

**UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE
MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA,
AGRONEGOCIOS Y BIOTECNOLOGÍA**

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA ZOOTECNISTA**

**EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL LÁTEX DE
LA PAPAYA SILVESTRE (*Carica pubescens*) EN
Escherichia coli y *Salmonella typhimurium***

Autor(a):

Bach. DARLENY TENORIO CRUZ

Asesor (a):

M.Sc. REINER PEDRO GABRIEL REÁTEGUI INGA

Registro (...)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2020

DEDICATORIA

En primer lugar, es a Dios porque sin el nada sería posible, por darme las fuerzas y colmarme de bendiciones. A mis padres Jorge Wilfredo Tenorio Meza, Bilma Cruz Ordoñez porque gracias a ellos y todo el apoyo que me brindaron de manera desinteresada me condujeron hacia el éxito y cumplir con todas mis metas.

A mi hermano Oscar Alberto Tenorio Cruz, quien me dio las fuerzas que necesitaba en los momentos más complicados. A mis amigos y demás personas que me apoyaron en todo momento.

Darleny Tenorio Cruz

AGRADECIMIENTO

Como no agradecer por a ver culminado una etapa más de mi formación profesional, ante todo doy gracias a Dios por concederme el mejor regalo de la vida; ya que estoy segura que si no sería por él, nada de lo que se da en mi vida sería posible y permitirme cumplir mis metas planteadas.

A mis padres, Jorge Wilfredo Tenorio Meza y Bilma Cruz Ordoñez por infundirme valores y brindarme consejos que me secundaron en mi profesión, porque sin ellos hoy en día no hubiera logrado todo lo que me propuse.

A mis hermanos (as), Oscar A, Mayra, Consuelo, Judith, Jorge A. Lesly y Julissa por su apoyo incondicional durante mi vida estudiantil.

También expreso mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, especialmente a la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología por recibirme para realizar mis estudios y a nuestros docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Zootecnista que me apoyaron a conseguir afinar mis conocimientos.

Agradecimiento particular al Instituto de Investigación en Ganadería y Biotecnología (IGBI) que por medio del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos (PROSAN) me brindaron su apoyo facilitándome los materiales y insumos imprescindibles para el progreso de la ejecución de mi proyecto de tesis. A mi asesor el M.Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga; un agradecimiento especial por su contribución para la elaboración y ejecución de este Proyecto de Investigación.

Y aquellas personas que de una otra manera me brindó su apoyo en el avance de este trabajo de investigación.

Darleny Tenorio Cruz

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Ley de la creación N° 27347

**Dr. Policarpo Chauca Valqui
RECTOR**

**Dr. Miguel Ángel Barrena Gurbillón
VICERECTOR ACADEMICO**


**Dra. Flor Teresa García Huamán
VICERECTOR DE INVESTIGACIÓN**

**M.Sc. Nilton Luis Murga Valderrama
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA,
AGRONEGOCIOS Y BIOTECNOLOGÍA**

VISTO BUENO DEL ASESOR

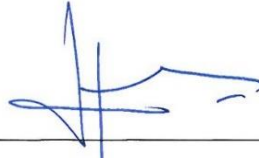
Yo: M.Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga, docente a tiempo completo de la carrera profesional de Ingeniería Zootecnista, hace constar que he asesorado el proyecto de tesis titulado **“EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL LÁTEX DE LA PAPAYA SILVESTRE (*Carica Pubescens*) EN *Escherichia Coli* y *Salmonella Typhimurium*”**, presentado por la bachiller Darleny Tenorio Cruz; egresada de la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología de la UNTRM dando el visto bueno a la presente tesis.

Se expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.



M. Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga
Asesor

JURADO




PRESIDENTE

M.Sc. Hugo Frias Torres



SECRETARIO

Dr. Elías Alberto Torres Armas



M.Sc. Nilton Luis Murga Valderrama

VOCAL

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD



REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-O

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

Efecto antibacteriano in vitro del látex de papaya silvestre
(Carica pubescens) en Escherichia coli y Salmonella typhimurium

presentada por el estudiante ()/egresado (X) Bach. Darleny Tenorio Cruz

de la Escuela Profesional de Ingeniería Zootécnica

con correo electrónico institucional 0810084122@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- La citada Tesis tiene 19 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 22 de Enero del 2020


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

.....
.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN



REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-Q

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 09 de febrero del año 2021, siendo las 05:00 horas, el aspirante: Bach. Darleny Tenorio Cruz, defiende en sesión pública presencial () / a distancia (X) la Tesis titulada: Efecto antibacteriano in vitro del látex de papaya silvestre (Carica pubescens) en Escherichia coli y Salmonella typhimurium, teniendo como asesor a M.Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga, para obtener el Título Profesional de Ingeniero Zootecnista, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: M.Sc. Hugo Frías Torres

Secretario: Dr. Frías Alberto Torres Armas

Vocal: M.Sc. Milton Luis Murga Valderama

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado (X)

Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 05:30 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

OBSERVACIONES:
.....

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	iv
VISTO BUENO DEL ASESOR.....	v
JURADO.....	vi
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD	vii
ACTA DE SUSTENTACIÓN	viii
ÍNDICE GENERAL	ix
ÍNDICE DE TABLA	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUCCIÓN	16
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2.1. Localización	19
2.2. Cepas bacterianas	19
2.3. Recolección de muestras de heces de cuyes.....	19
2.4. Preparación de medios de cultivo.....	20
2.5. Siembra de las bacterias en medios de cultivo	21
2.6. Identificación de bacterias con tinción Gram.....	25
2.7. Obtención de los discos de sensibilidad	26
2.8. Procedencia y obtención del látex de papaya silvestre.....	26

2.9. Preparación de los tratamientos.....	27
2.10. Evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre.....	27
2.11. Diseño experimental.....	30
2.12. Análisis de datos.....	31
III. RESULTADOS.....	32
3.1. Identificación de bacterias <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Typhimurium</i>	32
3.2. Efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre frente a <i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i>	33
3.3. Efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre frente a <i>Escherichia</i> <i>Coli</i>	33
IV.DISCUSIÓN.....	34
V. CONCLUSIONES	36
VI. RECOMENDACIONES.....	37
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	38
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLA

	Pág.
Tabla 01. Tamaño del halo (mm) por efecto del látex de papaya sobre <i>Salmonella typhimurium</i>	33
Tabla 02. Tamaño del halo (mm) por efecto del látex de papaya sobre <i>Escherichia coli</i>	33
Tabla 03. Descripción de los agares utilizados	41
Tabla 04. Descripción de los medios diferenciales utilizados.....	42
Tabla 05. Estadística descriptiva para <i>Salmonella typhimurium</i>	43
Tabla 06. Estadística descriptiva para <i>Escherichia coli</i>	43

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema de la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre.....	31
Figura 2. <i>Salmonella typhimurium</i> observada al microscopio.....	32
Figura 3. <i>Escherichia coli</i> observada al microscopio.....	32
Figura 4. Condición de los cuyes de los que se recolecto muestras.....	44
Figura 5. Presentación de agares y medios diferenciales (izquierda) y los reactivos utilizados para la tinción Gram (derecha).....	45
Figura 6. Pesado de la cantidad necesaria de cada agar a preparar.....	45
Figura 7. Distribución de caldo peptona y selenito en frascos 50ml en c/u.....	46
Figura 8. Distribución de medios diferenciales en tubos de ensayo con tapa (derecha) y los agares en placas Petri (izquierda).....	46
Figura 9. Enriquecimiento de muestras en caldo peptona (izquierda) y caldo selenito (derecha).....	47
Figura 10. Siembra de muestras en agar MacConkey y agar SS para identificar el crecimiento de bacterias.....	47
Figura 11. Resultado del crecimiento de <i>Salmonella ssp</i> en agar SS (izquierda) y de crecimiento de bacterias en agar MacConkey (derecha).....	48
Figura 12. Siembra de bacterias extraídas de la placa de agar MacConkey traspasadas en agar EMB para identificar <i>Escherichia coli</i>	48
Figura 13. Resultado de identificación de la bacteria <i>Escherichia coli</i> en agar EMB.....	49
Figura 14. Medios diferenciales listos para ir a la cabina de seguridad para realizar sembrado e identificar bacterias <i>Salmonella typhimurium</i> y <i>Escherichia coli</i>	49
Figura 15. Resultados de identificación de la diferenciación de bacteria de <i>Escherichia coli</i> (derecha) y de <i>Salmonella typhimurium</i> (izquierda)	

en medio diferenciales.....	50
Figura 16. Reacciones bioquímicas en LIA y Citrato de SIMMONS.....	50
Figura 17. Reacciones bioquímicas en SIM.....	51
Figura 18. Reacciones bioquímicas en TSI.....	51
Figura 19. Reacciones bioquímicas en TSI, LIA, SIM, CITRATO DE SIMMONS.....	52
Figura 20. Obtención del látex de papaya silvestre.....	53
Figura 21. Preparación de tratamientos (látex de papaya silvestre diluido con agua destilada)	54
Figura 22. Siembra de bacterias en placas con agar Müller- Hinton para evaluar el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre.....	54
Figura 23. Inserción de los discos en las placas de agar Müller- Hinton	55
Figura 24. Empapado de los discos de sensibilidad en el contenido del tratamiento correspondiente y colocación del mismo en las respectivas placas Petri con agar Müller - Hinton sembradas con las bacterias a evaluar.....	55
Figura 25. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre (concentración de 20 %: frente a <i>Escherichia coli</i> (izquierda) y <i>Salmonella typhimurium</i> (derecha).....	56
Figura 26. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre (concentración de 40 %: frente a <i>Escherichia coli</i> (izquierda) y <i>Salmonella typhimurium</i> (derecha).....	56
Figura 27. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre (concentración de 60 %: frente a <i>Escherichia coli</i> (izquierda) y <i>Salmonella typhimurium</i> (derecha).....	57

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto antibacteriano in vitro del látex de la papaya silvestre (*Carica pubescens*) en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*, para esto se colectaron muestras de heces de cuyes con presencia de diarreas de la granja PROALCUY. Los ensayos fueron realizados en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, mediante un diseño completo al azar (DCA) con tres tratamientos y un grupo testigo, cada una con 4 repeticiones, se usaron concentraciones de 0, 20, 40 y 60 % del látex de papaya silvestre. Los datos obtenidos fueron procesados por análisis de varianza y comparación de medidas Tukey con un nivel de significancia del 0,05. El efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* presentó un tamaño de halo de 6 mm en todos los tratamientos mientras que en la *Salmonella typhimurium* 6, 6, 10,75 y 11, 25 mm para las concentraciones 0, 20, 40 y 60% del látex de papaya silvestre, respectivamente, evidenciando que el látex de papaya silvestre no tiene efecto antibacteriano frente a *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*.

