

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA**



**“EFECTO IN VITRO DEL “yana warmi” (*Plumbago
coerulea*) EN DERMATOFITOS AISLADOS DEL
“cuy” (*Cavia porcellus*). AYACUCHO, 2009”**

Tesis para Obtener el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIA

Presentado por
JENNY DE LA CRUZ AYALA

Ayacucho – Perú

2012

**“EFECTO IN VITRO DEL “yana warmi” (*Plumbago coerulea*) EN
DERMATOFITOS AISLADOS DEL “cuy” (*Cavia porcellus*).
AYACUCHO, 2009”**

Recomendado : 16 de julio de 2010
Aprobado : 21 de julio de 2010



M.Sc. FELIPE ESCOBAR RAMÍREZ
Presidente del Jurado



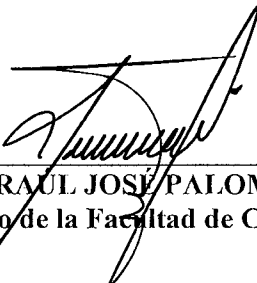
Mg. CARLOS ALBERTO PISCOYA SARMIENTO
Miembro del Jurado



M.V. GLORIA BETTI ADRIANZEN FACUNDO
Miembro del Jurado



M.V. ALDO ALEXI CIPRIAN CARREÓN
Miembro del Jurado



M.Sc. ING. RAUL JOSÉ PALOMINO MARCATOMA
Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias

A mis padres: Marcelino De la Cruz,
Francisca Ayala; mis hermanos: Vladimiro,
Roger, Consuelo, Francisco, Gloria y Juana
por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Agrarias por haberme dado la oportunidad de estudiar en la Escuela de Formación Profesional de Medicina Veterinaria, compartiendo momentos diversos con los compañeros de la escuela, docentes, administrativos y estudiantes en general.

A la M.V. Gloria Betti Adrianzen Facundo, por su apoyo, a todos los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Medicina Veterinaria quienes de alguna manera me dieron motivación y apoyo para culminar mis estudios superiores.

ÍNDICE

RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1.	ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	4
2.2.	PLUMBAGO COERULEA “yana warmi”	4
2.2.3	Descripción botánica	5
2.2.4	Hábitat	6
2.2.5	Propiedades medicinales	6
2.2.6	Fitoquímica del <i>Plumbago coerulea</i>	7
2.3.	<i>Cavia pocellus</i> “cuy”	8
2.3.2.	Distribución y dispersión actual	8
2.3.3	Características del comportamiento	9
2.3.4	Características morfológicas	9
2.3.5.	Sistemas de producción	11
2.3.6.	Sanidad en cuyes	11
2.3.7.	Enfermedades infecciosas	12
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1	LUGAR DE ESTUDIO	15
3.2	MATERIAL DE ESTUDIO	16
3.3.	POBLACIÓN Y MUESTRA	17
3.5.	DISEÑO ESTADÍSTICO.....	18
3.6.	PROCESAMIENTO EXPERIMENTAL	18
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
VI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
	ANEXOS.....	38

EFFECTO IN VITRO DEL “yana warmi” (*Plumbago coerulea*) EN DERMATOFITOS AISLADOS DEL “cuy” (*Cavia porcellus*). Ayacucho, 2009.

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el departamento de Ayacucho, provincia de Huamanga, distrito de Ayacucho. La población en estudio estuvo conformada por cuyes de una granja familiar – comercial de aproximadamente 1500 animales de crianza, en el distrito de Carmen Alto. Se considero una muestra de 10 cuyes con dermatomicosis. Se realizó el experimento con el objetivo principal de conocer el efecto in vitro del *Plumbago coerulea* “yana warmi” en dermatofitos aislados de *Cavia porcellus* “cuy”, para el cual se considero cinco tratamientos con cuatro repeticiones, dispuestos en el Diseño Completamente Aleatorio (DCA). Los tratamientos T1, T2 y T3 correspondieron a la aplicación de soluciones diluidas al 20%, 30% y 40% de extracto de *Plumbago coerulea*; T4 y T5 la aplicación de Griseofulvina y Fluconazol; en los que se evaluaron los halos de crecimiento inhibitorio, con cuyos resultados se procedió al análisis de varianza y prueba de Tukey (0.05). Se concluye que el “yana warmi” *Plumbago coerulea*, inhibió el crecimiento de hongos dermatofitos aislados de “cuy” *Cavia porcellus* habiéndose considerado el siguiente orden de inhibición: Extracto al 40% de “yana warmi” (12.5 y 13.25 mm. de diámetro de halo de inhibición en la primera y segunda prueba, respectivamente); seguido del 30% de extracto de “yana warmi” (10.75 y 10.50 mm) y 20% de extracto de “yana warmi” (8.0 y 8.25 mm) (P<0.05).

