

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**ESCUELA DE POSGRADO**



**UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
VETERINARIAS**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**TESIS:**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL LÁTEX “sangre de grado”  
(*Croton lechleri*) FRENTE A *Salmonella sp.* AISLADA DEL TRACTO  
INTESTINAL DEL CUY (*Cavia porcellus*)**

Para optar el Grado Académico de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MENCIÓN: SALUD ANIMAL**

Presentada por:

**RONALD CRISTIAN CHAMBE CORREA**

Asesor:

**Dr. RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ**

Cajamarca, Perú

2025

## CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador:  
Ronald Cristian Chambe Correa  
DNI: 46788707  
Escuela Profesional/Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias.  
Programa de Maestría en Ciencias, Mención: Salud Animal
2. Asesor: Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra Ramírez
3. Grado académico o título profesional  
 Bachiller                       Título profesional                       Segunda especialidad  
 Maestro                       Doctor
4. Tipo de Investigación:  
 Tesis                       Trabajo de investigación                       Trabajo de suficiencia profesional  
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:  
Efecto antibacteriano *in vitro* del látex "sangre de grado" (*Croton lechleri*) frente a *Salmonella sp.* aislada del tracto intestinal del cuy (*Cavia porcellus*).
6. Fecha de evaluación: **03/07/2025**
7. Software antiplagio:                       TURNITIN                       URKUND (OURIGINAL) (\*)
8. Porcentaje de Informe de Similitud: **14%**
9. Código Documento: **3117:471557857**
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:  
 **APROBADO**                       PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha Emisión: **08/07/2025**

Firma y/o Sello  
Emisor Constancia



Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra-Ramírez  
DNI: 26600433

\* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023.

COPYRIGHT © 2025 by  
**RONALD CRISTIAN CHAMBE CORREA**  
Todos los derechos reservados



**Universidad Nacional de Cajamarca**  
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 059-2018-SUNEDU/CI



**Escuela de Posgrado**  
CAJAMARCA - PERU  
**PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Siendo las 12:40 horas, del día 23 de Mayo de dos mil veinticinco, reunidos en el Aula 1Q-206 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **Ph. D. PEDRO LUIS ORTIZ OBLITAS**, **Dr. WILDER QUISPE URTEAGA**, **Mg. CRISANTO JUAN VILLANUEVA DE LA CRUZ**, y en calidad de Asesor el **Dr. RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ**. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestrías y Doctorados de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se inició la Sustentación de la Tesis titulada **"EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO "sangre de grado" (Croton lechleri) FRENTE A Salmonella sp. AISLADA DEL TRACTO INTESTINAL DEL CUY (Cavia Porcellus)"**, presentada por el bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia **RONALD CRISTIAN CHAMBE CORREA**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó APROBAR con la calificación de BUENO (15) la mencionada Tesis; en tal virtud, el bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia, **RONALD CRISTIAN CHAMBE CORREA**, se encuentra apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de **CIENCIAS VETERINARIAS**, con mención en **SALUD ANIMAL**.

Siendo las 12:45 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.

  
.....  
**Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra Ramírez**  
Asesor

  
.....  
**Ph. D. Pedro Luis Ortiz Oblitas**  
Jurado Evaluador

  
.....  
**Dr. Wilder Quispe Urteaga**  
Jurado Evaluador

  
.....  
**Mg. Crisanto Juan Villanueva de la Cruz**  
Jurado Evaluador

## **DEDICATORIA**

A Dios, por la vida prestada hasta hoy y por darme la serenidad, calma y fortaleza de poder culminar este proyecto personal en mi vida profesional.

A mis padres: Eusebio Chambe e Isabel Correa, son sin duda alguna mi motor y motivo, fuente de inspiración, siempre apoyándome en mis decisiones y orientándome día a día a ser mejor persona.

A mis hermanos: Miriam del Rosario, Alex Darwin, Anthony Einstein, Erlinda Lizbeth y Francis Jhosep: por su apoyo y todos los momentos de risas y alegrías compartidas; son y serán siempre parte de mi felicidad.

## **AGRADECIMIENTO**

Hago extensivo mi eterno agradecimiento a las siguientes personas que sin su ayuda y apoyo no hubiese sido posible la culminación de este trabajo:

- \_ Al Dr. Wilson Castillo Soto, director de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO), por brindarme los permisos en horarios laborales.
- \_ A la Dra. Roxana Mendo, por su apoyo incondicional y experiencia brindada dentro y fuera del laboratorio.
- \_ Al Dr. Percy Asmat, por su ayuda incondicional en el procesamiento de algunas muestras.
- \_ Al Ing. Andy Jacobo, por su constante apoyo y motivación para la culminación de este trabajo de investigación.
- \_ A mi gran amiga Cecilia Tirado, por los momentos compartidos y esa motivación constante de superación que nos damos día a día.

El Autor

## CONTENIDO

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes .....	4
2.1.1 Antecedentes internacionales.....	4
2.1.2 Antecedentes nacionales.....	5
2.2. Sangre de grado ( <i>Croton lechleri</i> ).....	7
2.2.1. Descripción botánica .....	7
2.2.2. Hábitat y distribución en el Perú.....	7
2.2.3. Usos medicinales.....	8
2.2.4. Composición química.....	8
2.2.5. Farmacología experimental.....	11
2.2.6. Contraindicaciones y precauciones .....	14
2.2.7. Toxicología .....	14
2.3. Generalidades de la crianza del cuy en el Perú.....	15
2.4. Salmonelosis en cuyes .....	16
2.4.1 Etiología.....	17
2.4.2 Epidemiología .....	18
2.4.3 Patogenia.....	19
2.4.4 Manifestaciones clínicas .....	21
2.4.5 Hallazgos en la necropsia .....	22
2.4.6 Diagnóstico .....	22
2.4.7 Susceptibilidad y resistencia antibiótica.....	22
2.4.8 Medios de cultivo para <i>Salmonella</i> .....	24
2.4.9 Identificación bioquímica .....	28
2.4.10 Control y tratamiento.....	30
CAPÍTULO III DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS .....	33
3.1. Hipótesis de la investigación .....	33
3.2. Diseño metodológico.....	33
3.3. Localización.....	33
3.4. Unidad de análisis y muestra .....	34
3.4.1. Unidad de análisis .....	34
3.4.2 Muestra .....	35

3.5. Diseño de Investigación .....	35
3.6. Diseño metodológico.....	37
Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	37
3.6.1 Obtención de las muestras de <i>Salmonella</i> .....	37
3.6.2 Procesamiento de las muestras .....	38
3.6.2.1 Enriquecimiento selectivo .....	38
3.6.2.2 Pruebas bioquímicas de identificación .....	39
3.6.2.3 Inoculación de las placas (Siembra para las pruebas de sensibilidad) .....	40
3.6.2.4 Dispensación de los discos de sensibilidad en las placas Petri e incubación .....	40
3.6.2.5 Lectura e interpretación de los resultados para determinar el efecto antibacteriano del látex <i>Croton lechleri</i> .....	42
 CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	 43
 CAPÍTULO V CONCLUSIONES .....	 51
RECOMENDACIONES:.....	52
Lista de Referencias.....	53
Apéndice .....	61

## LISTA DE ILUSTRACIONES

Item	Pág.
<b>Tablas</b>	
Tabla N°1. Distribución de los tratamientos.....	36
Tabla N°2. Distribución de las cepas de <i>Salmonella sp.</i> por tratamientos .....	36
Tabla N°3. Número de muestras y aislamientos realizados para <i>Salmonella sp.</i> .....	43
Tabla N°4. Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983).....	44
Tabla N°5. Escala interpretativa para evaluar la susceptibilidad a la norfloxacin (CLSI, 2020).....	45
Tabla N°6. Resultados de la lectura de los halos de inhibición en mm.....	45
Tabla N°7. Prueba de normalidad.....	65
Tabla N°8. Prueba H de Kruskal Wallis.....	66
Tabla N°9. Comparaciones por parejas de tratamientos.....	67
<b>Figuras</b>	
Figura N°1. Mapa de la ciudad de Trujillo.....	34
Figura N°2. Resultados de la lectura de lo halos de inhibición en mm.....	46
Figura N°3. Incisión longitudinal en el cuy muerto.....	61
Figura N°4. Cuy diseccionado para la inspección de sus órganos.....	61
Figura N°5. Localización de intestino para la toma de muestra.....	62
Figura N°6. Colocación de muestra dentro del caldo selenito .....	62
Figura N°7. Materiales utilizados para el experimento .....	63
Figura N°8. Crecimiento de colonia sospechosa de <i>Salmonella sp</i> .....	63
Figura N°9. Colocación de los discos previo a la incubación.....	64
Figura N°10. Medición de los halos de inhibición.....	64
Figura N°11. Medición de los halos de inhibición.....	65
Figura N°12. Diferencia de sensibilidad antibacteriana entre tratamientos.....	67

## LISTA DE ABREVIACIONES

**A375:** Línea celular de melanoma humano ampliamente utilizada en toxicología e inmunooncología.

**ATCC 43504:** Cepa aislada de *Helicobacter pylori* de un paciente con cáncer gástrico en Australia, utilizada habitualmente en estudios de patogenicidad.

**ATCC 6538:** Cepa aislada de *Staphylococcus aureus*, de una lesión humana, utilizada para pruebas estándar de desinfectantes, medios de prueba, conservantes antimicrobianos y bactericidas.

**C30H50:** Escualeno, hidrocarburo triterpénico poliinsaturado.

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:** Cloruro de metileno o diclorometano.

**CMI:** Concentración mínima inhibitoria.

**DE50:** Dosis efectiva media.

**DNA:** Ácido desoxirribonucleico.

**HaCaT:** Queratinocitos humanos utilizados ampliamente para estudiar la homeostasis epidérmica y su fisiopatología.

**K-562:** Línea celular de leucemia mielógena humana.

**LD50:** Dosis letal media.

**MRSA:** *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

**PHPF:** Poly Helixano PF.

**Ppm:** Partes por millón.

**PVA:** Acetato de polivinilo.

**SGC-7901:** Línea celular de adenocarcinoma gástrico humano.

**SMMC-7721:** Línea celular de carcinoma hepatocelular humano.

**SP-303:** Producto que contiene un oligómero de proantocianidina aislado y purificado del látex de *Croton lechleri*

**UFC:** Unidades formadoras de colonias.

**Um:** micromol.

**VIH:** Virus de inmunodeficiencia humana.

## GLOSARIO

**Látex de *Croton lechleri*:** Sustancia viscoelástica de color rojizo que se extrae del árbol que lleva el mismo nombre.

***Salmonella sp.*** Es un bacilo Gram negativo que se comporta como patógeno intracelular facultativo (anaerobio facultativo), está presente en el intestino de personas y animales sanos.

**Efecto antibacteriano:** Este término se usa para describir las sustancias que podrían tener la capacidad de reducir la presencia de bacterias.

**Halo de inhibición:** Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen.

**Norfloxacin:** Quinolona muy activa contra diversas bacterias aerobias grampositivas y gramnegativas. Actúa a nivel intracelular e inhibe la subunidad A de la DNA girasa, enzima esencial para el enrollamiento y superenrollamiento del DNA bacteriano.

**Sensible:** Se refiere a si existe una buena probabilidad de éxito terapéutico en el caso de un tratamiento a la dosis habitual contra el microorganismo.

**Resistente:** Se refiere a si la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida. No se debe esperar ningún efecto terapéutico sea cual fuere el tipo de tratamiento contra este microorganismo.

**Multirresistencia:** Se utiliza cuando una cepa bacteriana es resistente a varios antimicrobianos o tipos de antimicrobianos distintos.

## RESUMEN

La presente investigación, tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” frente a *Salmonella sp.* aislada del tracto intestinal del cuy (*Cavia porcellus*). La muestra vegetal fue de 100 ml de látex de *Croton lechleri*, recolectada en la provincia de Bagua, Departamento de Amazonas. Para la determinación del efecto antibacteriano *in vitro* se utilizó el método de Kirby - Bouer, con 4 grupos de análisis: concentraciones del látex de *Croton lechleri*: T1 (50%), T2 (75%), T3 (100%) y control (T4) con norfloxacina 10 mcg, con 15 repeticiones en placas de agar Müeller-Hinton, incubadas a 37°C por 24 horas. Los resultados fueron determinados en función a la medida del diámetro de los halos de inhibición, siendo el promedio de 6,33; 7,27 y 6,60mm para las concentraciones de látex de “sangre de grado” T1 (50%), T2 (75%), T3 (100%) respectivamente; el grupo con norfloxacina (T4) tuvo un diámetro promedio de 29,87mm. Se concluyó que la “sangre de grado” no tiene efecto antibacteriano sobre *Salmonella sp.* a diferencia de la norfloxacina, a la cual salmonella es sensible.

**Palabras clave:** Látex, *Croton lechleri*, “sangre de grado”, *Salmonella sp.*, efecto antibacteriano, norfloxacina.

## ABSTRACT

The present research aimed to determine the *in vitro* antibacterial effect of *Croton lechleri* latex “dragon’s blood” against *Salmonella sp.* isolated from the intestinal tract of guinea pig (*Cavia porcellus*). The plant sample was 100 ml of *Croton lechleri* latex, collected in the province of Bagua, Department of Amazonas. To determine the *in vitro* antibacterial effect, the Kirby-Bauer method was used, with 4 groups of analyzes: concentrations of *Croton lechleri* latex: T1 (50%), T2 (75%), T3 (100%) and control (T4) with norfloxacin 10mcg, with 15 repeats on Müller-Hinton agar plates, incubated at 37 ° C for 24 hours. The results were determined based on the measurement of the diameter of the inhibition halos, the average diameters were 6.33; 7.27 and 6.60 mm for T1 (50%), T2 (75%), T3 (100%) “dragon’s blood” latex concentrations respectively; the norfloxacin group had an average diameter of 29.87 mm. It was concluded that “dragon’s blood” has no antibacterial effect on *Salmonella sp.* unlike norfloxacin, to which *Salmonella sp.* is sensitive.

**Keywords:** Latex, *Croton lechleri*, dragon’s blood, *Salmonella sp.*, antibacterial effect, norfloxacin.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

El Perú es un país con una gran biodiversidad de flora y fauna, los extensos bosques tropicales han sido una fuente de recursos que han contribuido al sustento y la salud de las poblaciones más vulnerables. Desde la antigüedad, en nuestra flora peruana se ha conocido el potencial de algunas plantas llamadas “milagrosas” por sus cualidades en muchas dolencias y cuidados de personas (Pineda *et al*, 2007). La “sangre de grado”, identificada igualmente como “drago”, es la savia del árbol amazónico *Croton lechleri*, usada tradicionalmente por comunidades indígenas en el Perú, esta sustancia tiene propiedades curativas reconocidas, como la cicatrización, contra mordeduras de arañas, abrasiones y ampollas. Además, su aplicación es bastante difundida como remedio tradicional que reduce la inflamación y el edema, así como en el tratamiento de gastritis, úlceras gástricas e infecciones intestinales (Jones, 2003).

Por otro lado, el cobayo es un roedor originario de los Andes del sur americano. La crianza de este mamífero esta extensamente difundida en todo el territorio peruano, la demanda actual de este animal se debe al gran valor y contenido proteico de su carne. Sin embargo, en la crianza hay muchas enfermedades que atacan a los cuyes, destacando entre ellas la salmonelosis. Esta enfermedad se puede manifestar de manera aguda, causando el deceso precipitado del animal entre uno o dos días. En tal escenario, este mal produce tasas de defunción del 95% y de patologías del 52.7%. Asimismo, en su forma crónica, la enfermedad puede manifestarse de manera variada, desde diarreas, abortos espontáneos, daño cerebral, parálisis del tren posterior, afecciones en la estructura respiratoria y cardíaca (Morales, 2013).

Actualmente, las exigencias del mercado pecuario está en busca de un producto de calidad, animales que hayan sido criados bajo las normas del bienestar animal con limitación en el uso de antibióticos; esto añadiría un valor agregado para las personas con nuevos hábitos de consumo, ya

que, anteriormente se utilizaban antibióticos como promotores de crecimiento; sin embargo, hoy en día, se podría buscar formas más naturales y mejores para tratar las enfermedades de los animales y así obtener el producto de mejor calidad que busca el mercado (Majak *et al.*, 2018).