Palabras claves: Látex, papaya silvestre, antibacteriano.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the in vitro antibacterial effect of latex from wild papaya (*Carica pubescens*) in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, for this we collected samples of guinea pig feces with the presence of diarrhea from the PROALCUY farm. The tests were carried out in the Laboratory of Infectious and Parasitic Diseases of Domestic Animals of the University Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, by means of a complete randomized design (DCA) with three treatments and a control group, each with 4 repetitions, were used concentrations of 0, 20, 40 and 60 % of wild papaya latex. The data obtained were processed by analysis of variance and comparison of Tukey measures with a significance level of 0,05. The antibacterial effect against *Escherichia coli* presented a halo size of 6 mm treatments, while in the *Salmonella typhimurium* 6, 6, 10,75 and 11,25 for concentrations 0, 20, 40 and 60 % of the wild papaya latex, respectively, showing that the latex of wild papaya has no antibacterial effect against *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*.

Keywords: Latex, wild papaya, antibacterial.

I. INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una enfermedad que se encuentra mucho en abundantes granjas de crianza de cuyes de nuestro país; las consecuencias clínicas ya son notorias (Chauca L. et al., 1997; Layme A. 2010; Chero A. 2015; Ortega et al., 2015), en cambio no se encuentra bien determinado su efecto de los parámetros productivos y la calidad microbiológica del canal que tiene dicha enfermedad en su forma subclínica en cuyes, es poder afirmar la existencia de animales portadores de salmonella en la granja, que se encuentran sin manifestar signos clínicos de la enfermedad.

La Salmonella está englobada dentro de la familia Enterobacteriácea y su hábitat principal en el hombre y los animales es su tracto intestinal. Sus componentes de este género destacan por su gran capacidad de adaptación, lo que permite infectar a un amplio rango de hospedadores. De acuerdo a la nomenclatura vigente, el género Salmonella está conformado por dos especies: *S. entérica* y *S. bongori*. *S. entérica* está dividida en seis subespecies (*entérica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*). Se han descrito 2579 serovariedades de Salmonella, perteneciendo la mayoría de ellas a *S. Entérica subspenterica*, serotipo responsable de infecciones en humanos y animales (Grimont y Weill, 2007; OIE, 2010).

Su principal vía de transmisión es oral, se produce por la ingestión de alimento o de agua contaminada; también se ha reportado como vía de entrada de esta bacteria, que se puede encontrar presente en las heces; sin embargo, se considera la vía intrauterina y la leche como un elemento diseminador del microorganismo y que ayuda a mantener la infección en pozas y galpones de crianza de cuyes (Zuñiga et al., 2001; Morales et al., 2007; Mattos et al., 2013).

Reportes realizados por (Obregón, 2014), indican que las bacterias identificadas como causa de muerte en gazapos durante la primera semana de lactancia son Salmonella spp. 46.7%, Escherichia sp. 36.37%, Citrobacter sp. 10% y Klebsiella sp. 6.6%. Entre los más importantes agentes bacterianos reportados que pueden afectar a los cuyes se encuentran Salmonella entérica, Bordetella bronchiseptica, Diplococcus pneumoniae, Yersinia pseudotuberculosis, Streptococcus pyogenes, Pasteurella spp, Escherichia coli, Clostridium sp., Streptococcus zooepidemicus etc. (Morales, 2013).

La colibacilosis es una enfermedad que ataca al tracto digestivo a nivel del intestino delgado; la bacteria que lo produce es la *Escherichia coli* en principal a los animales jóvenes y como síntoma principal el cuy va a estar erizado, con fiebre de 39,6 °C, separado de los demás, inapetente, y puede haber diarrea profusa si no ha ocurrido la muerte, el intestino delgado muchas veces se encuentra distendido o relajado con presencia de líquido incoloro puede presentar nódulos a lo largo del intestino (Narváez, 2003). Se encuentra tres factores para comprender la colibacilosis: el estado inmunitario del animal, las cualidades de la cepa y su capacidad de generar enterotoxinas. Las cepas enteropatógenas ocasionan directamente una fuerte destrucción de la mucosa intestinal, estimulando diarrea y muerte del animal. Las cepas no tan virulentas, causan una destrucción menos grave de la mucosa intestinal, provocando únicamente un retraso en el crecimiento. Las cepas de *Escherichia. Coli*, se pueden dividir a grandes rasgos en cepas neonatales, que alteran a los lactantes de 0 a 20 días de vida, y cepas de engorde que afectan desde los 21 a los 60 días (Dipaga, 2001).

Hace años atrás en tiempos muy remotos las plantas han cumplido un papel valioso en el área terapéutica gracias a sus múltiples propiedades que estas gozan. Por tal motivo en las últimas décadas se da mucha importancia de estudio y el desarrollo de técnicas analíticas que permitan la determinación e identificación de las sustancias o principios activos contenidos en especies vegetales ha ido incrementando (Lizcano & Vergara, 2008)

Encontrando la alta incidencia y problemas que presentan estas bacterias en las explotaciones, se planteó llevar a cabo esta investigación con la finalidad de tener una información para poder dar otras soluciones para poder suprimir o prevenir las diferentes enfermedades ocasionadas por dichas bacterias, el motivo también se dio a que no existen investigaciones suficientes sobre la utilización del látex de papaya silvestre (*Carica pubescens*) utilizado como producto antibacteriano ante *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* en la producción de cuyes, puesto que la mayoría de investigaciones se realiza en otras especies animales.

Por el contrario, se consideró el fácil alcance de los productores de cuyes hacia producto de (*Carica pubescens*) “Papaya silvestre”, y se contempló que dicho producto se puede obtener con gran simplicidad en los mercados de la ciudad. Esta planta corresponde al género *Carica*, originalmente de América tropical y subtropical, compuesto por más de 40 especies nativas, entre las cuales sobresale la papaya (*Carica papaya*) ya que es la más conocida y distribuida en las zonas tropicales. La papayuela (*Carica pubescens*) es una especie frutal nativa de América tropical que se cultiva en altitudes entre 2400 y 2800 m. (Duque et al., 2005).

Por su gran contenido de papaína, dicha fruta tiene una gran aceptación en los mercados internacionales para el uso en la industria farmacéutica y en los alimentos como ablandador de carne. (Duque et al., 2005)

La *Carica pubescens* incluye papaína y carpaína; nutrientes tales como proteínas (0,7%) carbohidratos (3,9%), grasas (0,1%), agua (93,5%), fibra (1,2%), vitamina A (100 UI), vitamina (70mg/100g), calcio, fósforo, tiamina, riboflavina y niacina. (Muñoz, 2006)

La papaína es una proteína la cual se encuentra en toda la planta, y se compone de 212 aminoácidos con un peso molecular de 23.000 daltons, en la unión de su cadena doblada se encuentra el sitio activo. La papaína además de hidrolizar proteínas, también lo hace con pequeños péptidos, aminas, esterases, carbohidratos y grasas. La quimopapaina contiene una estructura de 218 aminoácidos con propiedades parecidas a la papaína. En el fruto se encuentran presentes también los aminoácidos: triptófano, tirosina, cisteína además de las enzimas como la peptidasa, caseína, amilasa, pectasa y lipasa. (Osuna et al., 2005).

A través del estudio de los extractos íntegros de las diferentes partes de la planta, así como diversas mezclas aisladas de *Carica papaya*, se han demostrado importantes actividades biológicas como son: antibacteriana, vermi-fuga, antidiarreica, antidisenterica y antihelmíntica. (Osuna et al., 2005).

En la actual investigación sea tratado de la siguiente hipótesis: El látex *in vitro* de la papaya silvestre tendrá un efecto antibacteriano en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* en cuyes, de donde el objetivo general fue evaluar el efecto antibacteriano

in vitro del látex de la papaya silvestre (LPS) en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización

El siguiente trabajo de investigación se dio a cabo en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos perteneciente al Instituto de Investigación en Ganadería y Biotecnología – IGBI, de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, la que se encuentra en la provincia y distrito de Chachapoyas, dicha institución se encuentra ubicada a 6° 13´ 57” sur y 77° 51´ 11” norte a una altitud de 2334 msnm, a una temperatura anual promedio de 17°C, humedad relativa de 74% y una precipitación anual de 811 mm.

2.2. Cepas bacterianas

Las cepas bacterianas que se utilizó en la presente investigación fueron adquiridas de las heces de los cuyes infectados ya que se encontraba brotes de la enfermedad por años y que presentaban síntomas de las enfermedades provocadas por las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* de la granja PROALCUY del Ing. Jhon Imer Salazar Dolores ubicado en el sector Tuctilla carretera a Taquia tomando como punto de referencia la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza aproximadamente a un 1km al margen de la carretera ha Taquia (anexo, figura 4).

2.3. Recolección de muestras de heces de cuyes

Dichas muestras de heces son la principal materia de la cual se obtiene cepas bacterianas con las cuales se desea evaluar, en la siguiente investigación se propino a la recolección de las muestras de heces de la siguiente manera:

- Fueron identificados animales que presentaban síntomas de salmonelosis y colibacilosis en la granja.
- Luego de dicha identificación se procedió al seguimiento de estos animales se seleccionó los galpones H, C, B, G, F, posteriormente se llevó a cabo un estricto monitoreo de los animales con el fin de recolectar sus heces directamente del recto, las cuales fueron depositados en envases estériles de vidrio con un peso de 250 g.

- Las muestras colectadas fueron selladas y transportadas en una caja de tecnopor al laboratorio para su debida evaluación.

2.4. Preparación de medios de cultivo

Los materiales utilizados en los medios fueron previamente esterilizados tales como (envases de vidrio, placas y tubos) a una temperatura aproximada de 100°C por una 1 hora. Estos materiales se esterilizaron envolviendo en papel bond para perfeccionar su esterilización.

Dichos medios fueron preparados siguiendo las indicaciones de sus envases de acuerdo a recomendaciones del fabricante de dichos productos como (agares y medios diferenciales), Britania Lab. (2015), también con las indicaciones del personal que labora en el laboratorio de PROSAN.

- Primero se llevó a cabo el pesado del agar y medio diferencial a preparar en una balanza analítica el cual fue depositado en una bolsa esterilizada, con la ayuda de una cuchara de mango largo (anexo, figura 6).
- En un envase de vidrio de 500 ml se colocó la cantidad necesaria de agua destilada para preparar cada agar y medio diferencial.
- En cada envase con la cantidad precisa de agua destilada se le agregó el contenido de agar y/o medio diferencial que fue pesado en el primer paso. Es decir, cada cantidad diferente pesada de cada uno de los agares se le agregó a un envase de agua destilada diferente.
- Se disolvió y fuimos calentando en un mechero agitando suavemente.
- En el caso del agua peptona, se colocó en 14 envases pequeños esterilizados, en cada envase se colocó 50 ml (anexo, figura 7)
- En el caso del agua selenito, se colocó en 2 envases esterilizados, en cada envase se colocó 50ml (anexo, figura 7)
- El resto de agares ya disueltos en los envases grandes, juntamente con los 14 envases pequeños de agua peptona, se llevó a autoclave por un tiempo de 1 hora a una temperatura de 120°C.
- Pasado el tiempo en la autoclave, se lo coloca en la cabina de seguridad a la vez con las placas Petri, tubos de ensayo y probeta se lo deja por 10 minutos con UV para luego proceder al llenado.
- A los agares EMB, MacConkey y Müller - Hinton se llevó a cabo su distribución en placas Petri agregando 25 ml en cada placa (anexo, figura 8).

