. Preecharram, S; Daduang, S; Bunyatrchata, W. 2008. "Antibacterial activity from Siamese Crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum" (en línea). Thailandia. Consultado 25 sep. 2012. Disponible en <http://www.academicjournals.org/ajb/PDF/pdf2008/3Sep/Preecharam%20et%20al.pdf>
 11. Sánchez-Pastor, R. 2006. "Alteraciones del nicho ecológico: Resistencia bacteriana a los antibióticos" (en línea). España. Consultado 7 sep. 2012. Disponible en <http://www.sespas.es/informe2006/p4-2.pdf>
 12. Sirosky, P; Piña, C. 2009. "Plasma activity of the Broad-Snouted Caiman (*Caiman Latirostris*)" (en línea). Argentina. Consultado 25 sep. 2012. Disponible en <http://zoolstud.sinica.edu.tw/Journals/48.2/238.pdf>



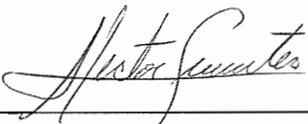
13. Soulsby EJ. 2005 "Resistance of antimicrobials in humans and animals" (en línea).Inglaterra. Consultado 23 jul. 2014. Disponible en <http://www.bmj.com/content/331/7527/1219.full>.
14. Stanchi, N. Martino, P. Gentilini, E. 2007. "Microbiología veterinaria". 4ta ed Buenos Aires, ARG. Editorial InterMedica. Página 235 - 238

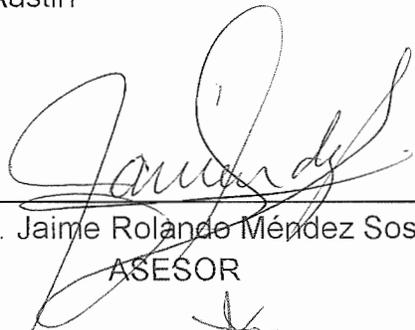


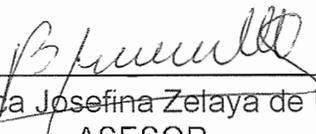
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

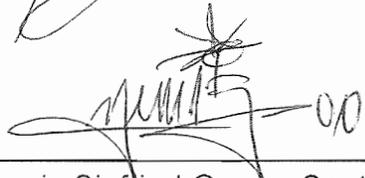
DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBIÓTICO IN VITRO DEL
SUERO DEL ZOPILOTE COMÚN (*Coragyps atratus*)

f. 
Lincoln Alberto Carranza Austin

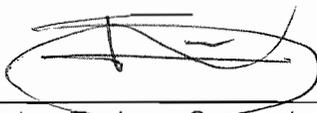
f. 
M.V. Héctor Eduardo Fuentes Rousselin
ASESOR PRINCIPAL

f. 
M.A. Jaime Rolando Méndez Sosa
ASESOR

f. 
M.V. Blanca Josefina Zetaya de Romillo
ASESOR

f. 
MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
EVALUADOR

IMPRÍMASE:

f. 
MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
DECANO