Latinoamérica es una región multicultural con una medicina tradicional ancestral, donde existe un amplio conocimiento sobre el uso de plantas medicinales para la cicatrización de heridas; sin embargo, muchas de estas plantas medicinales carecen de estudios farmacológicos, toxicológicos y químicos. La investigación sobre la "sangre de grado" no ha sido ampliamente estudiada aún, la mayoría de estos estudios se han enfocado en identificar los componentes de esta sustancia, y en menor proporción investigan sus propiedades, especialmente las antibacterianas (Salazar-Gómez, 2022).

Por lo tanto, al no haber reportes científicos nacionales específicos del uso de la "sangre de grado" sobre la *Salmonella* en cuyes y conociendo su acción regenerativa, inmunológica, de control de bacterias, de organismos fúngicos, virus, y sus efectos contra la oxidación; se ha considerado evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del látex "sangre de grado" sobre *Salmonella sp.* aislada del tracto intestinal del cuy, proponiéndose como hipótesis que la adición de "sangre de grado" (*Croton lechleri*) inhibe significativamente la proliferación bacteriana *in vitro* sobre la *Salmonella sp.* aislada de *Cavia porcellus*.

Para la evaluación de esta premisa se establecieron estos objetivos:

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de la “sangre de grado” sobre *Salmonella sp.* aislada del tracto intestinal del cuy (*Cavia porcellus*).

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de la *Salmonella sp.* frente a las concentraciones de “sangre de grado” al 50%, 75% y 100%.
  
- Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* entre norfloxacina y el látex de *Crotón lechleri* “sangre de grado” frente a *Salmonella sp.*

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes:

##### 2.1.1. Antecedentes Internacionales:

La actividad antibacteriana de la “sangre de grado” se debe a que contienen compuestos como cumarinas, terpenos, alcaloides, flavonoides y saponinas. Se han obtenido resultados favorables en la inhibición de bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*, observándose mayor actividad contra bacterias grampositivas. Si bien estos hallazgos resaltan el potencial de la sangre de grado contra bacterias grampositivas, se necesitan más estudios para explorar sus efectos contra un espectro más amplio de microorganismos, incluyendo hongos y levaduras (Grijalva-Delgado, 2025).

La actividad antibacteriana del látex de *Croton lechleri* contra *Helicobacter pylori* se observó únicamente con el producto concentrado, con un efecto bactericida del 90 %, ya que al diluirlo perdía eficacia. Así mismo, en una prueba de difusión en agar, con concentraciones diluidas al 33% y 25%, en microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *S. agalactiae*, *S. uberis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, se observó un efecto antibacteriano del 88,88% y 66,66%, respectivamente, solo en algunas de las especies bacterianas mencionadas. Además, se encontró que el látex puro presenta una actividad antimicrobiana moderada contra *Staphylococcus epidermidis* a una concentración de 1000 ppm y contra *Bacillus subtilis* en concentración de 125 ppm. (De Albuquerque *et al.*, 2025).

Corrales *et al* (2013), evaluaron el potencial antibacterial *in vitro* del *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas, investigaron la capacidad bactericida del *Croton lechleri* contra bacterias aisladas de úlceras cutáneas en personas atendidas en el Sanatorio de Agua de Dios, Colombia. Utilizando métodos de difusión en disco, difusión en pozo y dilución en agar, concluyeron que *Croton lechleri* produce actividad antibacteriana contra los mencionados organismos. Esta actividad se atribuye a metabolitos como el ácido clorequínico y las coberinas, que son especialmente idóneos contra *Bacillus subtilis*.

Mahboubi Kancha *et al* (2024) investigaron las nanofibras, materiales poliméricos unidimensionales de forma cilíndrica con diámetros en el rango nanométrico, que combinados con la sangre de grado y PHPF (Poli Helixano PF), mostraron una actividad antimicrobiana favorable contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, *in vitro*; además, las nanofibras mejoraron la cicatrización y la recuperación del tejido dañado en modelos de heridas sin férula, al promover la formación de la capa epitelial y de colágeno, así como, la estimulación de la presencia de fibroblastos. Concluyendo así que las nanofibras podrían considerarse posibles apósitos para heridas con propiedades favorables gracias a su acción bactericida y cicatrizante.

### **2.1.2. Antecedentes nacionales:**

Tamariz *et al* (2003), evaluaron la actividad antibacteriana de la “sangre de grado” (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. Para determinar la acción bactericida del *Croton lechleri* respecto al *Helicobacter pylori*, consideraron 41 muestras del *Helicobacter pylori* de procedencia clínica y 4 muestras de *Croton lechleri*. Este estudio determinó la dosis mínima inhibitoria y mínima antimicrobiana del *Croton lechleri* frente al *Helicobacter pylori*, concluyendo así, que la “sangre de grado” mostró una influencia inhibitoria en altas concentraciones, frente a esta bacteria.

León y Santiago (2007), prepararon y caracterizaron películas de alcohol poli vinílico embebidas con látex de “sangre de grado” (*Croton lechleri*), para evaluar los atributos antibacterianos del látex de “sangre de grado” respecto a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Sus hallazgos mostraron que los hidrogeles hechos de quitosano-PVA y embebidos en soluciones hidroalcohólicas eran efectivos contra *S. aureus*, pero no contra *E. coli* y *P. aeruginosa*. Esto sugiere que la efectividad antibacteriana del látex depende de la solubilidad de sus componentes.

Cayo y Barrera (2014), evaluaron el efecto antibacteriano *in vitro* del *Croton lechleri* sobre cultivos de *Streptococcus mutans*, donde aplicaron diferentes proporciones de *Croton lechleri* (40%, 75% y 100%) y examinaron el diámetro de los halos de inhibición formados, lo que llevó a conocer que el efecto de las dosificaciones del 100% y el 75% restringió el crecimiento de *Streptococcus mutans*; no obstante, la medida administrada del 40% no presentó una influencia significativa en la bacteria.

Espinoza y Serna (2018), evaluaron el potencial antimicrobiano del látex de *Croton lechleri* respecto al *Staphylococcus aureus*. Utilizando la técnica de difusión en disco, examinaron el potencial inhibitorio de este látex en distintas medidas (25%, 50%, 75%, 100%) y compararon los resultados con un control positivo (Oxacilina) y un control negativo (agua destilada). Después de incubar las placas de agar a 37°C durante 24 horas, se estableció como conclusión que el látex de *Croton lechleri* ofrece una influencia bactericida sobre el *Staphylococcus aureus*.

En una investigación sobre el uso local de plantas medicinales en la ciudad de Pucallpa - Perú, describen los usos de 30 especies de plantas pertenecientes a 18 familias en la medicina tradicional, entre ellas *Croton lechleri*, afirmando que la popularidad del uso del látex de esta planta esta asociada a sus grandes propiedades farmacológicas y cicatrizantes, gracias a su composición química (Polesna *et al.*, 2011).

## **2.2. Sangre de grado (*Croton lechleri*)**

### **2.2.1. Descripción botánica**

*Croton lechleri* es un árbol que se extiende de 30 a 80 cm de diámetro y alcanza una altura entre 18 y 30 metros, con ramificaciones que inician en el segundo tercio del tronco. Sus capas más superficiales, de color marrón claro y agrietadas, contrastan con los niveles más profundos, que son uniformes y tiernos, de un tono rosado claro; al ser heridos en estos niveles, desprenden una savia carmesí abundante y parcialmente transparente. Las ramas terminales tienen una sección circular, tono marrón claro, con un diámetro de 2 a 4 mm, revestidas de pelos estrellados, sobre todo en territorios tropicales. Las hojas no son complejas, son alternas y espiraladas, con una longitud de 12 a 35 cm y un ancho de 6 a 15 cm, y pecíolos que miden de 6 a 18 cm de longitud, con 1 o 2 pequeñas glándulas rojizas en la base de la lámina. Las inflorescencias se presentan en espigas terminales de 25 a 35 cm de longitud, con flores pequeñas y unisexuales de 1 a 2 mm de longitud. Las flores masculinas contienen numerosos estambres de 1 a 2 mm, mientras que las femeninas tienen un ovario globoso de 1 mm de longitud y estilos filiformes de 1 a 2 mm. Sus frutos son cápsulas pequeñas de 3 valvas, que miden de 2 a 4 mm de longitud (Reynel *et al*, 2003).

### **2.2.2. Hábitat y distribución en el Perú**

En Perú, esta especie se encuentra principalmente en la Amazonía, a una altura de 700 metros por encima del nivel costero. Prospera en áreas con lluvias abundantes y constantes, asimismo, también tolera regiones con una estación seca definida. Es una planta que requiere una significativa exposición al sol, es de rápido crecimiento, común en bosques secundarios jóvenes y áreas perturbadas por la actividad humana. Se adapta a suelos de diversas texturas y grados de acidez, incluso aquellos con cierto nivel de aridez, siempre que estén bien drenados y tengan una cantidad moderada de piedras (Rodríguez, 2002).

### **2.2.3. Usos medicinales**

La savia extraída de la corteza, posee múltiples aplicaciones terapéuticas. Tradicionalmente se ha utilizado para tratar afecciones gastrointestinales como diarreas crónicas, gastritis y úlceras, así como para estimular la cicatrización de heridas. Sus propiedades estimulantes del sistema inmunológico, antibacterianas, antifúngicas, antivirales y antioxidantes lo convierten en un valioso aliado para combatir infecciones y fortalecer las defensas del organismo. Además, se le atribuyen efectos anticancerígenos (en hígado, estómago y útero), antirreumáticos, antiinflamatorios y neutralizantes del veneno de serpientes. Su uso se extiende al tratamiento de diversas dolencias como influenza, amigdalitis, herpes, uta, anemias, tuberculosis, quemaduras, acné, resfriados, gingivitis y cervicitis. Incluso se ha empleado en el incremento de la fecundidad, la pérdida de peso y el control hemorrágico (Mostacero *et al*, 1995).

El látex, conocido como "sangre de grado", es un remedio ancestral cuya eficacia medicinal ha sido probada por la ciencia moderna. Sus propiedades cicatrizantes, antivirales, antiinflamatorias y potencialmente antitumorales se deben a la presencia de alcaloides como la taspina, la 4,0-metilcedrusia, la 3',4'-O-dimetilcedrusina y la proantocianidina oligomérica SP-303. Además de sus beneficios para la piel, se recurre a él tradicionalmente, con el fin de aliviar trastornos digestivos como úlceras gástricas, así como para mejorar la función renal y hepática. En aplicaciones externas, alivia inflamaciones dérmicas y acné (Puebla *et al*, 2004).

### **2.2.4. Composición química**

En 1989, un equipo de investigadores peruanos y estadounidenses desveló las cualidades de la "sangre de grado" al analizar la constitución molecular del látex de *Croton lechleri*, una de las fuentes más importantes en la extracción de esta sustancia. Detectaron un alcaloide clave, mismo que denominaron taspina, responsable de las notables propiedades cicatrizantes de la "sangre de

grado”. Se determinó que una dosis de 0,375 mg de taspina por kilogramo de peso corporal era suficiente para acelerar la curación de heridas. Este hallazgo sugiere que la taspina es el principal componente activo responsable del potencial de la “sangre de grado” para agilizar la cicatrización (Brack, 1999).

El hallazgo de escualeno en el látex de *Croton lechleri* es significativo debido a las propiedades medicinales de este compuesto, similar en estructura al betacaroteno. El escualeno, un hidrocarburo triterpénico poliinsaturado (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>), es valorado en la industria cosmética por su capacidad para restaurar la hidratación natural de la piel. Además, actúa como emulsificante, antiinflamatorio, bactericida, antifúngico y antioxidante, e incluso se ha estudiado su potencial anticancerígeno (Won-Kyung *et al*, 2013)

Contiene proantocianidinas, un grupo de polisacáridos con gran acción antioxidante. Estudios han demostrado que su potencia es 50 veces más elevada que la de la vitamina E y 20 veces más que de la vitamina C en su cualidad antioxidante. Además de sus propiedades antibacterianas que impiden la adhesión de bacterias, estos compuestos protegen contra enfermedades cardiovasculares al mejorar la permeabilidad vascular y proteger de los estragos que conllevan los radicales libres en las arterias. Las proantocianidinas también poseen efectos antialérgicos, anticancerígenos, antiinflamatorios y antimicrobianos, inhibiendo el crecimiento de microorganismos perjudiciales para la vida humana y el bienestar, como *H. pylori*, *E. coli* y *S. aureus* (Díaz, 2012).

Así mismo, químicamente, los sesquiterpenos, monoterpenos, fenilpropeno, alcohol diterpénico monocíclico y ácido graso acetilénico, son los compuestos principales que se han identificado en los aceites esenciales de las plantas del género *Croton*, familia Euphorbiaceae; estos compuestos podrían estar relacionados con su actividad anticancerígena ya que tradicionalmente, estas

especies se utilizan comúnmente para tratar el cáncer en países de Asia, África, América del Sur y América del Norte (Bezerra, 2024).

El análisis químico exhaustivo de la “sangre de grado” condujo al hallazgo de nuevos flavonoides, previamente desconocidos. Este estudio evaluó la actividad inhibidora del crecimiento de todos estos compuestos contra las líneas celulares humanas K-562, SMMC-7721 y SGC-7901, así como las propiedades antibacterianas contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA). Como resultado, estos flavonoides mostraron citotoxicidad contra las líneas celulares K-562, SMMC-7721 y SGC-7901 y se observó que todos estos compuestos exhibían efecto antibacteriano contra *S. aureus*, así como actividad antibacteriana contra MRSA (Ying *et al*, 2011).

(Yingdong *et al*, 2007), evaluaron la capacidad de los compuestos aislados de la “sangre de grado” para combatir la bacteria *Helicobacter pylori* (ATCC43504). Como resultado, encontraron que nuevos derivados de flavonoides eran más eficaces contra *H. pylori* (ATCC43504) con valores de CMI de 29,5, 29,5, y 31,3 $\mu$ m.

El análisis fitoquímico de los extractos de “sangre de grado”, reveló un alto contenido fenólico en el concentrado de resina de CH(2)Cl(2), este presenta la más alta captación de radicales libres, lo que está en buena correlación con su contenido fenólico total. Este concentrado de CH(2)Cl(2), es un origen viable de compuestos antioxidantes naturales y tiene actividad inhibidora contra varios agentes infecciosos presentes en alimentos. En tal sentido, el concentrado de CH(2)Cl(2), proveniente de la resina de “sangre de grado”, podría considerarse una viable fuente de conservante de alimentos (Deepika y Rajinder, 2011).

(Diedrich *et al.*, 2021) lograron extraer los compuestos bioactivos de la corteza de *Croton lechleri* mediante herramientas quimiométricas, para establecer relaciones entre las concentraciones individuales de compuestos fenólicos y las mejores condiciones de extracción. El ácido gálico, el ácido sirínico, la epicatequina y la catequina están presentes en el metabolismo de *Croton lechleri*, estos tres primeros compuestos se extrajeron mejor a temperaturas más bajas, mientras que la catequina demostró ser más estable a temperaturas más altas. Lograr extraer estos compuestos de la corteza de *Croton lechleri* ofrece perspectivas para su uso como antioxidante natural y abre la oportunidad de explorar nuevas aplicaciones tecnológicas.

#### **2.2.5. Farmacología experimental**

Los resultados de investigaciones tanto en laboratorio como en organismos vivos confirman en gran medida los usos tradicionales de la “sangre de grado” en la medicina popular. Estos incluyen el tratamiento de diarrea, heridas, tumores, úlceras estomacales, infecciones por herpes, picazón, dolor e inflamación causados por picaduras de insectos, entre otras dolencias (Jones, 2003).

Respecto a las propiedades farmacológicas, se indican estas:

Actividad antimicrobiana: La “sangre de grado” ha demostrado en múltiples estudios su potente actividad antimicrobiana, tanto antiviral como antibacteriana. Esta acción se atribuye a la presencia de diversos compuestos bioactivos, como polifenoles, poliacetilenos, flavonoles, terpenoides, esteroides, alcaloides, propóleos, ácido clorogénico, coberinas A y B, y 1,3,5-trimetoxibenceno, los cuales han mostrado una fuerte eficacia contra bacterias como el *Bacillus subtilis*. En particular, la “sangre de grado” destaca por su capacidad para combatir bacterias Gram-positivas, como el *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Carrión *et al.*, 2010).