Palabras clave: Hongos dermatofitos, *Plumbago coerulea*, *Cavia porcellus*.

I. INTRODUCCIÓN

La crianza de cuyes en el departamento de Ayacucho cobra importancia debido a un déficit de carne considerable para abastecer el mercado local, nacional e internacional.

Los cuyes en el proceso de reproducción, crecimiento y desarrollo pueden padecer de una serie de enfermedades bacterianas, víricas, parasitarias o fúngicas que podrían ocasionar la muerte o afectar su desarrollo generando pérdidas económicas a los criadores; los que mayormente se encuentran en círculos familiares. La crianza al interior del círculo familiar no se realiza con técnicas acorde al avance de la ciencia, no obstante aplican métodos tradicionales que fueron heredados de sus padres y que en alguna medida permite generar ganancias económicas, las que sin duda pueden ser mejoradas.

De este modo; se ha observado con preocupación que los cuyes al ser destetados padecen de enfermedades fúngicas que afecta su normal desarrollo y merma la ganancia de peso. De otro lado este problema resulta siendo mayor, pues se desconocen las especies de hongos que ocasionan estas enfermedades, lo que conlleva a una imprecisión en el tratamiento pues no se puede emplear un

antifungico comercial especial para el tipo de animales, tampoco existe la posibilidad de emplear medicamentos comerciales que son aplicados a otras especies de animales debido al elevado costo de éstos, traduciéndose en un incremento elevado de los costos de producción en la crianza de cuyes.

Una alternativa de control y curación de enfermedades fúngicas, lo constituye la medicina casera y afortunadamente en el Perú, por la diversidad biológica se cuenta con innumerables plantas medicinales que se estuvieron utilizando tradicionalmente desde la antigüedad en la curación de ciertas enfermedades tanto del hombre como de los animales; en razón a ello se considera a la planta *Plumbago coerulea* “yana warmi” cuyos efectos sobre hongos viene siendo comprobado; así Vargas (2003), encontró el efecto antimicótico in vitro del *Plumbago coerulea* “yana warmi” en dermatofitos aislados de humanos; en tal sentido debido a estas experiencias de medicina casera, en el presente trabajo de investigación se plantea el uso de extractos de *Plumbago coerulea* “yana warmi” como fungicida, de manera que constituya una alternativa en el control de hongos presentes en cuyes, habiéndose planteado los siguientes objetivos:

General:

Conocer el efecto in vitro del *Plumbago coerulea* “yana warmi” en dermatofitos aislados de *Cavia porcellus* “cuy”.

Específicos:

- Aislar hongos dermatofitos de *Cavia porcellus* “cuy”.
- Determinar el efecto in vitro del *Plumbago coerulea* “yana warmi” en dermatofitos aislados de *Cavia porcellus* “cuy” a una concentración de 20%, 30%, 40% de extracto.
- Comparar el efecto antimicótico del *Plumbago coerulea* “yana warmi” con dos antimicóticos comerciales (Griseofulvina y Fluconazol).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

No se han hallado investigaciones referidas al efecto del *Plumbago coerulea* “yana warmi” en dermatofitos aislados de *Cavia porcellus* “cuyes”, tampoco en otras especies de animales mamíferos de importancia económica para nuestro medio. No obstante existen evidencias de que el *Plumbago coerulea* posee un efecto positivo in vitro, en dermatofitos aislados de humanos, tal como reporta Vargas (2003).