- A los medios diferenciales LIA, TSI, CITRATO DE SIMMONS y SIM se llevó a cabo sus distribuciones en pequeños tubos agregando 6,6 ml en cada uno, en los tres primeros medios diferenciales se llevó a cabo el llenado y se inclinó el tubo para obtener una solidificación del medio de forma inclinada y en el último medio (SIM) se llevó a cabo el llenado y se colocó el tubo recto para que su solidificación sea nivelada (anexo, figura 8).
- Para el caso de la preparación del agar SS, primero se llevó a cabo el llenado del agua destilada para la cantidad de agar que se necesita preparar en un envase de vidrio, luego se llevó a la autoclave por un tiempo de 1 hora a una temperatura de 120 °C, al quitarlo de la autoclave se agregó la cantidad de agar pesado en el (primer paso) al envase con agua destilada auto clavado y se disolvió agitando y calentando con un mechero para evitar el enfriamiento.
- Disuelto por completo, sin presencia de pequeñas partículas se llevó a cabo la distribución en placas Petri, colocando 50 ml en cada placa.
- Tanto los agares y medios diferenciales preparados y distribuidos en placas Petri y tubos se llevó a refrigeración para a su conservación y luego poder utilizarlo en el momento adecuado de la investigación.

2.5. Siembra de las bacterias en medios de cultivo

Los demás procesos se realizaron apoyándome en los pasos descritos por Cruz et al., (2010), y con el apoyo del personal en microbiología que labora en el laboratorio de PROSAN.

2.5.1. Enriquecimiento de muestras

Con el objetivo de aumentar el número de bacterias de una cierta cantidad de muestras de heces de cuy, se llevó a cabo el procedimiento de enriquecimiento colocando en la cabina de seguridad las muestras de heces, los envases de agua peptonada y agua de selenito preparado y con todos los materiales necesarios para dicho procedimiento, se realizó con los siguientes pasos:

- Con una pinza, se extrajo 5 gramos de heces de cada envase con las muestras de los diferentes galpones de cuyes.
- Se colocó dicha cantidad en los envases de agua peptona o caldo peptona y agua de selenito o caldo selenito, dichos envases se encontraban etiquetados para cada una de las muestras.

- Una vez colocados, se pasó a disolver bien para enriquecer mejor las muestras (anexo, figura 9).
- Al final se llevó a la estufa a incubar por un tiempo de 18 a 24 horas a una temperatura de 37°C.

2.5.2. Siembra de bacterias en medios de cultivo: Agar MacConkey y agar

Salmonella Shiguella

Realizado ya el proceso de enriquecimiento de muestras, se llevó a cabo la siembra en los agares MacConkey (MC) y Salmonella Shiguella (SS) para obtener colonias de bacterias; en el agar MC se encontró diferentes bacterias y en el agar SS se encontró la bacteria Salmonella. Dicho proceso se realizó de la siguiente manera:

Colocamos los materiales a necesitar para la siembra en la cabina de seguridad y se coloca a luz ultravioleta (UV) por un tiempo aproximado de 10 minutos, en seguida se colocó las muestras enriquecidas en caldo peptona, caldo selenito en las placas con agar MC y SS en dicha cabina de seguridad.

- Con la ayuda de un plumón indeleble se hizo el etiquetado correspondiente en cada placa de agar MC y SS y una regla se separó en dos partes tanto para caldo peptona y caldo selenito se lo realizo en cada una de las muestras.
- Prendemos el mechero en la cabina y esterilizamos el asa bacteriológica en aro hasta formar un rojo vivo en el asa.
- Se deja enfriar el asa para evitar la muerte de las bacterias al obtener la muestra, después se procedió a introducir el asa en el primer envase de muestra de heces enriquecida por varias veces, eliminamos la burbuja que se forma y se procedió a realizar la siembra en forma de zigzag o conocido como el método de estrías en las placas con agar MC y SS. Así mismo se procede a la siembra con cada una de las muestras enriquecidas y en cada placa de ambos agares ya mencionados, para cada muestra y cada placa de agar diferente se llevó a cabo la esterilización del asa bacteriológica (anexo, figura 10).
- En seguida se llevó a la incubación de las placas sembradas a la estufa a una temperatura de 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas.
- Por último, acabada la incubación se procedió a la identificación de la bacteria *Salmonella typhimurium* en el agar SS (anexo, figura 11 izquierda) y el crecimiento de bacterias en agar MacConkey (anexo, figura 11 derecha),

después para la identificación de *Escherichia coli* se siguió la siembra en el medio de cultivo específico de agar EMB.

2.5.3. Siembra de bacterias en medio de cultivo agar EMB

Dicho proceso se llevó a cabo para identificar a la bacteria *Escherichia coli* ya que el agar EMB es un medio específico para dicha bacteria, porque a partir de la siembra en el agar MC pasado las horas de incubación en dicho agar se llevó a cabo la siembra en el agar EMB de la manera siguiente:

- Ponemos los materiales necesarios para dicho proceso en la cabina de seguridad y se puso luz UV por 10 minutos.
- Trascurrido los 10 minutos con la ayuda de una regla y un plumón indeleble se separó en cuatro partes las placas de EMB 2 partes para caldo peptona y 2 partes para caldo selenito.
- Después se examinó bien las colonias de bacterias formadas en la placa de agar MC, se seleccionó una colonia de color rojo (caldo peptona) y otra de color blanco (caldo selenito).
- Luego de las colonias seleccionadas se procedió a tomar la colonia de color rojo con la ayuda de un asa bacteriológica en aro esterilizada al rojo vivo con un mechero, se deja enfriar para evitar la muerte de bacterias al tomar la colonia y se llevó a cabo la siembra por el método de estrías o en zigzag en la placa con agar específico de EMB.
- Se torno a esterilizar el asa bacteriológica y de la misma manera se realizó la siembra de colonia de color blanco seleccionada en una placa con agar específico de EMB, para poder determinar cuál de las colonias seleccionadas con bacterias de *Escherichia coli*.
- Por último, se colocó a incubar las placas con agar EMB sembradas en la estufa a 37°C de temperatura por 18 a 24 horas. Trascurrido las horas de incubación se hizo la identificación de la bacteria, un color verde brillante nos confirmó la presencia de la bacteria de interés (anexo, figura 13).

2.5.4. Siembra de bacterias en medios diferenciales para la identificación de las bacterias

Se llevó a cabo esta siembra en medios diferenciales para determinar si las bacterias en interés corresponden a *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. Este proceso se realizó de la siguiente manera:

- Se puso todos los materiales correspondientes para este proceso en la cabina de seguridad a luz UV por 10 minutos con la finalidad de desinfectar los materiales.
- Después colocamos las placas de agar MC y SS con las colonias de bacterias formadas y los tubos con medios diferenciales en la cabina de seguridad.
- Esterilizamos el asa bacteriológica en punta con el mechero al color rojo vivo y dejamos enfriar, mientras que de la placa con agar MC con las colonias de bacterias, se seleccionó dos colonias una de color rojo y otra de color blanco, de las cuales se tomó una muestra de la colonia de color rojo de la placa y se procedió a sembrar en 4 tubos con un medio diferencial cada uno de la manera siguiente:

LIA: Se profundizó el asa hasta el fondo del agar, se retiró a la parte superficial y se hizo movimientos en zigzag en la superficie del agar.

CITRATO DE SIMMONS: Se llevó a cabo la siembra solo en la parte superficial del tubo en forma de zigzag.

SIM: Se efectuó una punzada hasta el fondo del agar y se retiró el asa.

TSI: Se profundizó el asa hasta el fondo del agar, se retiró a la parte superficial y se hizo movimientos en zigzag por la superficie del agar.

Se debe resaltar que para cada siembra de los 4 tubos se llevó a cabo la esterilización del asa bacteriológica y la muestra para la siembra en cada tubo se tomó de la misma colonia de color rojo de la cual se extrajo la muestra para la primera siembra en el primer tubo.

- Después se realizó la siembra con la colonia seleccionada de color blanco del mismo agar MC y se ejecutó los mismos pasos, con cada uno de otros 4 tubos de medios diferenciales. De esta siembra se obtuvo la identificación para la bacteria de *Escherichia coli*.
- En el caso de identificación de la bacteria *Salmonella typhimurium* en los medios diferenciales se procedió a llevar a cabo la siembra con el mismo método para *Escherichia coli*. De igual manera se seleccionó una colonia roja y una colonia blanca del agar SS y se sembró con cada colonia en 4 tubos contenidos con los medios diferenciales.
- Finalmente se elaboró la siembra en 16 tubos, de los cuales 8 para la identificación de *Escherichia coli* y 8 para *Salmonella typhimurium*, estos

tubos con medios diferenciales sembrados y con las colonias seleccionadas se llevaron a incubación a la estufa a 37 °C por un tiempo de 18 a 24 horas para realizar luego la lectura de identificación de bacterias.

2.5.5. Lectura de la identificación bioquímica de bacterias en medios diferenciales

En este paso es dónde a través de las pruebas bioquímicas se descarta el tipo de bacterias obtenidas en nuestros cultivos, de tal manera que se llevó a cabo la lectura de identificación de dichas pruebas con la ayuda de un manual de microbiología básica con la que cuenta el laboratorio de PROSAN, lugar dónde se realizó la investigación, en la lectura logramos obtener los siguientes resultados:

- En *Escherichia coli*:
 - Reacción bioquímica en SIM: H_2S (+) e Indol (+)
 - Reacción bioquímica en SIMMONS: Citrato (-)
 - Reacción bioquímica en LIA: Lisina descarboxilasa (-) y H_2S (-)
 - Reacción bioquímica en TSI: Lactosa (+), Sacarosa (+), Glucosa (+) y H_2S (+).
- En *Salmonella typhimurium*:
 - Reacción bioquímica en SIM: H_2S (-) e Indol (-)
 - Reacción bioquímica en SIMMONS: Citrato (-)
 - Reacción bioquímica en LIA: Lisina descarboxilasa (+) y H_2S (+)
 - Reacción bioquímica en TSI: Lactosa (+), Sacarosa (-), Glucosa (-) y H_2S (+)

Para comprobar los resultados véase en anexos la figura 15 (fotografías de la investigación para *Escherichia coli* derecha y para *Salmonella typhimurium* izquierda) y las figuras 16, 17, 18 y 19 (recortes del manual con el cual nos regimos para la lectura de la identificación bioquímica de las bacterias cultivadas).

2.6. Identificación de bacterias con tinción Gram

A fin de determinar la pureza de los cultivos, así mismo para identificar a las bacterias requeridas para la investigación se llevó a cabo la prueba de tinción o coloración Gram, para esto se procedió con los siguientes pasos explicando a criterio personal, y siguiendo los procesos descritos por Torres, (1996) en su manual práctico de bacteriología médica.

- En una lámina se coloca una gota de agua destilada, con la ayuda de un asa bacteriológica que se esteriliza con la ayuda de un mechero se enfría en el mismo agar del cultivo para evitar la muerte de las bacterias por el calor del asa.
- Se coge una bacteria de la siembra y se realiza una suspensión sobre la gota de agua destilada en la lámina.
- Después se llevó a cabo la fijación al calor en el mechero.
- En un soporte de coloración se ubica la lámina y se incorpora cristal violeta dejando reposar por 1 minuto, pasado el minuto se lava la lámina a agua corriente y se incorpora el mordiente o lugol por 1 minuto el cual sirve para fijar el colorante, se lava la lámina en agua corriente y se vuelve a incorporar el decolorante Gram por 1 minuto, se realiza el mismo procedimiento de lavado y por último se agrega safranina por 1 minuto y se lava nuevamente la lámina.
- Por último, una vez hecho el procedimiento con los 4 reactivos, procedemos a agregar 1 gota de aceite de inmersión y se lleva al microscopio a observar e identificar con el lente de inmersión a las bacterias de interés.