Actividad cicatrizante: Acelera la regeneración de la piel al estimular la contracción de las heridas, facilitando su cicatrización. Este proceso se debe a la acción combinada de la taspina y los polifenoles (catequina y proantocianidina). La taspina actúa al inicio de la cicatrización, atrayendo fibroblastos, células clave en la reparación de tejidos, como se ha demostrado en estudios con ratones. Por su parte, los polifenoles ejercen un efecto antibacteriano que contribuye a la formación de la costra protectora al precipitar las proteínas celulares, creando un ambiente propicio para la regeneración (Risco, 2001).

Actividad antiinflamatoria: La taspina, alcaloide presente en la “sangre de grado”, ha demostrado ser un potente antiinflamatorio en estudios con ratas. Su eficacia se ha comprobado en tres modelos experimentales: edema inducido por carragenina, granuloma inducido por torundas de algodón y artritis inducida por coadyuvante. En el primer modelo, la taspina mostró un efecto antiinflamatorio comparable a la fenilbutazona, con dosis de 58 mg/kg vía oral, siendo más potente a las tres horas de administración de carragenina. En el segundo modelo, con dosis de 20 mg/kg, inhibieron la inflamación durante siete días. En el tercer modelo, la taspina también fue efectiva en dosis de 20 mg/kg/día a lo largo de una semana y en dosis única de 518 mg/kg. Además, el látex crudo de la “sangre de grado”, en dosis superiores a 25 mg/kg, también inhibe completamente la reacción inflamatoria, lo que sugiere que otros componentes, además de la taspina, contribuyen a esta actividad (Risco, 2005).

Actividad antifúngica: Se investigó el látex de “sangre de grado” respecto a cinco hongos causantes de infecciones de piel. Se utilizaron dos métodos: uno para medir la zona de supresión del desarrollo del hongo alrededor de un disco con “sangre de grado”, y otro para determinar la concentración mínima necesaria para detener de forma completa el crecimiento del hongo. Los hongos estudiados fueron *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum*. Lo que resultó fue que la “sangre de

grado” inhibió el desarrollo de todos los hongos probados, con zonas de inhibición entre 7,6 y 26,9 mm y concentraciones mínimas inhibitorias entre 1,25 y 2,5 mg/ml (Luilma *et al*, 2005).

Actividad antiviral: Como apoyo en el tratamiento de personas con VIH, se ha estudiado una nueva sustancia llamada crofelemer, la cual es una proantocianidina que proviene del látex de la planta *Croton lechleri*, una mezcla de proantocianidinas oligoméricas, cuya seguridad y eficacia como agente antisecretor y antidiarreico han sido confirmadas en estudios clínicos, siendo el mejor tratamiento de soporte en pacientes con VIH con diarrea secretora, ya que regula la absorción de agua en el intestino a diferencia de los demás medicamentos que actúan sobre la motilidad intestinal, limitando su uso prolongado; además el crofelemer no interacciona con otros fármacos, dado que no se absorbe y tampoco llega a la sangre (Wang *et al.*, 2024).

Actividad anticancerígena: Se ha estudiado el potencial anticancerígeno de los aceites esenciales (AE) de la “sangre de grado” cuyo uso puede ser una alternativa eficaz a los medicamentos comerciales que causan diversos efectos secundarios en pacientes con cáncer. Los AE actúan en la fragmentación del ADN y la apoptosis de distintas células cancerígenas, sin embargo, cabe destacar que muchos de estos AE aún no han sido probados en cuanto a su seguridad biológica para comprobar su toxicidad, por lo que, se sugiere la precaución necesaria al utilizar dichos productos (Bezerra, 2024).

La acción anticancerígena de los aceites esenciales (AE) en el cáncer colorrectal (CCR), ha mostrado una amplia gama de efectos bioactivos, como citotoxicidad, antiproliferativos y antimetastásicos, en las células cancerosas a través de diversos mecanismos de acción. Esto evidencia la eficacia de los AE como agentes quimioterapéuticos/quimiopreventivos en el CCR; sin embargo, se necesitan más estudios clínicos para establecer la dosis efectiva en humanos, así como la vía de administración más adecuada para lograr la máxima biodisponibilidad y eficacia.

Aun así, los AE pueden considerarse como terapias complementarias eficaces en la quimioterapia para el CCR (Garzoli *et al.*, 2022).

Tzintzarov *et al.* (2024). Evaluaron los efectos de los extractos de ramas de *Croton lechleri*, donde se reveló su riqueza en compuestos polifenólicos, en particular flavonoides, obtenidos mediante la aplicación de técnicas Soxhlet. Estos extractos tuvieron efectos citotóxicos en líneas celulares de piel normales (HaCat) y de melanoma maligno (A375). Todos mostraron citotoxicidad dependiente de la dosis. Los extractos indujeron apoptosis y necrosis, lo que destaca su capacidad para desencadenar la muerte celular programada en células cancerosas.

#### **2.2.6. Contraindicaciones y precauciones**

Es plausible considerar que el abuso del látex conlleve a efectos adversos para la salud, como estreñimiento, problemas de visión, enfermedades del estómago y del sistema circulatorio. Debido al efecto citotóxico de la taspina, no se debe usar de manera casual o en heridas grandes causadas por quemaduras; su uso en úlceras duodenales puede causar daño hepático (Jones, 2003).

#### **2.2.7. Toxicología**

Se encontró que la LD50 (Dosis Letal) de clorhidrato de taspina en ratas Wistar machos es de 518 mg/kg, en una frecuencia de 7 dosis/día, a 100 mg/kg (Cayo y Barrera, 2014). El alcaloide taspina mostró un efecto citotóxico sobre los fibroblastos de piel humana cultivada *in vitro*, en dosis de 0,5 - 2 ug/ml, no manifestaba toxicidad y mostraba un efecto de “curación”; sin embargo, a concentraciones altas (125 – 250 ug/ml), el compuesto era tóxico para las células. (Pieters, 1998).

En una prueba *in vivo* en ratones para determinar el efecto cicatrizante de la taspina, este alcaloide mostró un efecto cicatrizante dependiente de la dosis y una DE50 de 0,375 mg/kg. También, utilizando el sistema de carcinogénesis cutánea en dos etapas de ratones, demostraron que ni la “sangre de grado” ni el clorhidrato de taspina, presentaron actividad cancerígena ni promotora de tumores tras 17 meses de tratamiento (Milla *et al.*, 1989).

Así mismo, en el estudio de Sandoval *et al.*, (2005), evaluaron la toxicidad hepática y renal aguda y subaguda del látex de *Croton palanostigma* “sangre de grado” en animales de experimentación, concluyendo que la administración oral de “sangre de grado” en ratas albinas, en dosis terapéuticas, no producen alteraciones en las bioquímicas hepáticas (gamma glutamil transferasa, fosfatasa alcalina, proteínas totales, albúmina y globulinas) ni renales (urea y creatinina).

### **2.3. Generalidades de la crianza del cuy en el Perú**

El cuy, cobayo o *Cavia porcellus* (por su denominación científica), se clasifica como un roedor y es oriundo de zonas andinas; este animal puede soportar variados ecosistemas, se reproduce con rapidez y posee un ciclo vital breve. Estas cualidades han hecho posible la popularidad de su crianza y masificación de su consumo, al punto que en nueve del total de regiones del Perú (Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, La Libertad y Lima), se ha optado por su producción (INIA, 2003).

Perú es el principal consumidor y productor de cobayos a nivel mundial. Si bien el censo agropecuario de 1994 registró una población de casi 7 millones de cuyes, el Ministerio de Agricultura (MINAG) estimó tiempo después, que la cifra superaba los 22 millones, de modo que esto representó una producción cercana a las 18,700 toneladas de carne (INIA, 2003).

Respecto a los beneficios en términos de alimentación, la carne del cobayo posee un aporte proteico de elevada calidad, con bajo contenido de grasas, por lo que se puede incluir en la dieta de los consumidores que necesitan una alimentación elevada en proteínas. Su carne es magra, la proporción de grasa no supera el 10%, y la proporción de colesterol es baja (65mg/100g); asimismo, también posee el beneficio de ser bajo en sodio (Gil, 2007).

La producción del cobayo es una opción beneficiosa para incentivar un régimen alimentario rico en proteínas de origen animal y favorece de manera sostenible las posibilidades de trabajo, con lo cual, también permite disminuir la tendencia de los habitantes andinos respecto a la migración hacia las grandes urbes, ayudando así, en la lucha contra los niveles críticos de pobreza (INEI, 2009). Por otra parte, el actual esquema de producción es aún deficiente, sobre todo en lo que a control sanitario respecta.

Los cuyes, como cualquier otro animal, son susceptibles a los efectos de bacterias, virus, parásitos y/o trastornos fisiológicos, que inciden desfavorablemente en la crianza de esta especie y provocan graves pérdidas económicas. Se ha demostrado que las pérdidas no solo causan mortalidad y morbilidad, sino que también afectan el desarrollo de la población de manera importante, especialmente cuando las estrategias de crianza incorporan tecnologías que aceleran procesos para mayores exigencias de procreación (Barriga, 2002).

#### **2.4. Salmonelosis en cuyes**

Este es un padecimiento grave en los cobayos en el Perú, y manifiesta una tasa de incidencia del 52,7% y una tasa de mortalidad del 95%. Esta enfermedad se propaga de manera rauda y se manifiesta principalmente como sepsis aguda, matando al animal dentro de las 24 a 48 horas. Así mismo, se desarrolla de manera crónica. La enfermedad puede manifestarse de muchas formas,

como gastroenteritis, sepsis, aborto espontáneo, enfermedades respiratorias, etc., dependiendo del sistema u órgano al que afecten (Morales, 2013).

Un trabajo de investigación que evaluó la manifestación de *Salmonella typhimurium* en cuyes machos recién destetados encontró que los animales infectados con la bacteria (grupos T3 y T4) presentaron un inferior aumento de peso, una elevada ingesta y un peor índice de conversión nutricional en comparación con los cobayos no infectados (grupos T1 y T2). Estos resultados permitieron concluir que la infección subclínica con *Salmonella typhimurium* afecta negativamente la eficiencia de la producción y repercute de forma adversa en la rentabilidad en la crianza de cuyes (Bazán *et al.*, 2019).

#### **2.4.1. Etiología**

La salmonela es un bacilo Gram negativo corto, sin esporas, anaerobio facultativo, y puede moverse debido a sus flagelos periféricos. Las bacterias enmarcadas dentro de este género pueden desarrollarse en condiciones de temperatura que van desde los 7 hasta los 48 grados Celsius, y en un rango de pH de 4 a 8 (Parra *et al.*, 2002).

La *S. enterica* es un organismo patógeno exhaustivamente examinado en diversos aspectos, desde su metabolismo y genética hasta su composición celular y factores que lo refuerzan (Vadillo *et al.*, 2002). La clasificación de esta bacteria ha sido revisada y actualmente se reconoce como *S. enterica*, subespecie *enterica*, con aproximadamente 2500 serovares diferentes. De estos, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* y *S. dublin* fueron remarcables agentes de enfermedades en cobayos, siendo la *S. typhimurium* la que muestra destacada recurrencia (Parra *et al.*, 2002).

Las infecciones por *Salmonella sp.* en animales domésticos a menudo no presentan síntomas, y se estima que entre el 1% y el 3% de estas especies portan al mencionado microorganismo. Sin embargo, los cuyes son particularmente vulnerables a esta enfermedad, la cual puede presentarse de manera rápida y severa o de forma prolongada y persistente (crónica). La enfermedad puede atacar a los cobayos sin importar la edad o sus etapas reproductivas, y regularmente se vincula con contextos o condiciones estresantes (Morales *et al.*, 2007).

#### **2.4.2. Epidemiología**

La salmonella se transmite principalmente a través de animales enfermos o portadores, como roedores, insectos, aves y personas, así como por alimentos o agua contaminada. El entorno de la granja, si no se desinfecta adecuadamente, también puede ser una fuente de contaminación. La bacteria se introduce al organismo, normalmente por vía oral, tolerando las condiciones del estómago (pH), así como los compuestos biliares, y se posiciona en el intestino delgado, infiltrándose luego en los ganglios linfáticos mesentéricos, de modo que desencadena una infección local (Radostits *et al.*, 2002).

La transmisión de la salmonella puede ocurrir por vía directa o por elementos intermediarios. Por ejemplo, a través de la micción y la excreta, muchos animales expulsan importantes volúmenes de microorganismos al entorno circundante. Por otra parte, otros animales más vulnerables incorporan bacterias y virus a su sistema al ingerir alimentos o agua infestada; asimismo, también se debe considerar el peligro de contagio a través de heridas abiertas, la conjuntiva de los ojos o por vía aérea (Radostits *et al.*, 2002).

### 2.4.3. Patogenia

*Salmonella typhimurium* es un organismo zoonótico específico y también un patógeno que causa una mayoritaria proporción de los registros por intoxicación alimentaria en distintas regiones del planeta. Tiene la capacidad de afectar a diferentes especies de animales y también a personas, aunque, normalmente, su efecto se limita a una gastroenteritis leve. Sin embargo, algunas cepas de este microbio son más peligrosas y pueden invadir el intestino, penetrando el tejido intestinal y llegando al torrente sanguíneo. Tal comportamiento peculiar y peligroso está enlazado con el propio patrón virulento de la *Salmonella* (Dos Santos *et al.*, 2019).

Tras ser ingerida, la *Salmonella* enfrenta un entorno hostil en el sistema digestivo: escasez de oxígeno, presión osmótica incrementada, acidez y calor. Sin embargo, para hacer factible su supervivencia y establecerse en el intestino delgado (específicamente en el íleon distal y el ciego), el microorganismo es capaz de modificar en parte su dinámica genérica, adaptándose a estas condiciones adversas (Radostits *et al.*, 2002; Figueroa y Verdugo, 2005).

Cuando el microorganismo ya invadió al individuo, busca fijarse a las células del tejido intestinal o a la matriz extracelular valiéndose de una estructura llamada adhesina, que actúa como una llave que encaja en receptores con estructura molecular específica (cerraduras) presentes en las células del infectado. Esta interacción adhesina-receptor no solo permite que la bacteria se fije, sino que también determina qué tipo de tejido puede invadir y en qué organismo puede sobrevivir. Es decir, esta interacción entre la adhesina y el receptor es clave para entender por qué ciertas bacterias infectan a determinados organismos y órganos (Figueroa y Verdugo, 2005).

Las adhesinas, además de permitir la fijación celular de la *Salmonella*, también actúan como señales que activan a los linfocitos B y neutrófilos, desencadenando respuestas inmunitarias como la propagación de células y la liberación de citocinas. Asimismo, la bacteria inicia su invasión al organismo del invadido mediante las células epiteliales del intestino y las células M. Estas células son un blanco ideal para la bacteria debido a que carecen de borde en cepillo y glucocáliz, estructuras que normalmente protegen a las células de la invasión bacteriana (Figueroa y Verdugo, 2005).

El efecto del organismo a la invasión de la salmonella depende de la estrategia de la bacteria aplicada según el tipo de célula que va a atacar. Para aquellas identificadas como no fagocíticas, la bacteria provoca una transformación en la membrana plasmática y una reestructuración severa de su constitución interna o citoesqueleto a modo de protrusiones o extensiones onduladas (ruffling), emulando el efecto que suele producirse por ciertas sustancias estimulantes del propio sistema. Sin embargo, en los macrófagos, encargados de la defensa, la salmonella despliega su arsenal tóxico, imposibilitando el ruffling, que también se relaciona con la fagocitosis, y luego desencadena un proceso de autodestrucción celular conocido como apoptosis (Velge *et al.*, 2012).

La diarrea causada por salmonella involucra una variedad de factores de virulencia. Las infecciones intestinales causadas por salmonella pueden causar infecciones extra-intestinales, que son causadas por macrófagos que no ejecutan su función primordial en contra de este microorganismo. La *Salmonella* entérica transita por todo el cuerpo y se transporta a través de fagocitos, vía linfática y sanguínea. La bacteriemia resultante manifiesta síntomas o no, y conlleva una elevada probabilidad en el desarrollo de sepsis (Velge *et al.*, 2012).

La fiebre producida por la sepsis puede durar varias semanas y provocar un shock séptico por efecto de las endotoxinas en el sistema circulatorio. De manera similar, *Salmonella* entérica

puede diseminarse a varios órganos cuando se distribuye por todo el cuerpo, causando infecciones locales (Velge *et al.*, 2012).

#### **2.4.4. Manifestaciones clínicas**

En lo que respecta a los cobayos, la salmonelosis agrava su salud de dos maneras: una infección severa con síntomas de sepsis aguda, en la cual la muerte ocurre dentro de 24 y 48 horas; lo frecuente en este escenario es la no evidencia de sintomatología pero, en peculiares situaciones, sí se puede observar colapso, anorexia, dolor, parálisis de las patas traseras, diarrea con moco y aborto espontáneo; la forma crónica muestra adelgazamiento significativo, aumento del volumen abdominal y pelaje hirsuto (Morales *et al.*, 2007).

El serotipo de salmonella que infecta a los cobayos determina, en gran medida, los signos clínicos que se manifiestan. Ciertos serotipos pueden causar epidemias explosivas. Por lo general, los supervivientes permanecen como infectados sin síntomas aparentes. En los cobayos en desarrollo, esto sucede con frecuencia y, además, las infecciones clínicas con alta mortalidad son muy comunes dada su vulnerabilidad. Pero también deben mencionarse otros posibles indicadores de la enfermedad: conjuntivitis, menos crías por parto, masa corporal reducida en las crías recién nacidas y piel azulada (cianosis) (Garmendia *et al.*, 2000).

En los cuyes, ya sea por salmonelosis aguda o crónica, los signos clínicos son diferentes. La primera se caracteriza por una infección generalizada (sepsis) de acelerada evolución y puede, o no, evidenciarse con desgano, alteraciones neurológicas y diarrea. En la mayoría de casos, el desenlace es fatal y el curso de la enfermedad varía entre uno y dos días. Los animales crónicos dejarán de comer hasta llegar a la caquexia, diarrea, hinchazón abdominal, dificultad para respirar, neumonía, colapso, parálisis y aborto espontáneo (Morales *et al.*, 2007).

#### **2.4.5. Hallazgos en la necropsia**

Gran parte de los signos internos del padecimiento consisten en congestión del corazón, intestinos, bazo e hígado. Específicamente, se observa un crecimiento del bazo, así como manchas blancas de diferentes tamaños, abscesos y congestión. Los indicios en el pulmón se suelen concentrar en el lóbulo diafragmático y apical, tanto como evidencias de congestión como de hemorragias (Onyekaba, 1983).

En cuyes infectados con *Salmonella sp.*, las lesiones localizadas en los órganos suelen ser de tipo inflamatorio, aunque también puede presentarse avance degenerativo, deficiencias circulatorias y de adaptación. En términos generales, estas manifestaciones se aprecian en cinco órganos, pero es en el hígado en el que se presenta una mayor concentración de deterioro, de modo que es habitual detectar cuadros de hepatitis necrótica (Layme *et al.*, 2011).

#### **2.4.6. Diagnóstico**

Para diagnosticar salmonelosis en *Cavia porcellus*, el examen consiste en integrar el análisis de cambios en los órganos (durante la necropsia), con la observación de los síntomas que presenta el animal y el aislamiento del microorganismo en un laboratorio. Para detectarlo en especímenes enfermos, se suelen analizar muestras de intestino delgado, hígado y bazo, aunque es también factible tomar muestras y aislarlas de otros órganos como el útero, la vesícula biliar, la glándula mamaria, ganglios linfáticos mesentéricos y el pulmón (Bustamante, 1993).

#### **2.4.7. Susceptibilidad y resistencia antibiótica**

Desde mediados de la década de 1950 se tuvo conocimiento y evidencias de que las cepas de salmonella tenían cierta tolerancia a fármacos antibacterianos, pero fue a partir de 1990 que esta

característica empezó a ganar más notoriedad y preocupación al presentar una mayor extensión y frecuencia (Majak *et al.*, 2018).

En la actualidad, el aumento alarmante de variantes de salmonella resistentes a los antibióticos, sumado a la afectación que estos fármacos generan en la microflora intestinal y la diarrea asociada a su uso, ha disminuido la eficacia de los tratamientos convencionales. Esta situación ha generado una creciente necesidad de explorar y desarrollar tratamientos alternativos para combatir la bacteria (Majak *et al.*, 2018).

Por otra parte, se realizó un experimento para evaluar la eficacia de la norfloxacin contra *Salmonella sp.* en laboratorio. Los resultados mostraron que este fármaco tiene una notable influencia antibacteriana. Además, se la comparó con otros medicamentos comúnmente utilizados para tratar la salmonella, como el cloranfenicol, la oxitetraciclina y la dihidroestreptomicina. Las intervenciones con cada alternativa revelaron distinciones significativas ( $P < 0,05$ ), destacándose en la norfloxacin un diámetro de halo de inhibición de 28,533mm (promedio) respecto a su intervención contra la *Salmonella sp.*, ostentando un mayor efecto bactericida en comparación con los demás tratamientos, cuyos diámetros promedios de halo de inhibición fueron de 5,367mm; 1, 778mm y 0mm con el cloranfenicol, dihidroestreptomicina y oxitetraciclina, respectivamente. Esto evidencia la inferioridad de estos fármacos respecto a la norfloxacin en el escenario de la intervención contra *Salmonella sp.* (Alegría, 2008).

Aun con este hallazgo, estas variantes de Salmonella entérica siguen generando preocupación dada la evolución de su capacidad de resiliencia y la eventual ineficacia absoluta de los fármacos antibacterianos habituales, por ese motivo, es enormemente apremiante someter a prueba a novedosos recursos para mantener el control de esta enfermedad, siendo esta una misión

trascendente no solo para el bien de la producción animal, sino también por el bien de la salud humana (García, 2011).

#### **2.4.8. Medios de cultivo para Salmonella**

El aislamiento de la bacteria salmonella implica los siguientes procedimientos: (1) se efectúa un enriquecimiento general para promover el crecimiento de diversas bacterias, (2) se desarrolla un medio selectivo para favorecer el crecimiento de salmonella, (3) se siembra en placas con medios sólidos específicos que permiten diferenciar visualmente las colonias de salmonella de otras bacterias presentes. Las colonias sospechosas son sometidas a pruebas bioquímicas en medios de cultivo diseñados para salmonella, confirmando así su presencia. Finalmente, un análisis antigénico verifica la identidad de la bacteria al detectar moléculas específicas en su superficie, concluyendo así el proceso de aislamiento (Hurtado, 2001).

El enriquecimiento no selectivo: es importante cuando la muestra ha sido sometida a condiciones adversas, como irradiación, desecación, congelación prolongada o pH bajo. Este proceso revitaliza las bacterias dañadas que han atravesado circunstancias desfavorables de almacenaje o procesos industriales, permitiéndoles iniciar su multiplicación normal. Se utiliza caldo peptonado bufferado o lactosado al 0,2% para mejorar la preservación de cepas de salmonella debilitadas (Hurtado, 2001).

El enriquecimiento selectivo: fase necesaria en el aislamiento de *Salmonella sp*, en la cual es incitado el crecimiento específico de esta bacteria mientras inhibe el desarrollo de otras presentes en la muestra, como las bacterias intestinales y coliformes. Para lograr esto, los compuestos de desarrollo son:

– El caldo selenito. Es un sustrato de cultivo con la función de propiciar el desarrollo de salmonella. La peptona proporciona el contenido nutricional suficiente para la vida del microorganismo, mientras que la lactosa actúa como fuente de energía. El selenito, componente clave de este microambiente controlado, frustra el desarrollo de bacterias intestinales, enterococos y coliformes, especialmente durante las horas iniciales de incubación (entre 6 y 12 horas). Sin embargo, *Proteus sp.*, *Salmonella sp.* y *Pseudomonas sp.*, no se ven afectados por el selenito, lo que permite su crecimiento y posterior aislamiento (Merck, 1994).

– El caldo de enriquecimiento Gram negativos (GN): de acuerdo a Hajna, es un compuesto de cultivo diseñado para asegurar el desarrollo de bacterias Gram negativas, especialmente *Shigella* y *Salmonella*. La triptona presente en este caldo proporciona los compuestos alimenticios justos para el desarrollo bacteriano, mientras que el citrato y el desoxicolato de sodio anulan la presencia bacteriana Gram positiva, como los estreptococos fecales y los bacilos esporulantes, además de acabar con la existencia de coliformes. Los fosfatos actúan como buffer, previniendo la acidificación prematura del medio. La alta concentración de manitol en relación con la dextrosa favorece el crecimiento de *Shigella* y *Salmonella*, al mismo tiempo que inhibe el de *Proteus* (Hurtado, 2001).

Los medios selectivos: son herramientas que hacen posible aislar bacterias específicas al restringir el crecimiento de otras. Esto es factible mediante la añadidura de sustancias como antibióticos, colorantes y sales biliares, que actúan como agentes selectivos. Ejemplos de medios selectivos son el agar eosina azul de metileno (EMB) y el agar MacConkey, los cuales facilitan la identificación de gérmenes que no sintetizan la lactosa con procesos de fermentación, como *Salmonella* y *Shigella*. En estos medios, las sales biliares funcionan como agentes inhibidores, impidiendo el crecimiento de bacterias no deseadas (Stanchi, 2007).

– El agar Eosina Azul de Metileno (EMB) favorece el apartamiento de patógenos, aunque no proporciona un diagnóstico definitivo, sino que permite un acercamiento. Su composición incluye lactosa y sacarosa, que hacen factible la detección de las enterobacterias en función a la estructuración y tonalidad de sus colonias, así como su capacidad para fermentar estos azúcares. Los colorantes presentes en el medio truncan el crecimiento de bacterias Gram positivas. Por otra parte, las agrupaciones de *Salmonella* se hacen reconocibles en el EMB a causa de su pigmento ambar o por la ausencia de color (Stanchi, 2007).

– El agar MacConkey (McK), junto a las sales biliares y el cristal violeta, restringen el desarrollo de organismos Gram positivos. La lactosa, junto con el indicador rojo neutro, permiten identificar la capacidad de las bacterias para degradar este azúcar. Las colonias de bacterias lactosa positivas, como *Escherichia coli*, se presentan de color rojo con un halo turbio, mientras que las colonias de bacterias lactosa negativas, como *Salmonella sp.*, permanecen incoloras (Stanchi,2007).

Los medios diferenciales: su utilidad radica en la identificación de bacterias, ya que permiten distinguirlas en función de su actividad metabólica. Estos medios detectan cambios en el aspecto de las colonias o variaciones en el pH del medio, causados por la actividad enzimática de las bacterias. En el proceso de aislamiento de *Salmonella sp.*, las colonias sospechosas, identificadas como no fermentadoras de lactosa en medios selectivos, se siembran en medios diferenciales. Este paso crucial posibilita la preservación específica de colonias con las características particulares de *Salmonella* (Stanchi, 2007). De estos compuestos diferenciales, los más usuales son:

– El agar Hektoen Entérico. Es un recurso determinante en la identificación de enfermedades gastrointestinales. Su doble función, selectiva y diferencial, permite aislar e identificar bacterias

patógenas presentes en muestras de heces, alimentos y otros materiales (Merck, 1994). Las colonias de *Salmonella sp.* en agar Hektoen presentan una característica distintiva: un halo transparente alrededor de la colonia, conocido como "ojo de pescado", y la producción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S), que se manifiesta como un precipitado negro. Además de su capacidad para aislar bacterias patógenas, este medio también tiene una influencia restrictiva sobre la flora acompañante, es decir, las bacterias no patógenas presentes en la muestra (Murray y Shea, 2004). Esto permite hacer posible un mayor desarrollo de *Salmonella* y *Shigella*.

– Agar Salmonella – Shigella (SS). actúa como un filtro microbiano, permitiendo el crecimiento de patógenos intestinales claves como *Salmonella* y *Shigella*, mientras que restringe la vida bacteriana Gram positiva, una significativa proporción de coliformes y el crecimiento invasivo de *Proteus*. Esta selectividad se logra gracias a la función de compuestos biliares y verde brillante. Pero el agar SS no se limita a ser un simple filtro, también es un revelador de identidades bacterianas. Su capacidad diferencial se basa en la presencia de lactosa y tiosulfato de sodio, que permiten distinguir las bacterias en función de su metabolismo. Aquellas que fermentan la lactosa producen ácido, generando un cambio de color en el medio, mientras que las que producen ácido sulfhídrico basándose en el tiosulfato de sodio, forman un característico precipitado negro. En el agar SS, las colonias de *Salmonella* se manifiestan como agrupaciones translúcidas en su mayoría, aunque a veces pueden adoptar una apariencia opaca. En algunos casos, estas colonias presentan un área central oscura, resultado de la generación de ácido sulfhídrico (Murray y Shea, 2004).

– Agar Bismuto Sulfito. Es un compuesto selectivo y diferencial que mezcla peptona, tejidos animales, glucosa, extracto de carne, sulfato férrico y sulfito de bismuto, que en conjunto crean un ambiente hostil para la mayoría de los microorganismos comensales, permitiendo que solo florezcan aquellos de interés. Las colonias características de *Salmonella sp.*, suelen presentarse

en tonalidades café, gris o negras, a veces con un brillo metálico y rodeadas por una aureola o halo café que puede oscurecerse más. Algunas cepas, sin embargo, generan colonias verdes sin esta aureola sombreada (Murray y Shea, 2004).

#### **2.4.9. Identificación bioquímica**

Para que las formas de vida bacteriana crezcan, necesitan formar ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y polisacáridos. Tales moléculas tienen que estar presentes en su entorno o, de lo contrario, la célula misma debe ser capaz de producirlos (Farmer, 2003).

Para distinguir acertadamente la existencia de *Salmonella sp.*, las agrupaciones bacterianas examinadas en el compuesto de cultivo diferencial, y que se les asume como sospechosas, se les realizan pruebas para analizar sus respuestas bioquímicas (Farmer, 2003). Estos exámenes son detallados a continuación:

– TSI (triple azúcar hierro): Este agar incorpora glucosa, sacarosa y lactosa. Su naturaleza discriminatoria reside en la facultad de discernir microorganismos en función de su aptitud para metabolizar estos azúcares y generar ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) y gas. El rojo de fenol actúa como indicador de pH, transmutándose a amarillo ante la génesis de ácido desencadenado por la transformación del carbohidrato. El sulfato ferroso presente en el agar TSI permite dar con la manifestación de ácido sulfhídrico. La salmonella desencadena una reacción alcalina/ácida, acompañada de la manifestación de H<sub>2</sub>S, perceptible en el fondo del tubo. En ciertas ocasiones, se observa, adicionalmente, la génesis de gas (MacFaddin, 2000).

– LIA (Agar Lisina Hierro): En este medio, se revelan los intrincados procesos de descarboxilación y desaminación, los cuales se desencadenan tras la metabolización inicial del carbohidrato presente (glucosa) y la acidez resultante. En organismos provistos de descarboxilasas, se suscita la descarboxilación, liberando aminas que alcalinizan el entorno

microbiano. En contraste, en aquellos dotados de desaminasas, se produce la desaminación, culminando en la génesis de ácidos orgánicos que acrecientan la acidez del sustrato de cultivo. El resultado es que, para *Salmonella sp.*, se exhibe un color púrpura tanto en el tendido como en el fondo (K/K), acompañado de producción de H<sub>2</sub>S y gas, lo cual indica la presencia de la enzima lisina-decarboxilasa (MacFaddin, 2000).