2.7. Obtención de los discos de sensibilidad

Para poder evaluar el efecto antibacteriano se optó por elaborar discos de sensibilidad el cual nos ayudara a identificar el crecimiento del halo, dichos discos fueron elaborados de papel filtro de la manera siguiente:

- Se cogió el papel filtro y se procedió a cortar con un perforador de escritorio en forma circular con un diámetro de 6 mm.
- Después se colocó en un vaso de precipitación tapado con papel aluminio y se llevó a esterilizar en la incubadora a 37 °C por 24 horas.

2.8. Procedencia y obtención del látex de papaya silvestre

Para poder evaluar el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre se elaboró harina del látex de papaya silvestre, el producto o materia prima fue procedente del distrito de Pomacochas - provincia de Bongara, cuyo procedimiento se realizó de la siguiente manera:

- Del distrito de Pomacochas me enviaron las papayas silvestres verdes al terminal terrestre de la ciudad de Chachapoyas.

- Una vez que me entregaron el producto en el terminal terrestre, contraté un taxi que me trasladé a la UNTRM-A, específicamente al laboratorio de PROSAN donde se ejecutó la investigación.
- En laboratorio se realizó el lavado y secado a 400 papayas silvestres verdes.
- Después se realizó cortes sagitales a c/u de las papayas silvestres para sacar el látex.
- Se colocó el látex en una tabla de vidrio debidamente esterilizada donde se esparció todo el látex obtenido.
- Por último, se llevó a colocar el látex extraído a la estufa a 150 C° por 24 para convertirle en harina (anexo, figura 20).

2.9. Preparación de los tratamientos

Se coloca todos los materiales a utilizar en la cabina de seguridad y se desinfecta colocando a luz UV por 10 minutos, después colocamos nuestros insumos y empezamos a la preparación de los tratamientos. En esta investigación como insumos se utilizó látex de papaya silvestre (*Carica pubescens*) y agua destilada esterilizada.

Con apoyo de una pipeta se empezó a medir los insumos con las siguientes cantidades:

- T0 = 0% LPS (0 g de látex + 25 ml de agua destilada)
- T1 = 20% LPS (5 g de látex + 20 ml de agua destilada)
- T2 = 40 % LPS (10 g de látex + 15 ml de agua destilada)
- T3 = 60% LPS (15 g de látex + 10 ml de agua destilada)

Después de colocadas las cantidades en los envases de vidrio respectivos a cada tratamiento se procede a mover las cantidades a través de movimientos circulares suaves (anexo, figura 21).

2.10. Evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre

El proceso de esta etapa se llevó a cabo teniendo en cuenta a Cruz et al., (2010) y con las indicaciones de un biólogo que asistió de apoyo.

Se necesitó para la evaluación materiales estériles por lo que se colocó todos los materiales a utilizar para la siembra y evaluación de efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre a la estufa a una temperatura de 150 °C por una 1 hora.

2.10.1. Evaluación del efecto antibacteriano de látex de papaya silvestre frente a *Escherichia Coli*

- Se inicio el procedimiento colocando los materiales e insumos a utilizar en la cabina de seguridad a luz UV por 10 minutos.

- Después para realizar la siembra y evaluar el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre se llevó a cabo la suspensión con la bacteria de *Escherichia coli* colocando 1 ml de agua destilada esterilizada en un tubo de ensayo.
 - Con la ayuda del mechero se esterilizó un asa bacteriológica en aro a rojo vivo, se enfrió y se cogió una cantidad de bacterias de *Escherichia coli* del agar EMB y se le agregó al tubo que contenía el agua destilada esterilizada, después se movió bien con el asa bacteriológica y elaboramos nuestra suspensión bacteriana de *Escherichia coli*.
 - En el tubo con la suspensión bacteriana se introdujo un hisopo con el que también movimos para obtener una buena muestra y dicho hisopo se exprime bien en las paredes del tubo.
 - Una vez exprimido, sembramos con el hisopo inclinado en las placas con agar Müller- Hinton en diferentes direcciones realizando una vuelta entera a los bordes del interior de la placa para conseguir un mejor crecimiento de la bacteria en toda la superficie del agar y tapamos la placa (anexo, figura 22).
 - De igual manera con el mismo hisopo para cada siembra en cada una de las placas con agar Müller Hinton se metió en el tubo con la suspensión bacteriana, se exprime bien y se llevó a cabo la siembra con los mismos pasos. Elaboramos 4 placas con agar Müller- Hinton sembradas con bacterias de *Escherichia coli* para llevar a cabo la evaluación de los 4 tratamientos respectivos.
 - Con la ayuda de un plumón indeleble y regla se distribuyó cada una de las 4 placas sembradas en 4 partes iguales, las que se rotuló el nombre de la bacteria, tipo de tratamiento y número de repeticiones, éste último en cada uno de los cuadrantes.
- ✓ **Inserción de los discos de sensibilidad**
- Se trabajo en la cabina de seguridad, en el envase de cada tratamiento, se introdujo un disco de sensibilidad con el apoyo de una pinza, el cual se humedeció en el primer tratamiento que fue el T₀: que contenía agua destilada esterilizada, se quitó del envase y se colocó en la primera placa y en el primer cuadrante (anexo, figura 23).

- Del mismo modo se llevó a cabo la inserción de todos los discos del primer tratamiento, a los cuales fueron 4 discos, 1 disco para cada repetición.
- En las demás inserciones de los discos de sensibilidad se realizó el mismo método y con su respectivo tratamiento.
- Por último, terminada la inserción de los discos a cada una de las 4 placas con su correspondiente tratamiento, se llevó a incubación en la estufa a una temperatura de 37 °C por 18 a 24 horas.
- Terminado el tiempo de incubación se llevó a cabo la respectiva lectura del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre en sus 4 diferentes porcentajes de concentración.

2.10.2. Evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre frente a *Salmonella Typhimurium*

- Se inicio el procedimiento colocando los materiales e insumos a utilizar en la cabina de seguridad a luz UV por 10 minutos.
- Después para realizar la siembra y evaluar el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre se llevó a cabo la suspensión con la bacteria de *Salmonella typhimurium* colocando 1 ml de agua destilada esterilizada en un tubo de ensayo.
- Con la ayuda del mechero se esterilizó un asa bacteriológica en aro a rojo vivo, se enfrió y se cogió una cantidad de bacterias de *Salmonella typhimurium* del agar SS y se le agregó al tubo que contenía el agua destilada esterilizada, después se movió bien con el asa bacteriológica y elaboramos nuestra suspensión bacteriana de *Salmonella typhimurium*.
- En el tubo con la suspensión bacteriana se introdujo un hisopo con el que también movimos para obtener una buena muestra y dicho hisopo se exprime bien en las paredes del tubo.
- Una vez exprimido, sembramos con el hisopo inclinado en las placas con agar Müller- Hinton en diferentes direcciones realizando una vuelta entera a los bordes del interior de la placa para conseguir un mejor crecimiento de la bacteria en toda la superficie del agar y tapamos la placa (anexo, figura 22).
- De igual manera con el mismo hisopo para cada siembra en cada una de las placas con agar Müller Hinton se metió en el tubo con la suspensión

bacteriana, se exprime bien y se llevó a cabo la siembra con los mismos pasos. Elaboramos 4 placas con agar Müller- Hinton sembradas con bacterias de *Salmonella typhimurium* para llevar a cabo la evaluación de los 4 tratamientos respectivos.

- Con la ayuda de un plumón indeleble y regla se distribuyó cada una de las 4 placas sembradas en 4 partes iguales, las que se rotuló el nombre de la bacteria, tipo de tratamiento y número de repeticiones, éste último en cada uno de los cuadrantes.
- ✓ **Inserción de los discos de sensibilidad**
 - Se trabajo en la cabina de seguridad, en el envase de cada tratamiento, se introdujo un disco de sensibilidad con el apoyo de una pinza, el cual se humedeció en el primer tratamiento que fue el T₀: que contenía agua destilada esterilizada, se quitó del envase y se colocó en la primera placa y en el primer cuadrante (anexo, figura 23).
 - Del mismo modo se llevó a cabo la inserción de todos los discos del primer tratamiento, a los cuales fueron 4 discos, 1 disco para cada repetición.
 - En las demás inserciones de los discos de sensibilidad se realizó el mismo método y con su respectivo tratamiento.
 - Por último, terminada la inserción de los discos a cada una de las 4 placas con su correspondiente tratamiento, se llevó a incubación en la estufa a una temperatura de 37 °C por 18 a 24 horas.
 - Terminado el tiempo de incubación se llevó a cabo la respectiva lectura del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre en sus 4 diferentes porcentajes de concentración. (anexo, figura 25, 26 y 27).

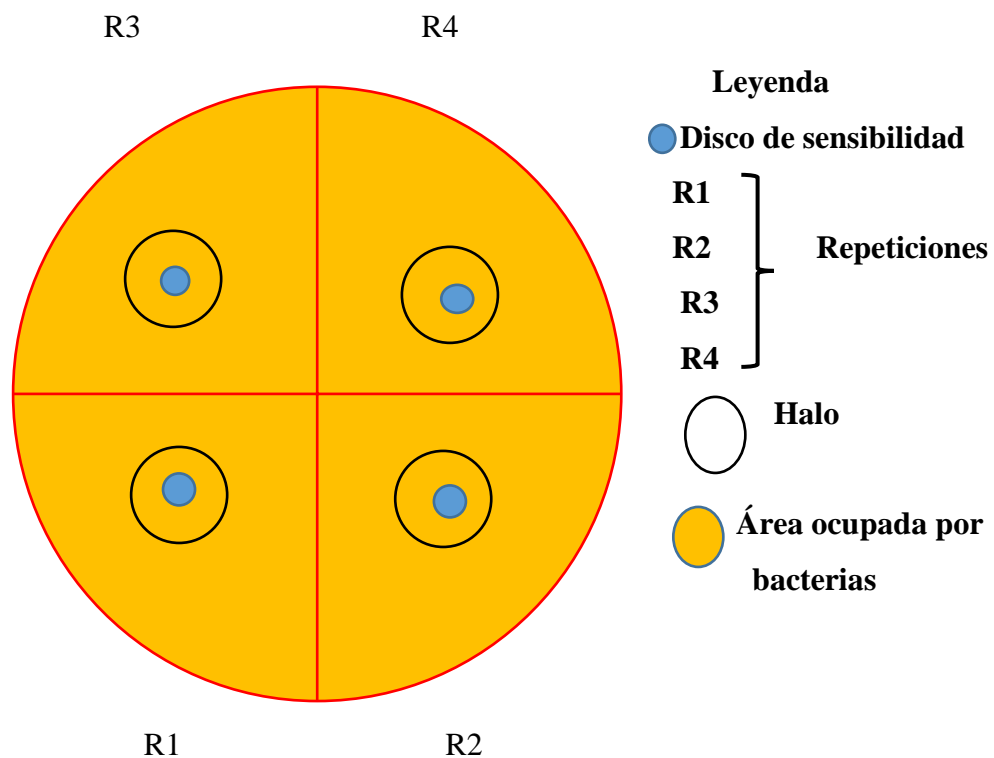
2.11. Diseño experimental

Esta investigación se llevó a cabo con 3 tratamientos y con un grupo testigo, cada una con 4 repeticiones (figura 1), las cuales fueron planteados en un diseño completamente al azar (DCA).