– Empleo del Agar Citrato de Simmons: El compuesto incorpora fosfato monopotásico, sulfato de magnesio, fosfato de amonio sódico, citrato de sodio y azul de bromotimol, el cual señala el pH. Con la evaluación se pretende averiguar la cualidad de las bacterias para aprovechar el citrato de sodio y extraer carbono de él, de modo que beneficie su evolución y procesos metabólicos. Habitualmente, salmonella aprovecha el citrato para conseguir carbono, acción que ocasiona una modificación en la tonalidad del microambiente de cultivo, cambiando este a un color azul (Farmer, 2003).

– Producción de Indol: Esta evaluación se realiza con el propósito de establecer si la bacteria bajo análisis posee la habilidad de descomponer el indol presente en la estructura del triptófano. El indol es parte del total de productos resultantes de la descomposición metabólica del aminoácido triptófano. Los microorganismos que cuentan con la enzima triptofanasa desaminan e hidrolizan el triptófano, generando amoníaco, ácido pirúvico e indol. Para identificar la generación de indol efectuada por los microorganismos examinados, se emplea el ingrediente activo presente en los reactivos de Kovacs y Ehrlich. *Salmonella sp.* no tiene la facultad de sintetizar indol, lo que provoca que el medio permanezca inalterado y no muestre ninguna reacción (MacFaddin, 2000).

– Prueba de Motilidad: Establece si una bacteria posee capacidad de movimiento o no. La locomoción de los organismos se produce gracias a la existencia de flagelos que circundan los

bacilos, aunque también ciertos tipos de cocos presentan movilidad. Este ensayo se efectúa en un entorno de cultivo semisólido (SIM), en el cual también se analiza la generación de indol y de ácido sulfhídrico por parte de los organismos. Las bacterias con capacidad de movimiento originarán una turbidez uniforme en el sustrato debido a su dispersión aleatoria y la presencia de flagelos. En contraste, las bacterias carentes de movilidad se mantendrán en el mismo punto de inoculación donde fueron sembradas (MacFaddin, 2000). Por lo general, las salmonelas presentan movilidad, excepto *S. pullorum* y *S. gallinarum*, que son parásitos exclusivos de aves (Farmer, 2003).

– Hidrólisis de Urea: La urea constituye una estructura orgánica nitrogenada que ciertos microorganismos convierten gracias a la producción de la enzima ureasa. En esta actividad, el nitrógeno se desprende en modo no orgánico como moléculas de amoníaco. Al efectuarse la respuesta reactiva, el compuesto completo del cultivo adquiere alcalinidad, y el sensor de pH posibilita la detección de la alteración de color provocada por la alcalinización del entorno. *Salmonella sp.* no posee la habilidad de hidrolizar la urea, resultando en una prueba negativa. Este ensayo es esencial para distinguir bioquímicamente entre *Salmonella* y *Proteus* (MacFaddin, 2000).

#### **2.4.10. Control y tratamiento**

Una bacteria es vulnerable a un antibiótico cuando este es capaz de frenar su reproducción y restringir la infección en el huésped. De otro modo, una bacteria se califica como resistente cuando la cantidad del fármaco en la ubicación de la infección no es lo suficientemente elevada como para frenar la replicación y no consigue aniquilar a la bacteria (García, 2011).

Las manifestaciones de resistencia antimicrobiana pueden ser intrínsecas o desarrolladas. La resistencia innata es una cualidad particular de la bacteria, que le proporciona ventajas competitivas respecto a otras cepas, y donde la manifestación de la resistencia es anterior a la utilización de los antibióticos (Guerra, 2000). En la resistencia desarrollada, esta surge por mutaciones y por la transferencia de material genético extracromosómico proveniente de otras bacterias.

Como táctica de restricción ante la manifestación de brotes infecciosos, particularmente en sistemas de producción intensiva y parcialmente intensiva, numerosas investigaciones han buscado precisar y clarificar las estrategias paliativas para esta especie (cobayo); en cuanto a su tratamiento de salmonelosis, hay desacuerdo sobre los mejores medicamentos y métodos de administración, debido a que estos animales no responden bien a los antibióticos y existe un riesgo considerable de intoxicación (Percy y Barthold, 2001).

El abuso de ciertos medicamentos antibacterianos en la cura de enfermedades tiene efectos negativos, como la aparición de bacterias resistentes a antibióticos comunes (cloranfenicol, trimetoprim y sulfametoxazol) y, recientemente, a las fluoroquinolonas, compuesto extensamente utilizado para gestionar la salmonelosis por su mayor eficacia. En la actualidad, existen cepas de salmonella. resistentes a múltiples fármacos, incluyendo las cefalosporinas de tercera generación, lo que dificulta su tratamiento (Mattos *et al.*, 2007).

En lo referente a la recurrencia de medicinas tradicionales, una evaluación científica efectuada en Huánuco evidenció la acción antibacteriana de hojas de chincho (*Tagetes elliptica*) en el esquema de producción de cobayos contra salmonella, encontrándose inhibición de crecimiento de *Salmonella typhimurium* con 3125µg / ml y la inhibición del halo fue de 11 mm, comparado con los 18 mm obtenidos por el cloranfenicol, su poder inhibidor se redujo (61%). Una dosis oral

de 100 mg cada 24 horas y durante 3 días consecutivos es la medida mínima suficiente para controlar los síntomas clínicos de la salmonelosis (Pineda *et al.*, 2007).

Esta posible acción antibacteriana fue corroborada en pruebas de laboratorio al observar efectos a partir de 150 UFC (Unidades Formadoras de Colonia); cuando aparecieron los síntomas de la diarrea, se redujo a 30 UFC, lo que significa un 80% de actividad. Algunos autores creen que la influencia antibacteriana del huacatay se explica por la presencia de flavonoides, especialmente los derivados 7-monoglucosilados de la quercetina (Pineda *et al.*, 2007).

En otra pesquisa se evidenció la característica antibacteriana de la Muña (*Satureja parvifolia*) en referencia a las patologías causadas por *Streptococcus enteritidis*. A su vez, otro estudio con cepas de *Streptococcus enteritidis* aisladas de tejidos de cuyes en Carhuaz, encontró que todas eran sensibles a enrofloxacina, sulfatrimetoprim y estreptomicina (Mattos *et al.*, 2007).

Es de suma consideración que los ejemplares de cobayos que resulten positivos en cultivos de salmonella sean sacrificados. En caso de detectar focos de infección por salmonella en pozas, lotes o galpones, es crucial erradicar completamente a los animales afectados para restringir la extensión del microorganismo en el resto de los animales (Morales, 2013).

Guardar precaución respecto a la salmonelosis en cuyes implica una serie de medidas cruciales: garantizar la higiene de los alimentos, mantener condiciones óptimas de temperatura y humedad en el galpón, establecer rutinas de limpieza y desinfección de las pozas y de la infraestructura de crianza, así como detener la incorporación de nuevos cobayos sin un período de cuarentena de al menos 20 días y minimizar el contacto con posibles portadores y objetos contaminados (Morales, 2013).

## CAPÍTULO III

### DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

#### 3.1. Hipótesis de la investigación

La adición de “sangre de grado” (*Croton lechleri*) inhibe significativamente el crecimiento bacteriano in vitro sobre *Salmonella sp.* aislada de *Cavia porcellus* y el efecto varía de acuerdo a la concentración utilizada.

#### 3.2. Diseño metodológico

La presente investigación es de naturaleza aplicada, con diseño experimental y de nivel analítico - explicativo.

#### 3.3. Localización

La presente investigación se realizó desde julio 2023 hasta diciembre 2023 en la ciudad de Trujillo, Región La Libertad, la cual se encuentra en la en la costa norte del litoral peruano. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Referencia Regional, ubicado en el Jr, Ayacucho 306 en el distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, región La Libertad.

La ciudad de Trujillo tiene los siguientes datos meteorológicos:

Altitud	: 34 m.s.n.m.
Latitud sur	: 8°6'43.29" S
Longitud oeste	: 78°59'6.36" W
Temperatura promedio	: Entre 18°C y 27°C
Precipitación pluvial promedio	: < 0.1 mm/día
Humedad relativa	: 78%

---

Fuente: SENAMHI (2024)



Fig. N°1. Mapa de la ciudad de Trujillo

### 3.4. Unidad de análisis y muestra

#### 3.4.1. Unidad de análisis

Cada placa Petri en la investigación representa una unidad para estimar la sensibilidad a la “sangre de grado”. Estas placas albergaron la cepa de *Salmonella sp.*, aislada del tracto intestinal de *Cavia porcellus*, con el látex de *Croton lechleri* a cantidades específicas, y el antibiótico norfloxacina.

En lo referente al cálculo del número de ensayos de este estudio, se usó la fórmula de diferencia de proporciones:

$$n = 2(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2 / d^2$$

Siendo:

n: número de repeticiones a efectuar en cada investigación.

$Z_{\alpha/2}$ : 1.96 coeficiente de confiabilidad para  $\alpha=0.05$

$Z_{\beta}$ : 0.84 coeficiente de confiabilidad para  $\beta=0.20$

S: 0.7d valor asumido por no haber estudios previos.

D: Diferencia entre promedios para rechazar la igualdad de medias.

Reemplazando:

$$n = 2 (1.96 + 0.84)2 \sqrt{0.49} = 15,37$$

Generando el resultado final de una cifra muestral de 15 placas petri.

### 3.4.2 Muestra

**Muestra vegetal:** El látex de “sangre de grado” (*Croton lechleri*) se obtuvo en la provincia de Bagua, a una altitud de 420 metros. Un experto local colaboró en la extracción, realizando cortes en "V" en la corteza del árbol para obtener 100 ml de látex. Este fue almacenado en frascos ámbar para preservarlo de la luz y la contaminación, garantizando así la preservación de sus componentes.

**Muestra microbiológica:** Placas Petri de agar Mueller-Hinton cultivadas con cepas de *Salmonella sp.*

## 3.5. Diseño de Investigación

### Criterios de inclusión

Se utilizaron cuyes de todas las edades, sin importar sexo, procedentes de granjas de la provincia de Trujillo, los mismos que, fueron escogidos observando los síntomas de la enfermedad (Salmonelosis).

### Criterios de exclusión

No se tomaron en cuenta animales que hayan recibido algún tipo de tratamiento antibacteriano.

Este estudio experimental utilizó un diseño completamente al azar, con 4 tratamientos y 15 unidades experimentales por tratamiento, los datos observados fueron analizados estadísticamente en el software SPSS 20 empleando pruebas de normalidad y estadística no paramétrica, se usó la prueba H de kruskal-wallis de muestras independientes. con un grado límite de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ).

Los tratamientos experimentales fueron:

Tabla 1. Distribución de los tratamientos

<b>Tratamientos</b>	<b>Concentración %</b>
<b>T1</b>	50% (2.5ml sangre de grado + 2.5ml agua destilada)
<b>T2</b>	75% (3.75ml sangre de grado + 1.25ml agua destilada)
<b>T3</b>	100% (5ml sangre de grado + 0ml agua destilada)
<b>T4</b>	Antibiótico norfloxacin 10mcg

La distribución de las unidades experimentales (cepas de salmonella) por tratamiento puede observarse en la siguiente tabla:

Tabla 2. Distribución de las cepas de salmonella por tratamiento

<b>T1 (50%)</b>	<b>T2 (75%)</b>	<b>T3 (100%)</b>	<b>T4 (Norfloxacin)</b>
CEPA 1	CEPA 1	CEPA 1	CEPA 1
CEPA 2	CEPA 2	CEPA 2	CEPA 2
CEPA 3	CEPA 3	CEPA 3	CEPA 3
CEPA 4	CEPA 4	CEPA 4	CEPA 4
CEPA 5	CEPA 5	CEPA 5	CEPA 5
CEPA 6	CEPA 6	CEPA 6	CEPA 6
CEPA 7	CEPA 7	CEPA 7	CEPA 7
CEPA 8	CEPA 8	CEPA 8	CEPA 8
CEPA 9	CEPA 9	CEPA 9	CEPA 9
CEPA 10	CEPA 10	CEPA 10	CEPA 10
CEPA 11	CEPA 11	CEPA 11	CEPA 11
CEPA 12	CEPA 12	CEPA 12	CEPA 12
CEPA 13	CEPA 13	CEPA 13	CEPA 13
CEPA 14	CEPA 14	CEPA 14	CEPA 14
CEPA 15	CEPA 15	CEPA 15	CEPA 15

### **3.6. Diseño metodológico**

#### **Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

##### **3.6.1 Obtención de las muestras de Salmonella:**

Se elaboró una ficha para cada ejemplar obtenido (cuy), para así tener registro de la granja de origen. Los ejemplares moribundos con síntomas de salmonella fueron sacrificados e inmediatamente se realizó la necropsia en el laboratorio de Referencia Regional de Trujillo. Se realizaron un total de 24 necropsias de 5 granjas de cuyes procedentes del distrito de Trujillo.

Para detectar salmonella en el sistema digestivo de cuyes, especialmente en el tracto intestinal, se utilizó la técnica de necropsia. Durante las visitas a las granjas, se sacrificaron los cuyes moribundos y se realizó una incisión longitudinal en la piel desde la mandíbula hasta el pubis, utilizando un bisturí y un mechero cercano para reducir la contaminación. Luego, se separó la piel y se desarticuló la articulación de la cadera para examinar la superficie articular. Posterior a esto, fue efectuada la incisión secundaria, en la cual se ejecutó dos cortes paralelos a las ramas mandibulares izquierda y derecha, con el propósito de desprender la lengua mediante la sección del frenillo y la base lingual. Se procedió a liberar la tráquea y el esófago, removiéndolos cuidadosamente para alcanzar la entrada del tórax. Se realizó una incisión que se extendió partiendo del proceso xifoides del esternón hacia la sínfisis púbica, teniendo especial cuidado en evitar la perforación de los órganos albergados en la región abdominal. Posteriormente, se realizaron dos incisiones adicionales a lo largo del borde de la última costilla, partiendo desde el mismo proceso xifoides.

Se procedió a exponer los órganos alojados en la cavidad torácica, para lo cual se realizó la disección de los bordes del diafragma, efectuando una incisión sobre el esternón y otra incisión sobre la unión costochondral tanto del lado izquierdo como del lado derecho, alineándose al método detallado por Astaiza *et al* (2013).

Se procedió a la toma de muestras mediante la realización de una incisión directa en el intestino afectado de los especímenes recolectados. Como resultado de este proceso, 15 de las 24 muestras dieron positivo a la presencia de *Salmonella sp.*

### **3.6.2. Procesamiento de las muestras**

Al momento que se realizaron las necropsias, se tuvo previamente preparados varios tubos con el medio caldo selenito, para el enriquecimiento primario, el cual sirvió para que, en caso hubiese salmonella en la muestra, ésta proliferara e inhiba el crecimiento de otras bacterias.

El proceso se realizó directamente con el asa de siembra estéril, utilizando el mechero; se tomó la muestra realizando un piquete en los órganos a analizar y luego se colocó directamente al tubo con selenito, la totalidad de la operación se realizó cerca al mechero. Seguidamente, el tubo con selenito ya inoculado se llevó a incubar en estufa a 37° por 20 a 24 horas. En total se realizaron 24 aislamientos de salmonella.

#### **3.6.2.1 Enriquecimiento selectivo**

Para este procedimiento, se preparó previamente agar SS y agar Mac Conkey.

Después de 24 horas de incubación, se retiraron los tubos con caldo de selenito enriquecido de la estufa. Utilizando un asa de siembra esterilizada con mechero, se sembró por estrías en placas de agar SS y agar Mac Conkey, y se incubaron nuevamente

durante 24 horas. Pasado este tiempo, se examinaron las placas en busca de colonias con características de salmonella. En el agar SS, las colonias sospechosas eran opacas y algunas presentaban círculos negros, mientras que en el agar Mac Conkey eran incoloras.

### **3.6.2.2 Pruebas bioquímicas de identificación**

Una vez identificada la colonia sospechosa, se colocó en un tubo de ensayo con caldo peptonado; para esto se empleó el asa de siembra y el mechero, para luego dejarse en incubación (estufa) por 24 horas. Pasadas las 24 horas la cepa del tubo incubado (madre) se dividió en dos, vertiendo un chorro de su contenido a otro tubo con caldo peptonado. Posteriormente se realizaron las siguientes pruebas para confirmar la presencia de salmonella.

Previamente preparamos: TSI y LIA

El agar TSI (triple azúcar hierro) está constituido por glucosa, sacarosa y lactosa, y se utiliza para detectar a las bacterias según su capacidad de fermentar estos azúcares y producir ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) y gas. El rojo de fenol actúa como verificador de pH, cambiando a amarillo en presencia del ácido producido por la fermentación de carbohidratos. El sulfato ferroso permite detectar la producción de H<sub>2</sub>S. En el caso de salmonella, se observa una respuesta alcalina/ácida con presencia de H<sub>2</sub>S, evidenciada por un ennegrecimiento en el fondo del tubo y, eventualmente, también se produce gas (MacFaddin, 2000).

LIA: Después de esterilizar el asa de siembra en aguja con un mechero, se tomó una muestra de la cepa madre y se inoculó en el tubo con agar LIA, descendiendo a la zona inferior y luego realizando una estría en la parte inclinada. El tubo se incubó durante 24

horas y luego se observaron las características del crecimiento. Al haber salmonella en la cepa madre, la parte inclinada y el fondo del agar se tornó púrpura, con producción de H<sub>2</sub>S (ennegrecimiento) y gas (MacFaddin, 2000).

### **3.6.2.3 Inoculación de las placas (Siembra para las pruebas de sensibilidad)**

Luego de haber obtenido la confirmación de la presencia de salmonella en cada una de las muestras, se procedió a realizar la siembra por diseminación en superficie en las placas de agar Müeller-Hinton previamente identificadas con el mismo número de la muestra, en total se realizaron 15 siembras, una por cada cepa de salmonella aislada. Luego con ayuda de un hisopo estéril se introdujo dentro de los tubos de ensayo que contenían cepas de salmonella (cultivo puro en caldo con concentración 0,5 de turbidez en la escala de McFarland) y se colocó dentro de la placa, asegurándonos de no dejar zonas vacías, por lo que, si se necesitaba más muestra, se extraía del tubo de ensayo, para lograr un sembrado homogéneo. Este procedimiento se realizó girando la placa 60° y cerca a la flama del mechero, posterior a ello, se dejó secar las placas a temperatura ambiente durante 3-5 minutos previo a la introducción de los discos de sensibilidad.

### **3.6.2.4 Dispensación de los discos de sensibilidad en las placas Petri e incubación**

Para la preparación de los discos de sensibilidad se utilizó papel filtro Whatman N°40 y con ayuda de un sacabocado se procedió a cortar el papel en discos de 6mm de diámetro,

Los discos de papel filtro se impregnaron con las diferentes concentraciones del látex de *Croton lechleri* “sangre de grado”: T1 (50%), T2 (75%) y T3 (100%) por inmersión, colocando los discos dentro de unos recipientes previamente identificados con la concentración del látex.

Como control, se utilizaron discos de sensibilidad antimicrobiana de la marca Bioanalyse, conteniendo 10 mcg del antibiótico Norfloxacin (T4), comúnmente utilizado en pruebas de antibiograma.

La técnica utilizada fue la de Kirby-Bauer, la cual implica colocar discos de papel impregnados con antibióticos o sustancias antibacterianas dentro de una placa de Petri que contiene agar y ha sido previamente inoculada con el microorganismo a estudiar. Al tocar el agar húmedo, el disco absorbe agua y la sustancia se difunde radialmente, creando un gradiente de concentración. Después de 24 horas de incubación, se forma una zona de inhibición alrededor de los discos, cuyo diámetro se mide con un vernier para determinar la sensibilidad del microorganismo a la sustancia (Bauer *et al.*, 1966).

Se colocaron 4 discos de sensibilidad en cada placa petri, asegurándose de que estuvieran separados por al menos 25 mm entre sí, para evitar que las zonas de inhibición se superpusieran. Estos 4 discos de sensibilidad se colocaron cuidadosamente sobre el agar Müeller-Hinton, previamente sembrado con la cepa de *Salmonella sp.*, utilizando pinzas estériles para garantizar la asepsia. Se aseguró un contacto firme de los discos con el agar, y una vez colocados, no se movieron, ya que algunas sustancias comienzan a difundirse rápidamente en el medio.

Este proceso se realizó en un total de 15 placas, producto de los 15 aislamientos realizados que dieron positivos a *Salmonella sp.* Se dejó que los compuestos diluidos se difundieran en el agar durante 30 minutos y luego se incubaron las placas a 37°C durante 24 horas.

### 3.6.2.5 Lectura e interpretación de los resultados para determinar el efecto antibacteriano del látex *Croton lechleri*

Después de incubar las placas, se midió el diámetro de las zonas de inhibición alrededor de los discos utilizando un vernier. La medición se realizó por la parte posterior de la placa con luz transmitida.

Para interpretar los resultados de la susceptibilidad de Salmonella frente al látex de “sangre de grado”, se utilizó la escala de Duraffourd y Lapraz (1983), clasificando cada diámetro del halo de inhibición en función a los siguientes criterios:

- Nula (-): para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensible (+): para un diámetro comprendido entre 9 a 14 mm.
- Muy sensible (++) : para un diámetro entre 15 y 19 mm.
- Sumamente sensible (+++): para un diámetro superior a 20mm.

Para la lectura e interpretación de los resultados de la susceptibilidad del antibiótico norfloxacina, se utilizó el método estandarizado recomendado por el C.L.S.I. (Clinical and Laboratory Standars Institute) cuyo método se basa en el descripto por Kirby – Bauer (CLSI, 2020).

Clasificando cada diámetro del halo de inhibición en función a los siguientes criterios:

- Resistente: para un diámetro  $\leq 12$ mm.
- Intermedio: para un diámetro comprendido entre 13 a 16 mm.
- Sensible: para un diámetro  $\geq 17$ mm.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Determinación del número de aislamientos de *Salmonella sp.*

En total se recolectaron 24 especímenes de 5 granjas del distrito de Trujillo, de cada uno de estos ejemplares se extrajo una pequeña muestra para verificar la presencia de salmonella. De los 24 aislamientos solo 15 de ellos dieron positivo a la presencia de esta bacteria.

Tabla N°3. Número de muestras y aislamientos realizados para *Salmonella sp.*

N° Muestra	Etapa Productiva	Granja de procedencia	Vivo / Muerto	Resultado Aislamiento
1	Gazapo	Don Hernán	Muerto	NEGATIVO
2	Gazapo	Don Hernán	Muerto	NEGATIVO
3	Engorde	Don Hernán	Vivo	POSITIVO
4	Gazapo	Don Santos	Vivo	POSITIVO
5	Reproductora	Don Santos	Muerto	NEGATIVO
6	Reproductora	Don Santos	Vivo	POSITIVO
7	Engorde	Don Santos	Vivo	POSITIVO
8	Gazapo	El Palmar	Vivo	POSITIVO
9	Gazapo	El Palmar	Vivo	POSITIVO
10	Reproductora	El Palmar	Muerto	NEGATIVO
11	Reproductora	El Palmar	Vivo	POSITIVO
12	Reproductora	Conache	Vivo	POSITIVO
13	Gazapo	Conache	Muerto	NEGATIVO
14	Reproductora	Conache	Vivo	POSITIVO
15	Gazapo	Conache	Vivo	POSITIVO
16	Reproductora	Conache	Muerto	NEGATIVO
17	Reproductora	Conache	Vivo	POSITIVO
18	Engorde	Conache	Vivo	POSITIVO
19	Reproductora	Conache	Muerto	NEGATIVO

<b>20</b>	Gazapo	Don David	Vivo	POSITIVO
<b>21</b>	Reproductora	Don David	Vivo	POSITIVO
<b>22</b>	Reproductora	Don David	Muerto	NEGATIVO
<b>23</b>	Gazapo	Don David	Muerto	NEGATIVO
<b>24</b>	Reproductora	Don David	Vivo	POSITIVO

#### 4.2. Determinación del efecto antibacteriano por el método de Kirby-Bauer

La acción antibacteriana del látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” contra *Salmonella sp.* se evaluó midiendo el diámetro de las zonas de inhibición en cuatro grupos, tres grupos con “sangre de grado” a diferentes concentraciones: 50%, 75% y 100%; y un grupo control con Norfloxacina 10 mcg. Se realizaron 15 ensayos (unidades experimentales) por grupo y los resultados se interpretaron de la siguiente manera:

Para las concentraciones de “sangre de grado” T1 (50%), T2 (75%) y T3 (100%), se utilizó la escala de Duraffourd y Lapraz para determinar la sensibilidad de la bacteria a cada concentración del látex.

Para evaluar la susceptibilidad del antibiótico norfloxacina (T4), se utilizó el método estandarizado recomendado por el C.L.S.I, cuyo método se basa en el descrito por Kirby – Bauer (CLSI, 2020).

Tabla N°4. Escala interpretativa de Duraffourd y Lapraz (1983)

<b>Escala</b>	<b>Diámetros de halos de inhibición</b>
<b>Nula (-)</b>	Inferior a 8 mm
<b>Sensible (+)</b>	Entre 9 a 14 mm
<b>Muy sensible (++)</b>	Entre 15 y 19 mm
<b>Sumamente sensible (+++)</b>	Superior a 20 mm

Fuente: Duraffourd y Lapraz (1983)

Tabla N°5. Escala interpretativa para evaluar la susceptibilidad a la norfloxacin (CLSI, 2020).

<b>Escala</b>	<b>Diámetros de halos de inhibición</b>
<b>Resistente</b>	$\leq 12$ mm
<b>Intermedio</b>	Entre 13 a 16 mm
<b>Sensible</b>	$\geq 17$ mm

Fuente: CLSI (2020)

Tabla N°6. Resultados de la lectura de los halos de inhibición en mm.

<b>N° Ensayo (Unidad de análisis)</b>	<b>T1 Concentración 50%</b>	<b>T2 Concentración 75%</b>	<b>T3 Concentración 100%</b>	<b>T4 Norfloxacin 10mcg</b>
<b>Cepa 1</b>	6	7	7	30
<b>Cepa 2</b>	6	7	6	29
<b>Cepa 3</b>	7	8	7	30
<b>Cepa 4</b>	6	7	6	31
<b>Cepa 5</b>	6	7	7	31
<b>Cepa 6</b>	6	7	7	31
<b>Cepa 7</b>	7	8	6	30
<b>Cepa 8</b>	6	8	7	29
<b>Cepa 9</b>	6	7	6	30
<b>Cepa 10</b>	6	7	6	30
<b>Cepa 11</b>	7	7	6	30
<b>Cepa 12</b>	6	8	7	29
<b>Cepa 13</b>	7	7	7	29
<b>Cepa 14</b>	7	7	7	30
<b>Cepa 15</b>	6	7	7	29
<b>Promedio</b>	6.33	7.27	6.60	29.87

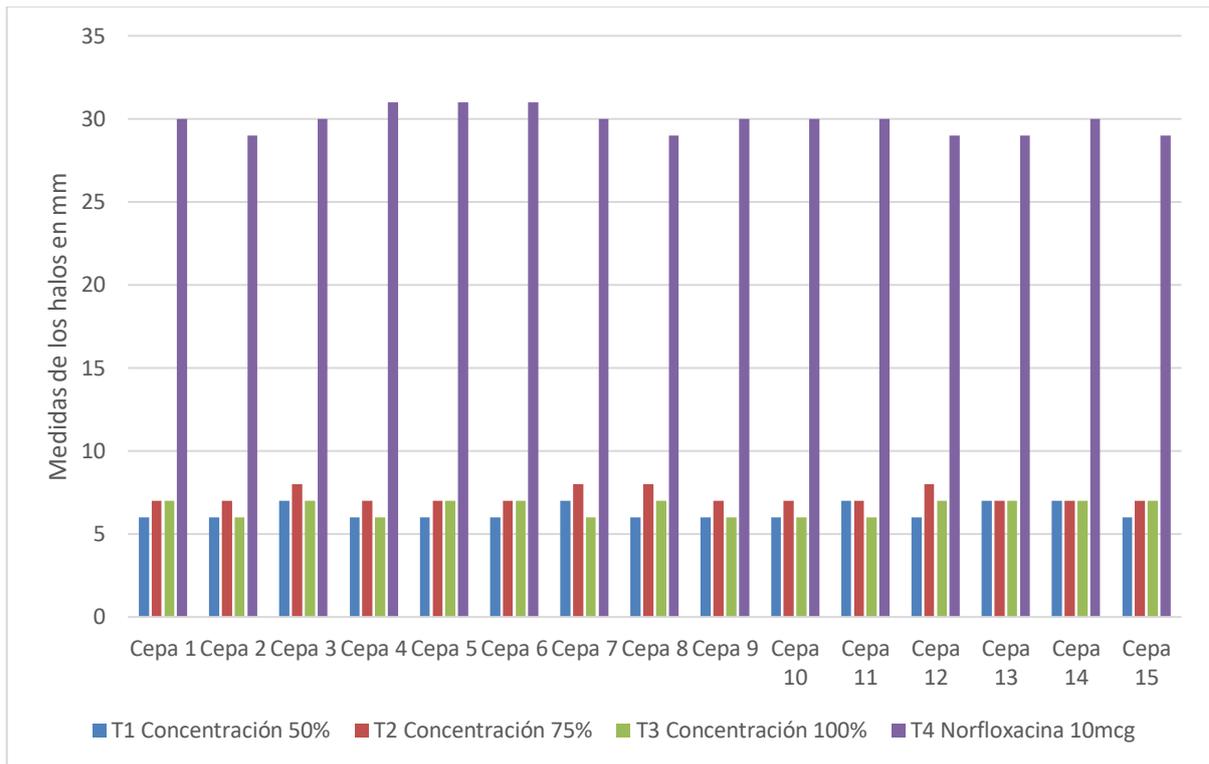


Fig. N°2. Resultados de la lectura de lo halos de inhibición en mm

La tabla N°6 y la figura N°2 muestran los resultados de la medición de los halos de inhibición en milímetros, obtenidas mediante el método de Kirby – Bauer, para los cuatro tratamientos: T1 (50%), T2 (75%), T3 (100%) y T4 (norfloxacin). Cada grupo cuenta con 15 unidades experimentales (cepas de *Salmonella sp.*). Estos datos se recabaron al término de 24 horas de incubación a 37°C y se calcularon los promedios para cada grupo.

## DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación sobre *Salmonella sp.* utilizando látex de “sangre de grado” no pueden ser comparados con otros estudios previos, debido a la falta de investigaciones similares que hayan empleado este tipo de compuesto natural. Sin embargo, muchos autores reconocen la influencia antibacteriana de la “sangre de grado” sobre patógenos Gram positivos como Cayo y Barrera (2014), quienes mostraron que las concentraciones del 100% y del 75% del *Croton lechleri* generan reacciones antagónicas en el *Streptococcus mutans*; mientras que la dosis del 40% no manifiesta tal respuesta. Asimismo, Espinoza y Serna (2018) realizaron un estudio para evaluar la cualidad antimicrobiana *in vitro* del látex de *Croton lechleri* al 25%, 50%, 75%, 100% valiéndose del procedimiento de difusión en agar de disco de sensibilidad-placa, concluyendo así, que el látex *Croton lechleri* expone una reacción antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus*.

Respecto a la norfloxacin, se halló un diámetro de inhibición promedio de 29,87mm, siendo sensible, según la escala de susceptibilidad de este antibiótico en las tablas del CSLI. Estos resultados coinciden con (Alegría, 2008); quién encontró halos de inhibición promedio de 28,53mm de la norfloxacin frente a *Salmonella sp.*, siendo superior a los tratamientos con otros antibióticos (cloranfenicol, oxitetraciclina y dihidroestreptomicina). Dejando así evidencia que este antibiótico puede seguir siendo un aliado perfecto para combatir esta enfermedad en cuyes.

Por otro lado, cabe recalcar que el Perú es un país que cuenta con abundantes recursos en plantas medicinales, cuya investigación se vuelve cada día más importante y necesaria. Son pocos los estudios científicos sobre la “sangre de grado” que han demostrado sus propiedades terapéuticas o antibacterianas y que estas, a su vez, hayan abierto otras alternativas en el campo de la salud e inclusive en la medicina veterinaria.