Cada tratamiento se colocó en una placa Petri, en donde se distribuyó las placas en cuadrantes para adquirir las 4 repeticiones para cada tratamiento (figura 1), para facilitar la evaluación correspondiente.

En el transcurso de la ejecución se tuvo en cuenta planificar la temperatura y tiempo adecuado para su incubación y poder proceder a la lectura de placas.

Figura 1. Esquema de la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya Silvestre.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 1 se examinar la distribución de las repeticiones por tratamiento en cada placa, es decir una placa representa un tratamiento en dónde cada cuadrante que se muestra representa una repetición de dicho tratamiento, examinamos también que el área coloreada de mostaza es el área ocupada por las bacterias, el área de color blanco representa el tamaño del halo y el área de color azul representa a los discos de sensibilidad fabricados de papel filtro. La evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre (*Carica pubescens*) se llevó a cabo efectuando la medición del área coloreada de blanco que es el crecimiento del halo por el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre sobre las bacterias investigadas.

2.12. Análisis de datos

Los datos obtenidos en la investigación fueron procesados en (DCA), dónde también se analizaron con la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 0,05 para determinar las diferencias entre tratamientos.

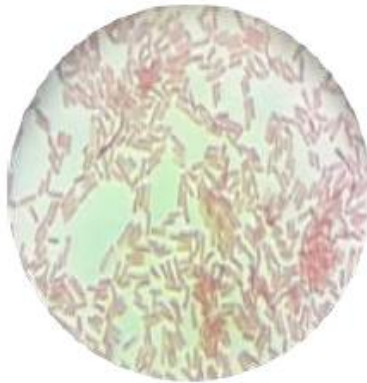
III. RESULTADOS

3.1. Identificación de bacterias *Escherichia Coli* y *Salmonella Typhimurium*

con tinción Gram

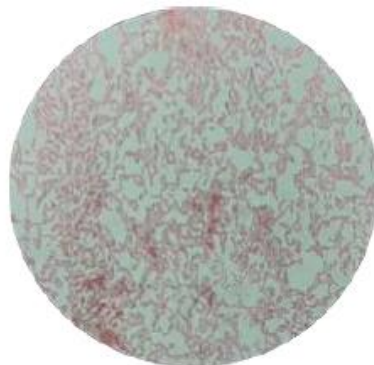
En las figuras 2 y 3 se muestran imágenes de las bacterias en estudio, examinadas microscópicamente a través del proceso de tinción Gram, de éstas se puede observar bacterias Gram negativas de forma bacilar teñidas de color rosado características específicas de las bacterias Gram negativas de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*

Figura 2. *Salmonella typhimurium* observada al microscopio



Fuente: Elaboración propia

Figura 3. *Escherichia coli* observada al microscopio



Fuente: Elaboración propia

3.2. Efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre frente a *Salmonella*

Typhimurium

Tabla 01. Tamaño del halo (mm) por efecto del látex de papaya sobre

Salmonella typhimurium

Tratamientos	0% EA	20%EA	40%EA	60%EA
Diámetro del halo	6 C	6 BC	10,75 AB	11,25 A

Diferentes en una fila indica diferencia estadística (p< 0, 05)

Fuente: Elaboración propia

La tabla número 01, se puede observar que el promedio del tamaño del halo de inhibición en los tratamientos 0% y 20% fue de 6 mm son iguales, lo que quiere decir que no hay crecimiento del halo, en cambio en el tratamiento al 40% es 10,75 mm superior y el 60% 11,25 mm, lo cual indica que solo los dos últimos tratamientos presentaron crecimiento.

3.3. Efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre frente a *Escherichia*

Coli

Tabla 02. Tamaño del halo (mm) por efecto del látex de papaya sobre

Escherichia coli

Tratamientos	0% EA	20% EA	40% EA	60% EA
Diámetro del halo (mm)	6 A	6 A	6 A	6 A

Diferentes en una fila indica diferencia estadística (p< 0, 05)

Fuente: Elaboración propia

La tabla número 02, el promedio del tamaño del halo de inhibición de los tratamientos evaluados fue de 6 mm, lo que evidencia que en la presente investigación el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre ante *Escherichia coli* es nulo, ya que no se encontró ningún crecimiento del halo, lo que quiere decir que los 6 mm es el tamaño del disco de sensibilidad.

IV.DISCUSIÓN

Se llevó a cabo la evaluación microscópica por medio de la tinción Gram de las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* a lo que se puede observar la morfología celular y coloración con la que se muestran estas bacterias en el microscopio, obteniendo para *Escherichia coli* una forma bacilar alargada y para *Salmonella typhimurium* una forma bacilar más pequeña ambos de color rosado; resultados similares según estudio de Romeu (2012) que ha identificado *Escherichia coli* de forma bacilar y *Salmonella typhimurium* ambos de forma bacilar y de color rosado.

Los resultados muestran que el látex de papaya silvestre (*Carica pubescens*) muestra un efecto antibacteriano en concentraciones de 40 y 60% frente a la bacteria de *Salmonella typhimurium* con un crecimiento del halo 10,75 y 11,25 mm lo que quiere decir que si hay un crecimiento del halo, lo que se puede corroborar que la siguiente investigación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre frente a *Salmonella typhimurium* es nulo en los tratamientos 0% y 20% ya que no hay crecimiento del halo.

Sin embargo al utilizarlo como antibacteriano frente *Escherichia coli* de los cuyes, en efecto los resultados de crecimiento del halo de inhibición se tiene 6 mm en todos los tratamientos de *Escherichia coli*, no se notó ningún crecimiento visible en los discos de sensibilidad; para comprender Bernal y Guzmán (1984) nos explican que para la toma de medidas de los halos de inhibición se lleva a cabo incluyendo los 6 mm del disco de sensibilidad, lo que representa que una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición.

La resistencia encontrada en esta investigación de las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* frente al látex de papaya silvestre se debe a que exista resistencia antimicrobiana como indica Harkness y Morris (1995); La diferencia en las cepas resistentes entre estreptomycin, aminoglucósidos y gentamicina, se consigue explicar por consiguiente que las enzimas bacterianas empleadas que las inactivan pueden ser específicas para cada uno de ellos.

Según (Mancera Martínez et al., 2004); (Schwarz et al., 2017) ;(Ríos, 2012); Gatica Eguiguren y (Rojas, 2018); indican la multiresistencia antibiótica encontrada por *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* ante los antibacterianos en Tetraciclina, Gentamicina, Ampicilina, Penicilina y Novomicina, revelan que los antibióticos probados tal vez sufrieron modificaciones en su mecanismo de acción como: la inactivación enzimática de antibióticos, por mecanismos activos del antibiótico y modificación del antibiótico en la bacteria, como se reporta en la literatura, lo cual reduce las opciones terapéuticas.

Lucas et al., (2016), también dicen que la *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* podrían ser posiblemente resistentes a los antibacterianos de primera línea como la Enrofloxacina, Ciprofloxacino, Oxitetraciclina, Penicilina, Ciprofloxacino y Trimetoprim sulfametoxazol ya que son de un uso más indiscriminado en veterinarias hace muchos años atrás en cuyes, por lo tanto, no sería recomendable el uso como antibióticos de primera elección a fin en el tratamiento del complejo diarreico.

Los tamaños por halos que se obtuvieron para las 2 bacterias de 6 a 11,75 mm la interpretación de susceptibilidad es resistencia como indica. (Reyes et al., 2005) explican que la susceptibilidad del microorganismo en prueba se refiere con el tamaño de la zona de inhibición en milímetros. En esta investigación se obtuvo parámetros de zona de inhibición de 6 a 11,75 mm y la interpretación de las bacterias fueron resistentes frente al látex como indica (Lopez-Malo et al., 2005); Estos microorganismos se designan susceptibles cuando el diámetro de la zona es mayor a 30-35 mm, intermedios cuando el diámetro de la zona varía entre 20 y 30 mm, y resistentes cuando el diámetro de la zona es menor a 15-20mm.

Por lo predispuesto en este párrafo, se puede definir que nuestros resultados no se encuentran en los rangos establecidos y se puede constatar que las bacterias estudiadas son resistentes ante el látex de papaya silvestre ya que hay crecimiento del halo.

V. CONCLUSIONES

Se hizo la diferenciación microscópica de las bacterias de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* en donde se puede estudiar las características típicas de estas bacterias Gram negativas de color rosado y de forma bacilar.

En esta investigación podemos afirmar que la bacteria *Salmonella typhimurium* es sensible en presencia de los componentes del látex de papaya silvestre y se pudo ver que no hubo resistencia de esta bacteria al látex de papaya silvestre en dos tratamientos (40, 60%) 10,75, 11, 25 mm los cuales tuvieron crecimiento del halo de inhibición a las 24 horas de incubación.

También en esta investigación podemos afirmar que la bacteria *Escherichia coli* no es sensible en presencia de los componentes del látex de papaya silvestre, por el contrario, se pudo ver la resistencia bacteriana de esta bacteria al látex de papaya silvestre en sus diferentes tratamientos 0, 20, 40 y 60% a lo que no tienen crecimiento de halo de inhibición a las 24 horas de incubación ya que nos muestran promedios del tamaño del disco de sensibilidad.

VI. RECOMENDACIONES

Ejecutar otras investigaciones evaluando el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre utilizando otras concentraciones más elevadas para la preparación de los tratamientos.

Ejecutar otras investigaciones con distintas partes de la papaya silvestre.