Así mismo, de las 700 especies de crotón, solo se han estudiado 80, de las cuales 11 se han evaluado por su actividad antibacteriana. Por ello, es necesario estudiar cada planta medicinal y verificar posibles principios activos en ellas, en busca de nuevas propiedades farmacológicas. El mayor estudio del gen croton ha estado enfocado en su actividad curativa debido a su contenido en taspina, 3'-4-O-dimetilcedrusina y polifenoles (catequinas y proantocianidinas) y sus efectos antiinflamatorios y cicatrizantes. También hay investigaciones adicionales donde se ha revelado su capacidad antiviral respecto a una variedad de virus de ADN y ARN, entre otras propiedades demostradas tanto en laboratorio como en organismos vivos (Forero *et al.*, 2000).

Es obligatorio recalcar la trascendencia de inclinarse por alguna técnica idónea a la hora de realizar estudios sobre cualidades antimicrobianas en extractos de plantas, ya que, en función al método elegido, se producirán los resultados y, según las propiedades de los extractos, variará su susceptibilidad y reproducibilidad (Ates y Erdoúrul, 2003). Tal y como demostró Corrales (2013), quien constató una disimilitud notable en las dimensiones de los halos de inhibición de ambos procedimientos de difusión utilizados (disco y pozo). El método de difusión en pozo mostró halos de más altas dimensiones en todas las diluciones y aislamientos evaluados.

También debemos tener en cuenta que los procedimientos de difusión en disco tienen falencias cuando se necesita evaluar extractos de plantas que contienen compuestos catiónicos y polares. Asimismo, sus beneficios son contundentes cuando se recurre a este procedimiento a modo de un test de screening con procedimientos de dilución (Ramírez, 2009).

Por otro lado, el papel de filtro Wharham contiene celulosa y un volumen generoso de grupos hidroxilo libres; estos grupos dotan de hidrofilia al disco y afectan directamente a algunos compuestos catiónicos en productos naturales, debido a que dichos compuestos catiónicos son absorbidos por la superficie del disco e impiden que se difundan en el medio, distorsionando así

los resultados de la evaluación del verdadero potencial antimicrobiano de los productos (Ramírez, 2009). De acuerdo con estas afirmaciones, en el estudio realizado por Corrales (2013), se evidenció diferencias entre las técnicas de difusión utilizadas en los resultados obtenidos para *Stenotrophomonas maltophilia*, siendo que el halo para difusión en pozo fue 21.5 mm y para el ensayo de difusión en disco fue 15.0 mm con el compuesto etanólico.

En oposición a todos los hallazgos anteriormente expuestos, está el estudio de Selowa *et al.* (2009), quienes obtuvieron resultados favorables con la técnica de difusión en disco al evaluar los concentrados de tres especies de *Croton sp.* contra bacterias Gram Positivas. De manera semejante, Rojas *et al.* (2006) en su estudio con concentrados de plantas medicinales típicas colombianas, reportaron resultados relevantes tanto en microorganismos Gram Positivos como Gram Negativos.

A causa de la diversidad de posturas sobre las pruebas antibacterianas, algunos investigadores, como Panda *et al.* (2010), optaron por utilizar los procedimientos de difusión en pozo para aumentar la sensibilidad y precisión de sus resultados, y observaron una mayor respuesta antibacteriana antagónica para el *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* enteropatógeno y enterotoxigénico. Tanto los extractos acuosos como los alcohólicos presentaron halos de inhibición de 10 a 18 mm de diámetro, confirmando mayor sensibilidad a los procedimientos de difusión en pozo. Esta reactividad se debe a la libre difusión del extracto en el agar, lo que permite una mejor interacción con los microorganismos y una medición más precisa de su actividad.

Los diferentes estudios *in vitro* e *in vivo* realizados con la sangre de grado, respaldan ampliamente la mayoría de sus usos etnomédicos, incluyendo el tratamiento de diarrea, heridas, tumores, úlceras estomacales, infección por herpes, picazón, dolor e inflamación por picaduras de insectos y otras afecciones. Los estudios clínicos con la sangre de grado, han reportado resultados positivos

en el tratamiento de diversas infecciones como la diarrea del viajero y la diarrea acuosa, así como en los síntomas de las picaduras de insectos. Dado que la savia ha demostrado baja toxicidad y las preparaciones utilizadas en estudios clínicos fueron bien toleradas, se prevén más estudios clínicos y farmacológicos (Diedrich *et al.*, 2021).

Todas estas cualidades antioxidantes, antibacterianas, anticoagulantes, antimicrobianas, citotóxicas, antiinflamatorias y anticancerígenas atribuidas al Crotón, además de aplicaciones como insecticida y como fuente alternativa de biodiésel; demuestra que las especies de este género poseen potencial para diversas aplicaciones medicinales y sirven como fuente de compuestos químicos que podrían convertirse en principios activos de fitoterapia con resultados significativos. Es evidente que los compuestos que contiene este látex ofrecen una alternativa de origen natural que puede evaluarse frente a organismos, para demostrar el potencial farmacológico encontrado en la literatura (Coy-Barrera *et al.*, 2025).

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

El látex de la “sangre de grado” (*Croton lechleri*) no tiene efecto antibacteriano sobre *Salmonella sp.* aislada del tracto intestinal del cuy (*Cavia porcellus*).

No existe diferencia en el efecto de sensibilidad antibacteriana de las concentraciones del látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” T1 (50%), T2 (75%) y T3 (100%), frente a *Salmonella sp.*

Las concentraciones de “sangre de grado” T1 (50%), T2 (75%) y T3 (100%), tienen efecto nulo (6,33; 7,27 y 6,60mm respectivamente) sobre *Salmonella sp.*

La norfloxacin,(T4) tiene efecto sensible (29,87mm) sobre *Salmonella sp.*

## **RECOMENDACIONES:**

\_La muestra de “sangre de grado” debe recolectarse en frascos de color ámbar para evitar posibles alteraciones por la luz, dado que su recolección se sugiere sea a muy tempranas horas de la mañana (5:00 a 7:00am).

\_Los cuyes enfermos deben estar vivos y/o agonizando ya que nos asegura obtener una muestra fresca con posibilidades de hallar salmonella.

## Lista de Referencias

- Alegría, C. 2008. “Efecto de la norfloxacin en el tratamiento de *Salmonella sp.* en cuyes”. *Repositorio Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo Maria*, 36-37.
- Astaiza, J.M., Benavides, J., Chaves, C., Arciniegas, A., Quiroz, L. 2013. Estandarización de la técnica de necropsia en cuyes (*Cavia porcellus*) en la Universidad de Nariño. *Revista de Investigación Pecuaria*. 2, 2.
- Ates, D.; Erdoúrul, Z. 2003 Antimicrobial Activities of Various Medicinal and Commercial Antimicrobial Activities of Various Medicinal and Commercial Plant Extracts Plant Extracts, *Turkish Journal of Biology*. <https://journals.tubitak.gov.tr/biology>.
- Barriga, O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Santiago: Ed. Germinal. p. 235-236.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). *Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method*.
- Bazán, V.; Bezada, S.; Carcelén, F.; Yamada, G. 2019. Effect of subclinical infection of *Salmonella Typhimurium* on the productive parameters in the production of fattening guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(4), 1697-1706. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17274>
- Brack, A. 1999. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Cusco. CBC. p. 222.
- Bezerra, J.J.L. (2024) “Anticancer potential of essential oils from *Croton L.* species (Euphorbiaceae): A comprehensive review of ethnomedicinal, pharmacological, phytochemical, and toxicological evidence,” *South African Journal of Botany*. 3(175), 180–192. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.10.020>.
- Bustamante J. 1993. Producción de cuyes. Facultad de Medicina Veterinaria-UNMSM. Lima: Ed. Lima. p. 5-18.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30(100), 39.

Carrión, J., Avilés, R., León, K., & Santiago, J. 2010. Evaluación de la actividad antioxidante, contenido de polifenoles totales y actividad antimicrobiana de fracciones de sangre de grado, *Croton lechleri*. *Instituto Peruano de Energia Nuclear*. 9, 25-28. <http://dspace.ipen.gob.pe/handle/ipen/658>.

Cayo C.; Barrera R. 2014. “Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del *Croton lechleri* sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)” *Ciencia y Desarrollo*. 17(1). <https://doi.org/10.21503/cyd.v17i1.1097>.

Corrales L.; Garmendia, M.; Selgrad, S.; Alezones, F. 2013 “Evaluación del potencial antibacterial *in vitro* de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas”. *Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. 11 (19), 60-61.

Coy-Barrera, C. A., Galvis, L., Rueda, M. J., & Torres-Cortés, S. A. (2025) “The *Croton* genera (Euphorbiaceae) and its richness in chemical constituents with potential range of applications,” *Phytomedicine Plus*. 5(1). <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2025.100746>.

De Albuquerque, R. D. D. G., León-Vargas, F. R., Carrasco-Montañez, D. D., Carranza-Gonzales, J. L., & Ramos-Rivas, Y. V. S. (2025) “A Review on Phytochemistry and Recent Pharmacology of Dragon’s Blood (*Croton lechleri*), a Multifunctional Ethnomedicinal Resource from the Amazon Forest,” *Planta Medica*. Georg Thieme Verlag. <https://doi.org/10.1055/a-2551-5681>.

Deepika, G.; Rajinder, K. 2011. Bioprotective properties of Dragon's blood resin: *in vitro* evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity. *Complementary Alternative Medicine*. 17;11:13. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-13>.

Díaz. R. 2012. Efecto antibacteriano del ácido gálico y de la catequina sobre *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*. 2012. *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. España. Ed. MundiPrensa. p. 24-27.

Diedrich, C., da Silva, L. D., Sari, R., de Cristo Borges, G. C., Muniz, H. S., de Lima, V. A., Oldoni, T. L. C., & Carpes, S. T. (2021). “Bioactive compounds extraction of *Croton lechleri* barks from Amazon forest using chemometrics tools,” *Journal of King Saud University - Science*, 33(4). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101416>.

Dos Santos, A.; Ferrari, R.; Conte-Junior, C. 2019. Virulence Factors in *Salmonella Typhimurium*: The Sagacity of a Bacterium. *Current Microbiology*. 76(6):762-773. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1510-4>.

Duraffourd, C.; Lapraz, J. 1983. Cuaderno de fitoterapia clínica. Editorial Masson. España. ISBN: 84-458-0575-4.

Espinoza, C.; Serna, Z. 2018. Efecto antibacteriano *in vitro* del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. (sangre de grado) frente a *Staphylococcus aureus*. *Conocimiento para el Desarrollo*. 9(1), 129-136.

Farmer, J. 2003. Enterobacteriaceae: introduction and identification. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D.C. 1(8).

Figueroa O. y Verdugo R. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella sp.* *Revista Latinoamericana de Microbiología*; 47 (1-2): 25-42.

Forero, L.; Chávez, J.; Yesid, H. 2020. *Croton lechleri*. Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 5(3), 125-126.

García, C. 2011. “Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple”. *Difusión de Alertas en la Red*. 12(37), 43.

Garmendia, M.; Selgard, S.; Alezones, F. 2000. Salmonelosis en animales de laboratorio. *Revista Técnica Agrícola Fonaiap Divulga*. 68: 32-33.

Garzoli, S., Alarcón-Zapata, P., Seitimova, G., Alarcón-Zapata, B., Martorell, M., Sharopov, F., Fokou, P. V. T., Dize, D., Yamthe, L. R. T., Les, F., Cásedas, G., López, V., Iriti, M., Rad, J. S., Güerer, E. S., Calina, D., Pezzani, R., & Vitalini, S. (2022) “Natural essential oils as a new therapeutic tool in colorectal cancer,” *Cancer Cell International*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02806-5>.

Gil, V. 2007. Importancia del cuy y su competitividad en el mercado. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 15(1): 216 – 217.

Guerra, B. 2000. Antimicrobial resistance and spread of class 1 Integrons among *Salmonella* Serotipes. *Journals Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 44(8): 216-219.

Grijalva-Delgado, M. D. L., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Campas-Baypoli, O. N., Hernández-Ruiz, K. L., Quintero-Guerrero, A. A., & Martínez-Macias, M. D. R. (2025) “*Croton draco* Schltdl. & Cham is a Latin American plant from the family Euphorbiaceae with therapeutic potential and ecological interactions: A review,” *Biochemical Systematics and Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2025.105027>.

Hurtado, F. 2001. Obtención de un hidrolizado proteico utilizando excedentes de la industria pesquera y agrícola. *Escuela superior politécnica del Litoral*. Ecuador. 108-110. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/4429>.

[INEI] Instituto nacional de estadística e informática. Encuesta Nacional agropecuaria. 2009. Principales resultados, pequeñas, medianas y grandes unidades agropecuarias. [http://www.inei.gov.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1436/libro.pdf](http://www.inei.gov.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1436/libro.pdf)

[INIA] Instituto Nacional de Investigación Agraria, 2003. Proyectos de la DNI crianzas. [http://www.portalagrario.gob.pe/Política/inia2\\_kAnrexoII.pdf](http://www.portalagrario.gob.pe/Política/inia2_kAnrexoII.pdf).

Jones K. 2003. Review of dragon's blood (*Croton lechleri*)-a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: traditional uses to clinical research. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 9(6):877-96. <https://doi.org/10.1089/107555303771952235>.

Layme, A.; Perales, R.; Chavera, A.; Gavidia, C.; Calle, S. 2011. Anatomopathological lesions in guinea pigs (*Cavia porcellus*) with bacteriological diagnosis of *Salmonella spp*. *Revista de investigación veterinaria del Perú*. 22(4).

León, K.; Santiago, J. 2007. Preparación y caracterización de películas de alcohol polivinílico embebidas con extracto de sangre de grado. Dirección de Investigación y Desarrollo, Instituto Peruano de Energía Nuclear. 6: 229-234.

Luilma, G.; Sidrim, J.; Domingos, M., Cechinel, F.; Vietla, R. 2005. *In vitro* antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.033>.

Macfaddin, J. 2000. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Buenos Aires. Ed. Panamericana. p.301.

Mahboubi Kancha, M., Mehrabi, M., Aghaie, F., Bitaraf, F. S., Dehghani, F., & Bernkop-Schnürch, A. (2024). Preparation and characterization of PVA/chitosan nanofibers loaded with Dragon's blood or poly helixan as wound dressings, *International Journal of Biological Macromolecules*, 272. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132844>.

- Majak, A.; Vasiljevic T.; Yeager, T.; Donkor, O. 2018. *Salmonella* infection - prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: A Review *Microbiology*. 164(11):1327-1344. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000709>.
- Mattos, J.; Palacios, G.; Glorio, P.; Morales, S. 2007. Efecto de la muña (*Satureja parvifolia*) como aditivo no nutricional en la estimulación de *Lactobacillus sp.*, y control de *Salmonella Typhimurium* en cuyes de carne. *Revista de la Universidad Científica del Sur*. 10(2):123–134.
- Merck, E. 1994. Manual de medios de cultivo. Darmstadt- Alemania. p. 1-364.
- Milla, A. V. M., Del, M., Planas, C., Cordova, J., Rosas De Agusti, Elva, Ferreyra, R., del Carmen Mustiga, M., Carlin, L., & Hammond, G. B. (1989) *Taspine is the Cicatriz ant Principle in Sangre de Grado Extracted from Croton lechleri\**, *Planta Medica*.
- Morales, S.; Mattos, J.; Calle, S. 2007. Efecto de la muña (*Satureja parvifolia*) en la dinámica de la infección por *Salmonella entérica* en cobayos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 26(4). <http://doi.org/10.15381/rivep.v26i4.11203>.
- Morales, S. 2013. Identificación, serotipificación y resistencia de cepas de *Salmonella enterica* aisladas de cuyes (*Cavia porcellus*) clínicamente enfermos. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 19(1). <http://doi.org/10.15381/rivep.v34i1.24595>.
- Mostacero J, Mejía F, Arauja E. 1995. Fitogeografía del Norte del Perú. Lima. Ed. Forma e Imagen. 6(2): 155-157.
- Murray, P.; Shea, Y. 2004. Pocket guide to clinical microbiology. Washington, D. C. 3rd edition. p. 406.
- Onyekaba, C. 1983. Clinical salmonellosis in a guinea pig colony caused by a new *Salmonella* serotype, *Salmonella ochiogu*. *Journal Laboratory Animal*. 17(3): 213-216. <https://doi.org/10.1258/002367783781070768>.
- Panda, S., Dutta, K., Bastia, K. 2010. Antibacterial activity of *Croton roxburghii* Balak. against the enteric pathogens. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 22-419. <https://doi.org/10.4103/0110-5558.76442>.
- Parra, M.; Durango, J.; Mattar, S. 2002. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *Revista MVZ Córdoba*, 7(2). <https://doi.org/10.21897/rmvz.521>.
- Percy, D.; Barthold, S. 2001. Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits. Ed. Iowa State. p.315.