Realizar otras investigaciones con o plantas medicinales de la zona

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bernal, M. y Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby -Bauer. *Biomédica* 4 (3 y 4), 112-121.
- Britania Lab. (2015a). T.S.I. Agar: Triple Sugar Iron Agar. Recuperado de [https:// www. britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a297d2411990.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a297d2411990.pdf).
- Britania Lab. (2015b). Lisina, Hierro, Agar. Recuperado de: [https:// www. britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a282fb7b6204.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a282fb7b6204.pdf).
- Britania Lab. (2015c). MacConkey Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2ed674cf661.pdf.
- Britania Lab. (2015d). Mueller Hinton Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2843836ddd8.pdf.
- Chauca L. 1997. Producción de Cuyes (*Cavia porcellus*). Organización de la Naciones Unidas. Para la Agricultura y la Alimentación de la FAO. Instituto Nacional de Investigaciones Agraria INIA. Roma 77 p.
- Chero A. 2015. Identificación molecular de *Salmonella typhimurium* y enteritidis en cobayos reproductoras primerizas clínicamente sanas. Tesis Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 54 p
- Dipaga, 2001. Exterotoxemia y Colibacilosis Dipaga Centro Cunícola 01/01/2001 Disponible en: https://www.engordemix.com/MACunicultura/articulos/enterotoxemia_colibacilosis-t461/p0.htm.
- Duque B., Carmenza & Morales R., Alicia Lucía. (2005) El aroma frutal de Colombia Univ. Nacional de Colombia. P 135-155.
- Grimont PA, Weill FX. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. 9th ed. Paris, France: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. 166 p

- Harkenns J. 1995. Rodent drug dosages. En: Bauck L, Brown S, Harkenns J. Jenkins J (eds). Exotic animal formulary: a supplement to AAHA´ practitioner guides to exotic animal medicine. Colorado: American Animal Hospital Association p 37-46.
- Layme A. 2010. Frecuencia de lesiones anatomopatológicas en cobayos con diagnostico bacteriológico de Salmonella sp remitidos al laboratorio de histología, embriología y patología veterinaria de la FMV- UNMSM durante el periodo 2001-2007. Tesis Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 54 p
- Lizcano Ramón, A. J., & Vergara González, J. L. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales. *PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA*. Bogotá.
- López-Malo, A., Palou, E., Parish, M. y Davidson, P. (2005). Methods for activity assay and evaluation of results. En P. M. Davidson, J., Sofos, y A. Branen. antimicrobials in Food (3a edición, capítulo 21, pags.659-680). Boca ratón: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Lucas, Juan R y col. (2016). " Patógenos involucrados en casos fatales de diarrea en crías de alpaca de la Sierra Central del Perú". En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 27.1, 169 -175.
- Mattos J. Palacios G. Glorio P, Morales S. 2013. 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 Científica. 10 (2):123-134.
- Morales S, Mattos J, Calle S. 2007. Efecto de la muña (*Satureja parvifolia*) en La dinámica de la infección de *Salmonella entérica* en cobayos. XXX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción de Animales, Cuzco – Perú.
- Muñoz Jauregui, Ana María. (2006). Estudio químico – bromatología del fruto de *Carica monoica* Desf. "Chamburú" y los efectos de su ingesta en el crecimiento y el perfil bioquímico de las ratas. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS.

- Narváez, H. 2003. Explotación técnica de cuyes Manual de asistencia técnica N.-5 San Juan de Pasto Edición Comité editorial Regional Cinco. Bogotá DC. 35-36 Pgs.
- Ortega G, Jiménez R, Ara M y Morales S. 2015. La Salmonella como factor de riesgo de mortinatalidad en cuyes. Rev Inv Vet Perú. 26(4): 676-681.
- OIE] World Organisation for Animal Health. 2010. Salmonellosis. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2008/pdf/2.09.09_salmonellosis.pdf
- Osuna Torres, Lidia; Tapia Pérez, María Ester & Aguilar Contreras, Abigail. (2005). Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Publicacions I Edicions de la Universitat de Barcelona. España. 52-54.
- Romeu, B. (2012). Caracterización de cepas de Escherichia coli de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la Habana. (Tesis de doctorado). La Habana, Cuba: Universidad de La Habana.
- Zúñiga j, Tur J, Miccolo S, Piñeiro R. 2001. Ciencia y Tecnología en protección y experimentación animal. Primera edición. Editorial Interamericana. 682 p.

ANEXOS

A. Descripción de agares y medios diferenciales utilizados.

Tabla 03. Descripción de los agares utilizados.

NOMBRE DEL AGAR	COMPOSICIÓN	DOSIS DE PREPARACIÓN
CALDO PEPTONADO	Peptona, CNa, agua destilada	25.5 gramos en un litro de agua destilada.
CALDO SELENITO	Selenito hidrógeno de sodio anhidro, fosfato de sodio anhidro, peptonas y lactosa.	23 gr del medio deshidratado y se disuelve en un litro de agua destilada.
MACCONKEY	Peptona, lactosa, cloruro de sodio, sales biliares, cristal violeta, rojo neutro	50.0 gramos en un litro de agua destilada.
EMB	Digerido pancreático de gelatina, lactosa, sacarosa, fosfato dipotásico, agar, eosina y, azul de metileno	36.0 gramos en un litro de agua destilada.
SS	Extracto de carne, hidrolizado pancreático de caseína, hidrolizado péptico de tejidos animales, lactosa, sales biliares, citrato sódico, tiosulfato sódico, citrato férrico, rojo neutro, verde brillante, agar	60.0 gramos en un litro de agua destilada.
MÜLLER-HINTON (Antibiograma)	Extracto de carne, hidrolizado de caseína, almidón, agar	34.0 gramos en un litro de agua destilada.

Tabla 04. Descripción de los medios diferenciales utilizados.

NOMBRE DEL MEDIO DIFERENCIAL	COMPOSICIÓN	DOSIS DE PREPARACIÓN
TSI (Triple azúcar hierro)	Extracto de carne, cloruro de sodio, glucosa, lactosa sacarosa, sulfato de hierro y amonio, tiosulfato de sodio, rojo de fenol	65.0 gramos en un litro de agua destilada.
LIA (Lisina hierro)	Peptona, extracto de levadura, glucosa, lisina, citrato de hierro y amonio, tiosulfato de sodio, púrpura de bromocresol	32.0 gramos en un litro de agua destilada.
CITRATO DE SIMMONS	Citrato de sodio, cloruro de sodio, fosfato dipotásico, fosfato monoamónico, sulfato de magnesio, azul de bromotimol	24.28 gramos en un litro de agua destilada.
SIM (Sulfuro, indol, motilidad)	Tripteína, peptona, sulfato de hierro y amonio, tiosulfato de Sodio	30.0 gramos en un litro de agua destilada.

B. Descripción de datos estadísticos por tratamiento

Variables:

N: Número de muestras

Mean: Media. Es una variable aleatoria cuantitativa cuyo objetivo es estimar o inferir características de una población o modelo estadístico.

SD: Desviación Estándar. Es un promedio de las desviaciones individuales de cada observación con respecto a la media de una distribución.

Variance: Varianza. Es la medida que representa la variabilidad de una serie de datos respecto a su media.

C.V: Coeficiente de Variación. Es la medida estadística que nos informa a cerca de la dispersión relativa de un conjunto de datos.

Tabla 05. Estadística descriptiva para *Salmonella Typhimurium*

	N	Media mm	Desviación estándar	Varianza	Coef. De varianza	Mínimo	Máximo
T0: 0%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T1: 20%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T2:40%	4	10.75	0.46291005	0.21428571	0.0430614	6	10.75
T3: 60%	4	11.25	0.88640526	0.78571429	0.07879158	6	11.25

Tabla 06. Estadística descriptiva para *Escherichia Coli*.

	N	Media mm	Desviación estándar	Varianza	Coef. De varianza	Mínimo	Máximo
T0: 0%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T1: 20%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T2:40%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T3: 60%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6

C. Panel fotográfico



Figura 4. Condición de los cuyes de los que se recolecto muestras



Figura 5. Presentación de agares y medios diferenciales (izquierda) y los reactivos utilizados para la tinción Gram (derecha).



Figura 6. Pesado de la cantidad necesaria de cada agar a preparar.

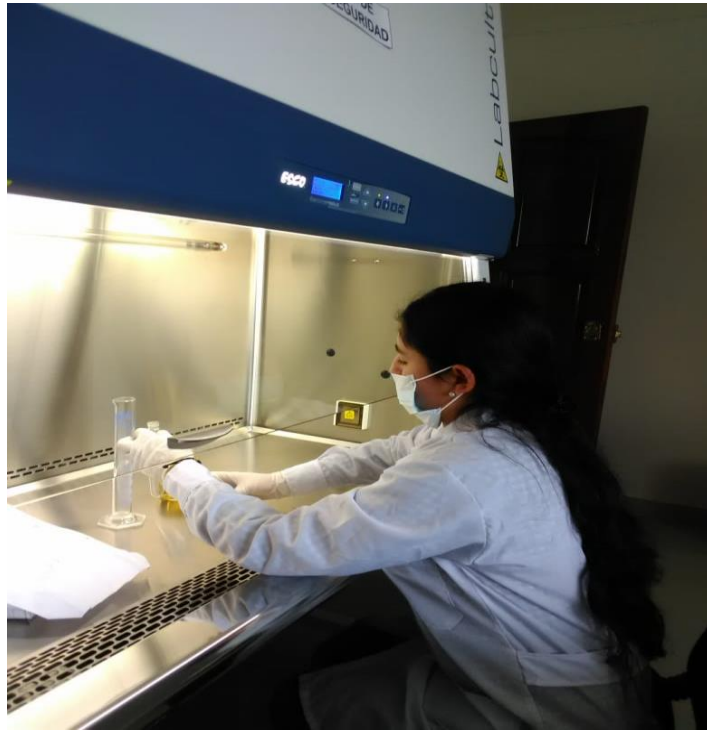


Figura 7. Distribución de caldo peptona y selenito en frascos 50ml en c/u

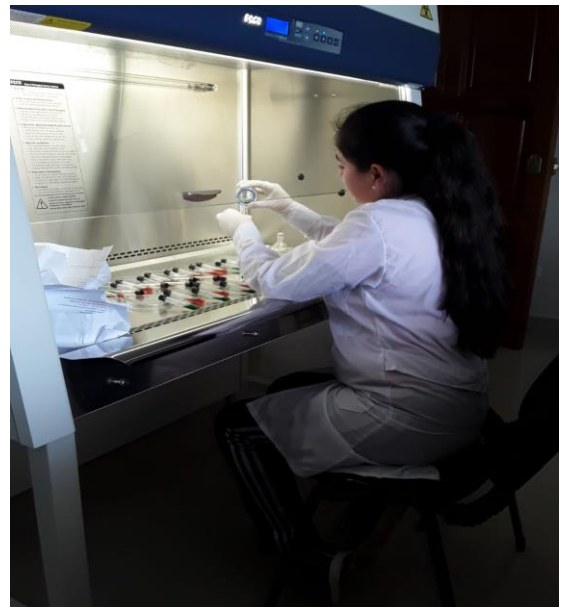


Figura 8. Distribución de medios diferenciales en tubos de ensayo con tapa (derecha) y los agares en placas Petri (izquierda).

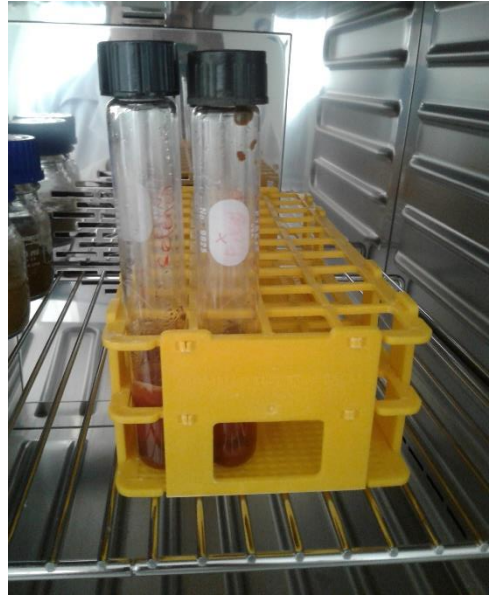


Figura 9. Enriquecimiento de muestras en caldo peptona (izquierda) y caldo selenito (derecha)

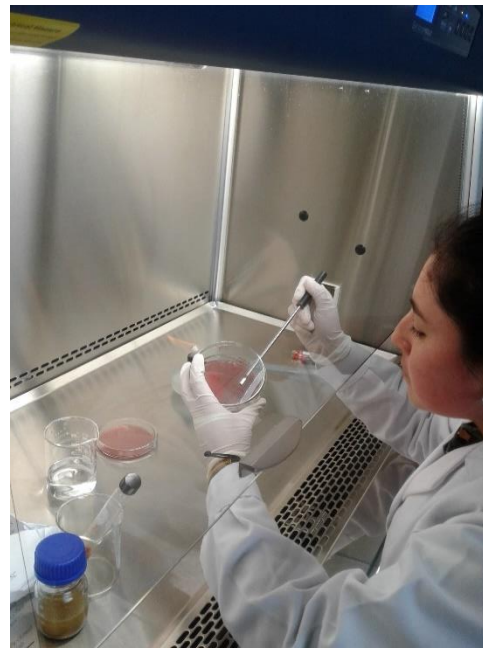
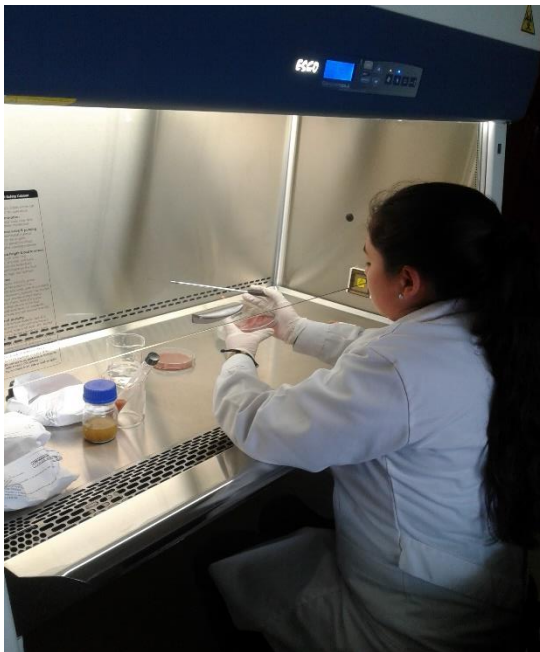


Figura 10. Siembra de muestras en agar MacConkey y agar SS para identificar el crecimiento de bacterias.



Figura 11. Resultado del crecimiento de *Salmonella ssp* en agar SS (izquierda) y de crecimiento de bacterias en agar MacConkey (derecha).



Figura 12. Siembra de bacterias extraídas de la placa de agar MacConkey traspasadas en agar EMB para identificar *Escherichia Coli*.

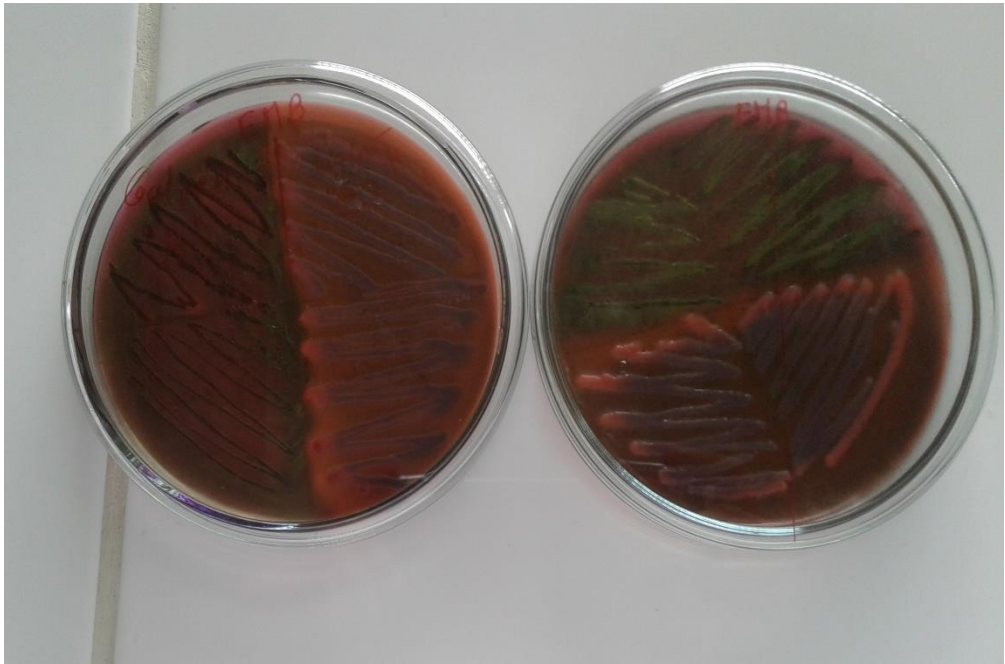


Figura 13. Resultado de identificación de la bacteria *Escherichia Coli* en agar EMB.



Figura 14. Medios diferenciales listos para ir a la cabina de seguridad para realizar sembrado e identificar bacterias *Salmonella Typhimurium* y *Escherichia Coli*.

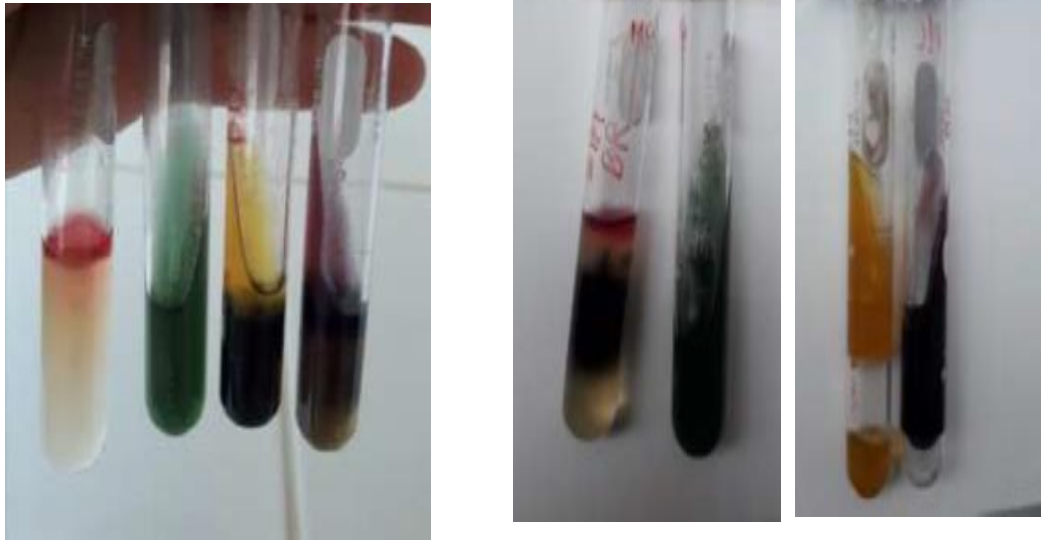


Figura 15. Resultados de identificación de la diferenciación de bacteria de *Escherichia Coli* (derecha) y de *Salmonella Typhimurium* (izquierda) en medios diferenciales.

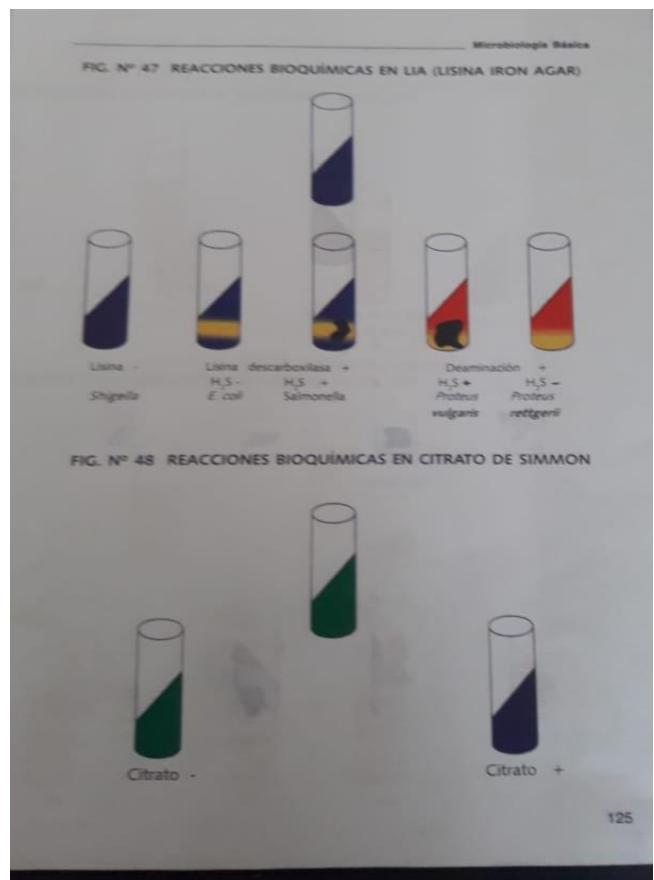


Figura 16. Reacciones bioquímicas en LIA y Citrato de SIMMONS

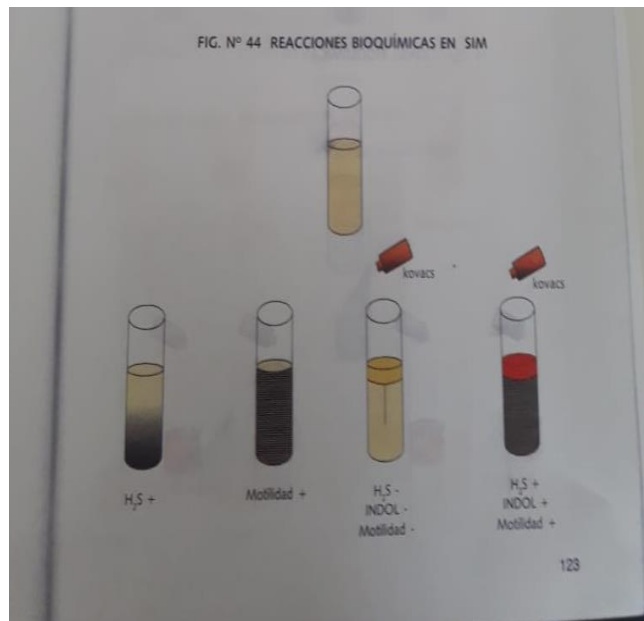


Figura 17. Reacciones bioquímicas en SIM

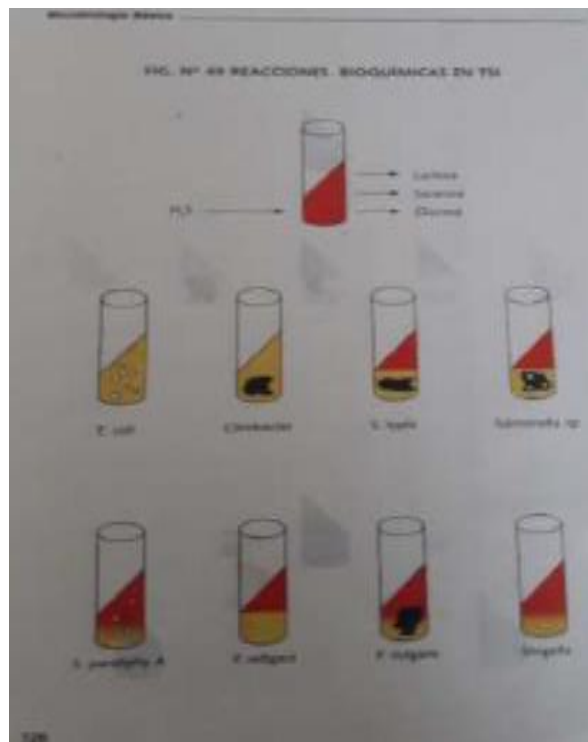


Figura 18. Reacciones bioquímicas en TSI

CUADRO N° 11 REACCIONES BIOQUÍMICAS EN TSI – LIA – SIM – CALDO GLUCOSADO – CITRATO – ÚREA

Reacciones	Microorganismos								
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella ParatyphiA</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Morganella</i>
Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acidez									
CO ₂	+	-	-	+	+	+	+	+	v
Lactosa	+	-	-	-	-	+	+	-	-
Sacarosa	+	-	-	-	-	+	-	v	v
H ₂ S	-	-	+	-	+	-	-	+	-
Indol	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Motilidad	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Lisina descarboxilasa	+	-	+	+	-	-	-	+	+
Lisina deaminasa	-	-	-	-	-	-	-	+	+
MR	+	+	+	+	+	+	+	-	-
VP	-	-	-	-	+	+	+	v	-
Citrato	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Úrea	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Microbiología Básica