- Pieters, L., 1998. *La "sangre de drago" una droga tradicional de sudamerica. Constituyentes biologicamente activos*. Ecuador. Ed: Abya-Yala.
- Pineda, C.; Camiloaga, C.; Zuñiga, M. 2007. Actividad antimicrobiana del extracto de hojas de chincho (*Tagetes elliptica L.*) contra *Salmonella typhimurium* en cobayos (*Cavia porcellus L.*) *Investigación Valdizana*, 1(1), 10-13.
- Polesna, L., Polesny, Z., Clavo, M. Z., Hansson, A., & Kokoska, L. (2011) “Ethnopharmacological inventory of plants used in Coronel Portillo Province of Ucayali Department, Peru,” *Pharmaceutical Biology*, 49(2), 125–136. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.504927>.
- Puebla, P.; Guerreo, M.; Correa, S. 2004. Flavonoides del Género *Croton*. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas*. 33(1): 77-85.
- Radostits, O.; Gay, C.; Blood, D.; Hinchcliff, K. 2002. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino, y equino. Madrid. Ed: Mc Graw-Hill. p. 959.
- Ramírez L. 2009. Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*. 15(42). 263-268.
- Reynel, C.; Pennington, T.; Pennington, D.; Flores, C.; Daza, A. 2003. Árboles útiles de la Amazonia peruana. *Revista Peruana de Biología*. p.509.
- Risco, E. 2001. Interés Terapéutico del látex de *Croton lechleri*. *Journal Planta Medica*. 55: 140-143.
- Risco, E. 2005. Bases químicas y farmacológicas de la utilización de la sangre de drago. Lima. Ed: Elsa Meza. p. 25-44.
- Rodríguez, D. 2002. El procesamiento y manejo sostenible de plantas medicinales amazónicas. *Revista Interdisciplinaria ECIPerú*. 8(2): 151-155.
- Rojas, J., Ochoa, V., Ocampo, S., Muñoz, J. 2006. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *Journal Complementary and Alternative Medicine*. 17(6):2. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-2>.
- Salazar-Gómez, A. and Alonso-Castro, A.J. (2022) “Medicinal Plants from Latin America with Wound Healing Activity: Ethnomedicine, Phytochemistry, Preclinical and Clinical Studies—A Review,” *Pharmaceuticals*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/ph15091095>.

- Sandoval, M.; Ayala, M.; Valdivieso, L.; Loli, R.; Ricra, V. y Huamán, O. (2005). Evaluación de la toxicidad hepática y renal aguda y subaguda del látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado) en animales de experimentación. *Anales de la Facultad de Medicina*. 66(2): 119-126.
- [SENAMHI] Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú, 2024. Guía de orientación de la información meteorológica y climática en la toma de decisiones en el sector agropecuario. <https://www.senamhi.gob.pe/load/file/01405SENA-6.pdf>
- Stanchi, O. 2007. Microbiología veterinaria. Buenos Aires. Ed: Intermedica. p. 210-214.
- Selowa S., Masoko, P., Mokgotho, M., Magano, R. 2009. Antibacterial activity of extracts of three *Croton* species collected in Mpumalanga region in South Africa. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. 30;7(2):98-103. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v7i2.50861>.
- Tamariz, J.; Capcha, R.; Palomino, E.; Aguilar, J. 2003. Actividad antibacteriana de la sangre de grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. *Revista Médica Herediana*. 14(2): 81-88.
- Tzintzarov, A., Boyadzhieva, S. S., Coelho, J. A. P., Tsvetanova, F., Petrova, M., Stoev, G., Yankov, D. S., Ugrinova, I., & Stateva, R. P. (2024) “Novel Insights into the Biological Activity of *Croton lechleri* Twigs Extracts and Advancements in Their Sustainable Recovery,” *Molecules*, 29(17). <https://doi.org/10.3390/molecules29174161>.
- Vadillo, S.; Piriz, S.; Mateos, E. 2002. Manual de microbiología veterinaria. Madrid. Ed. McGraw Hill.; p. 327.
- Velge, P.; Wiedemann, A.; Rosselin, M.; Abed, N.; Boumart, Z. 2012. Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. *Microbiology Open*; 1:243–258
- Wang, Y., Wang, F., Liu, W., Geng, Y., Shi, Y., Tian, Y., Zhang, B., Luo, Y., & Sun, X. (2024) “New drug discovery and development from natural products: Advances and strategies,” *Pharmacology & Therapeutics*, 264, p. 108752. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2024.108752>.
- Won-Kyung, H.; Heo, S-Y.; Park, H-M.; Kim, Ch.; Sohn, J-H.; Kondo, A.; Seo, J. 2013. Characterization of a squalene synthase from the Thraustochytrid microalga *Aurantiochytrium spp.* KRS10. *J. Journal of Microbiology and Biotechnology*. 23(6): 759-765. <https://doi.org/10.4014/jmb.1212.12023>.

Ying, L.; Hui, W.; You-Xing, Z.; Yan-Bo, Z.; Hai-Yan, S.; Hao-Fu, D.; Wen-Li, M. 2011. Cytotoxic and antibacterial flavonoids from dragon's blood of *Dracaena cambodiana*. *Revista Planta Médica*. 77(18):2053-6. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1280086>.

Yingdong, Z.; Ping, Z.; Haiping, Y.; Jia, L.; Ming-Wei, W.; Weimin, Z. 2007. Anti-*Helicobacter pylori* and thrombin inhibitory components from Chinese dragon's blood, *Dracaena cochinchinensis*. *Journal of Natural Products Ahead of Print*. 70(10):1570-7. <https://doi.org/10.1021/np070260v>.

## APÉNDICE



Fig. N°3. Incisión longitudinal en el cuy muerto

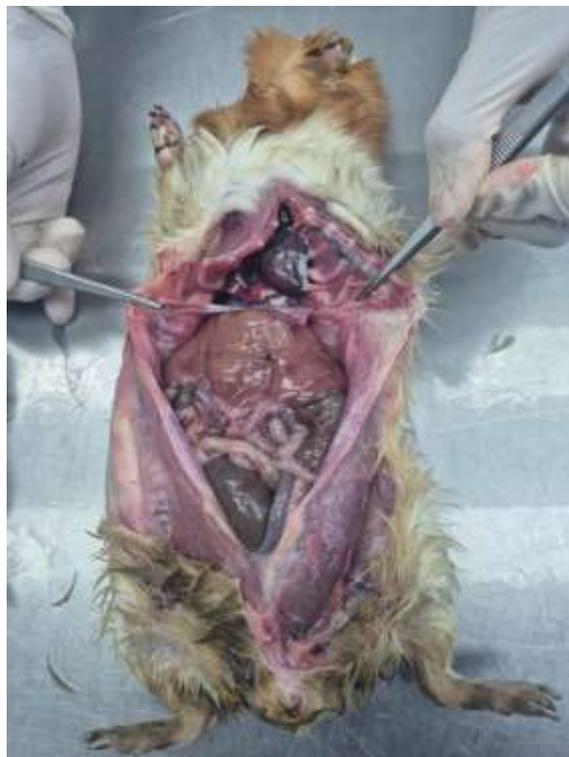


Fig. N°4. Cuy diseccionado para inspección de sus órganos



Fig. N°5. Localización del intestino para toma de muestra



Fig. N°6. Colocación de muestra dentro del caldo selenito



Fig. N°7. Materiales utilizados para el experimento



Fig. N°8. Crecimiento de colonia sospechosa de *Salmonella* sp.



Fig. N°9. Colocación de los discos previo a la incubación

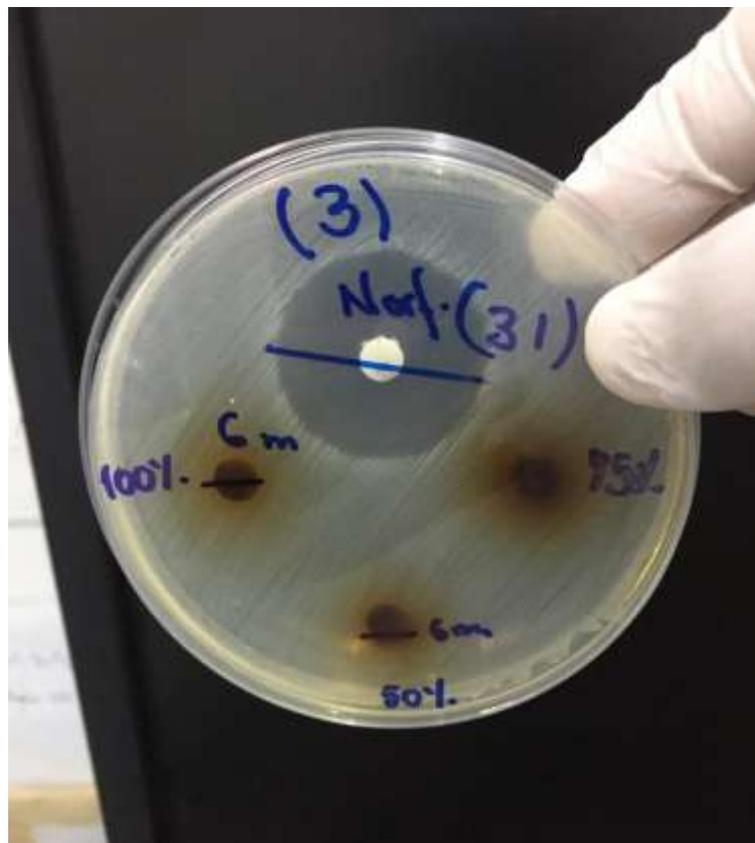


Fig. N°10. Medición de los halos de inhibición

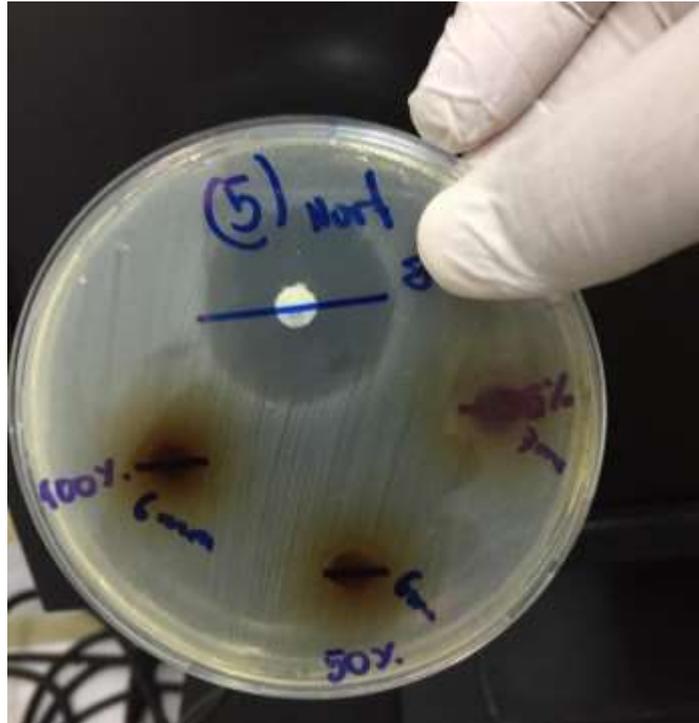


Fig. N°11. Medición de los halos de inhibición

**Determinación de datos con o sin distribución normal:**

Ho: Los datos siguen una distribución normal

H1: Los datos siguen una distribución diferente a la normal

Se acepta Ho si p-valor es mayor que 0.05, si es menor se acepta la H1.

Tabla N°7. Prueba de normalidad

Pruebas de normalidad							
	Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Variable dependiente (Y)	Norfloxacina	,238	15	,022	,817	15	,006
	50% Concentración	,419	15	,000	,603	15	,000
	75% Concentración	,453	15	,000	,561	15	,000
	100% Concentración	,385	15	,000	,630	15	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

### Evaluación de datos con estadística no paramétrica:

Ho: Las concentraciones tienen el mismo efecto en la variable respuesta (halo de inhibición).

H1: Las concentraciones tienen diferentes efectos en la variable respuesta (halo de inhibición).

Si p-valor es mayor que 0.05, se acepta Ho

Tabla N°8. Prueba H de Kruskal Wallis

Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	
N total	60
Estadístico de prueba	45,361 <sup>a</sup>
Grado de libertad	3
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,000
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.	

Al ser p valor muy inferior a 0.05, se concluye que existe diferencia en el efecto de sensibilidad antibacteriana de las concentraciones estudiadas.

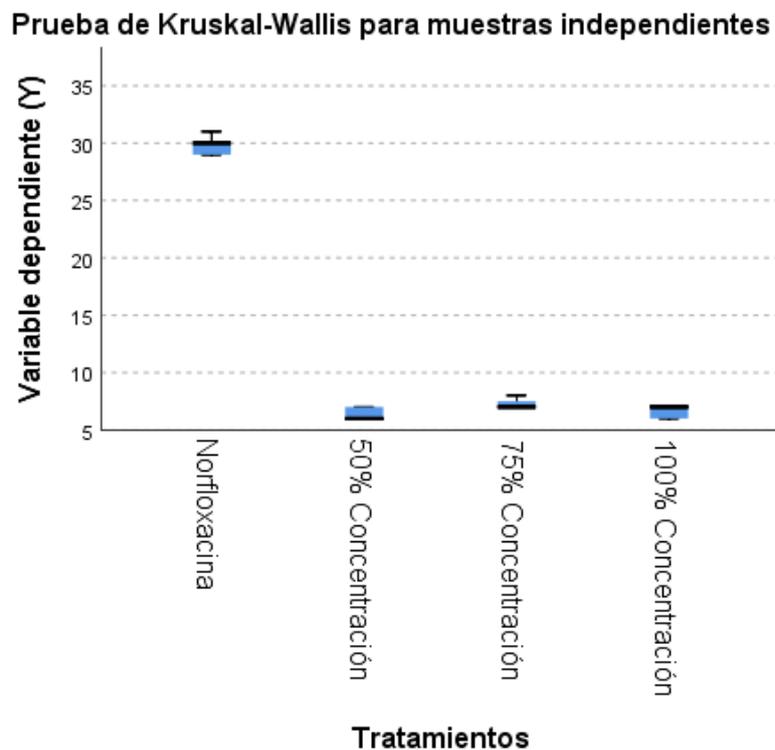


Fig. N°12. Diferencia de sensibilidad antibacteriana entre tratamientos

En la Fig N°12 se aprecia el efecto nulo de las diferentes concentraciones de “sangre de grado” (< 8 mm) en comparación con la norfloxacin, antibiótico al cual la salmonella es sensible (>20 mm).

Tabla N°9. Comparaciones por parejas de tratamientos

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada <sup>a</sup>
50% Concentración-100% Concentración	-5,467	6,071	-,900	,368	1,000
50% Concentración-75% Concentración	-17,533	6,071	-2,888	,004	,023
50% Concentración-Norfloxacin	37,667	6,071	6,204	,000	,000
100% Concentración-75% Concentración	12,067	6,071	1,988	,047	,281
100% Concentración-Norfloxacin	32,200	6,071	5,304	,000	,000
75% Concentración-Norfloxacin	20,133	6,071	3,316	,001	,005
Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales. Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.					
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.					

En la tabla N°9, si vemos el sig (p-valor) solo la concentración 50% con 100% de “sangre de grado” no difieren en sensibilidad (p=0.368), las otras comparaciones si difieren, especialmente cuando son comparadas con la norfloxacin, el p valor es altamente significativo (p=0.000).