127

Figura 19. Reacciones bioquímicas en TSI, LIA, SIM, CITRATO DE SIMMONS



Figura 20. Obtención del látex de papaya silvestre

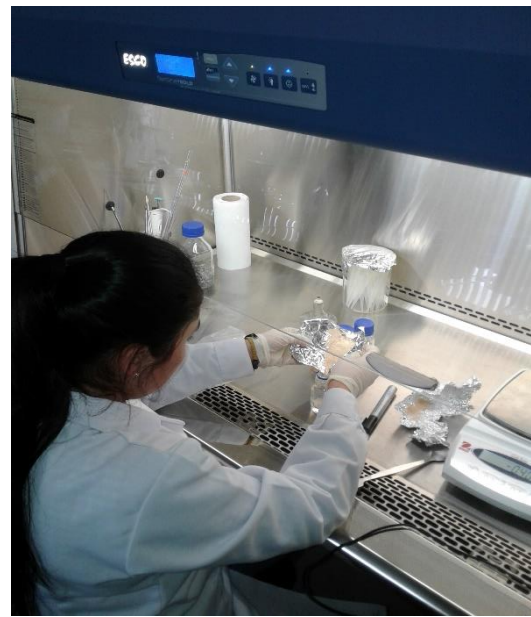
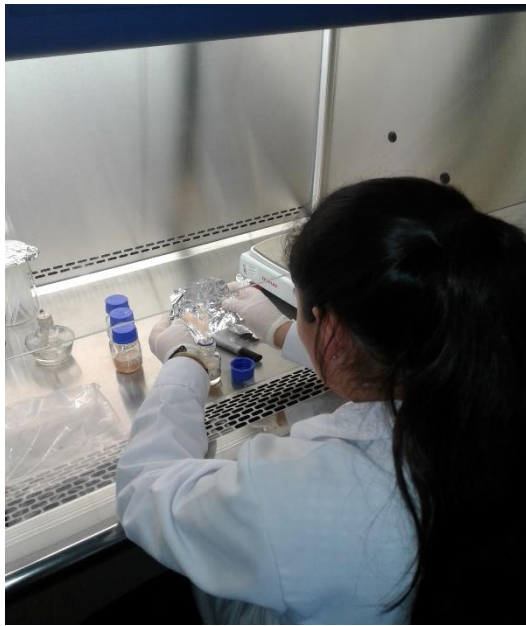


Figura 21. Preparación de tratamientos (látex de papaya silvestre diluido con agua destilada)

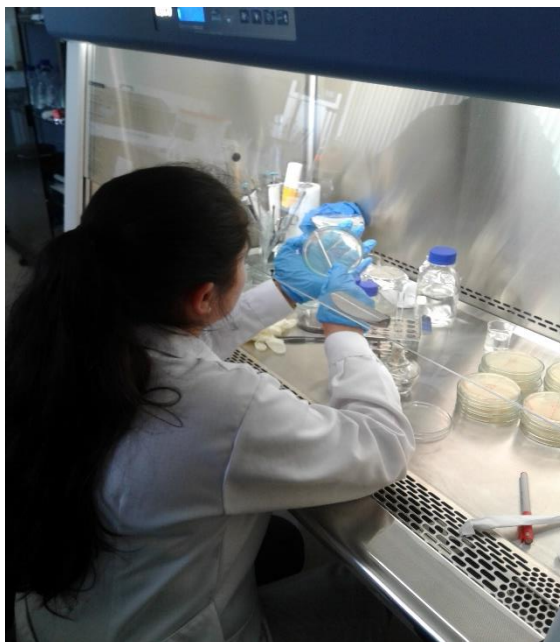


Figura 22. Siembra de bacterias en placas con agar Müller- Hinton para evaluar el efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre.

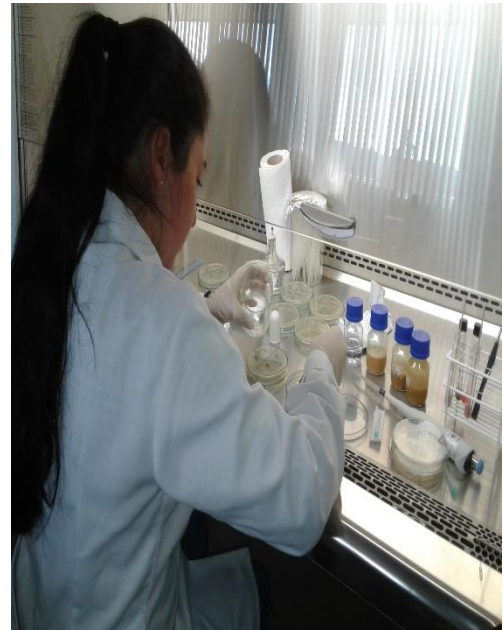


Figura 23. Inserción de los discos en las placas de agar Müller- Hinton



Figura 24. Empapado de los discos de sensibilidad en el contenido del tratamiento correspondiente y colocación del mismo en las respectivas placas Petri con agar Müller Hinton sembradas con las bacterias a evaluar.

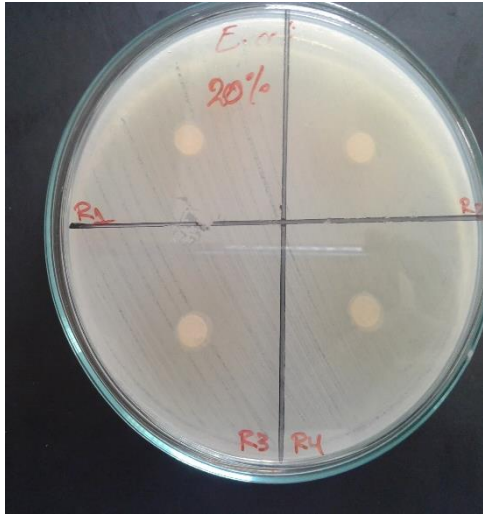


Figura 25. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre (concentración de 20 %: frente a *Escherichia Coli* (izquierda) y *Salmonella Typhimurium* (derecha).

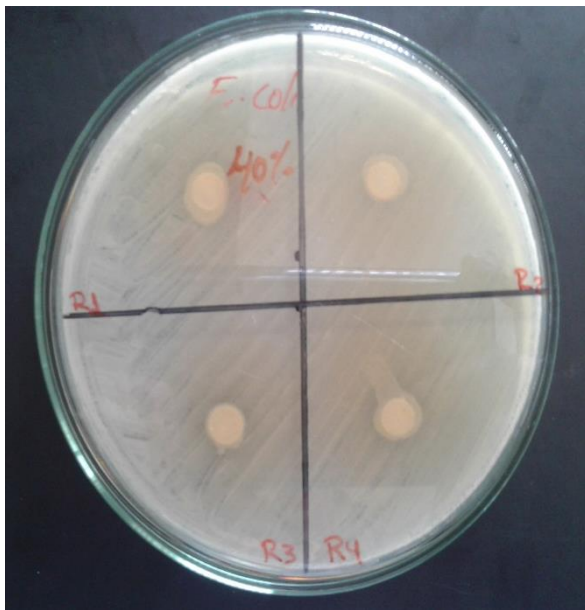


Figura 26. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre (concentración de 40 %: frente a *Escherichia Coli* (izquierda) y *Salmonella Typhimurium* (derecha).

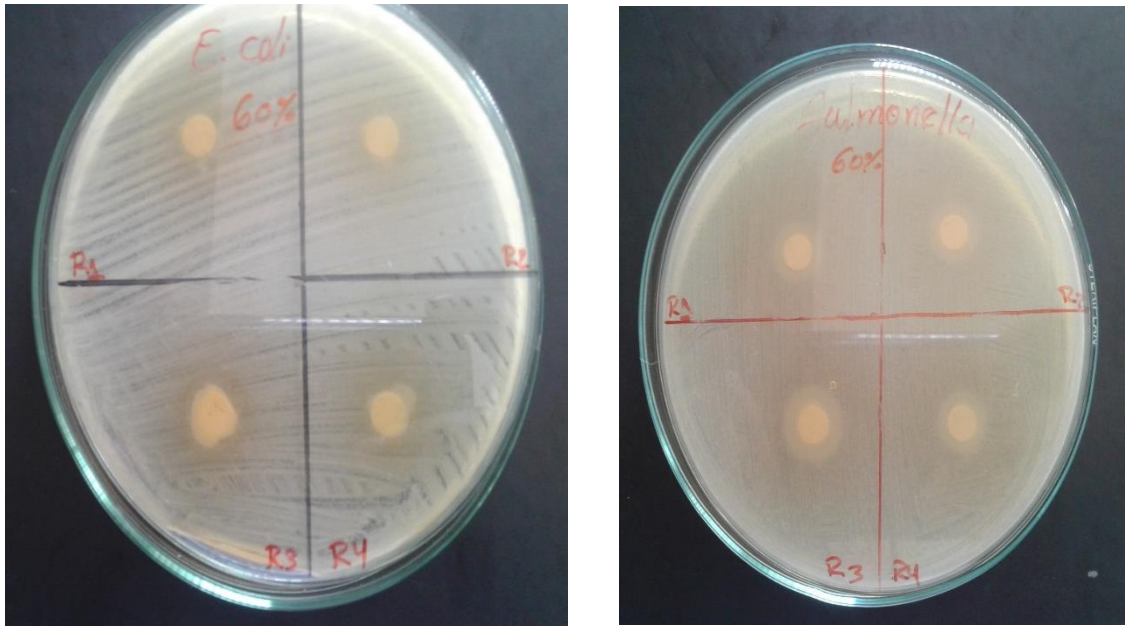


Figura 27. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del látex de papaya silvestre (concentración de 60 %: frente a *Escherichia Coli* (izquierda) y *Salmonella Typhimurium* (derecha).