2.2 PLUMBAGO COERULEA “YANA WARMI”

2.2.1 Ubicación taxonómica de la planta

La clasificación del *Plumbago coerulea* de acuerdo a Vargas (2003), es la siguiente:

División	:	Antofitas
Clase	:	Dicotiledónea
Sub Clase	:	Metaclamideae

Orden	:	Plumbaginales
Familia	:	Plumbaginaceae
Género	:	Plumbago
Nombre científico	:	<i>Plumbago coerulea</i>
Nombre vulgar	:	“yana warmi”.

2.2.2 Descripción botánica.

De acuerdo a la descripción de Limaylla (1986), el *Plumbago coerulea* es una planta herbácea subfrutice, perenne, que alcanza hasta 90 cm de altura, los tallos delgados, erguidos de color morado oscuro o negruzco, aristado, bastante ramoso, provisto de pelos glandulares que lo hacen pegajoso. Las hojas son simples. Ovaladas, alternas, penninervias, de bordes dentados, glabras, caducifolias se desprenden en invierno y retoñan en primavera.

La inflorescencia en pequeñas espigas axilares. Las flores son bisexuales, heteroclamídeas, tubuladas, pentámeras; cáliz con 5 pétalos angostos, ligeramente unidos en la base, con 5 dientes en la base. La corola formada por 5 pétalos de color azul violáceo, terminados en 5 lóbulos. El androceo está formado por 5 estambres, el gineceo de ovario súpero. El fruto de cápsula de dehiscencia valvar.

2.2.3 Hábitat:

Es una planta común y nativa que crece en los cercos asociados a la tuna, molle, cabuya, en el borde de los caminos y se la puede ubicar hasta los 3000 m.s.n.m. (Vargas, 2003).

2.2.4 Propiedades medicinales:

Según Limaylla (1986), a las plantas de *Plumbago coerulea* se le atribuyen las siguientes propiedades medicinales:

- La planta “yana warmi” tiene la propiedad de ser inflamante lacerante, tóxica, antídoto, abortiva, analgésica.
- De uso externo, es intensamente tóxica, soportable en bajas dosis.
- Debe su nombre a que antiguamente se le empleaba como antídoto en la intoxicación del plomo.
- Las hojas y raíces tienen un efecto vesicant y caústico en la piel.
- En la India la planta es utilizada como abortiva introduciéndolo en la vagina para producir una acción irritante.
- En África meridional utilizan el efecto irritante de la planta para producir hiperpigmentación post inflamación con propósitos cosméticos.
- Las hojas hervidas, desinfectan las heridas y curan la sarna.
- Las hojas frescas maceradas en alcohol se usa en los dolores reumáticos.
- El jugo de la raíz destruye verrugas y callos.

2.2.5 Fitoquímica del *Plumbago coerulea*:

Estudios realizados por Limaylla (1986), demuestran que la planta presenta triterpenoides, esteroides, flavonoides, Quinonas, también contiene derivados benzo o naftoquinónico, creen que se trata de la alfa-metil-8-oxinafto-quinona, Hidroxilo- fenólico. Así mismo se conoce que contiene Plumbagín, que es un compuesto de ciclo redox que genera superóxido, una especie de reactivo que puede dañar varias biomoléculas y tienen una acción vesicant; el plumbagín es muy activo para la leishmaniasis, es bacteriostática, es fungistática, citostática.

2.3 CAVIA PORCELLUS “CUY”

2.3.1 *Cavia porcellus* “cuy”

Según Chauca (1997), en la escala zoológica se ubica al cuy, de acuerdo a la siguiente clasificación zoológica:

Orden	:	Rodentia
Suborden	:	Hystricomorpha
Familia	:	Caviidae
Género	:	<i>Cavia</i>
Especie	:	<i>Cavia aperea aperea</i> Erxleben <i>Cavia aperea aperea</i> Lichtenstein <i>Cavia cutleri</i> King <i>Cavia porcellus</i> Linnaeus <i>Cavia cobaya</i> .

2.3.2 Distribución y dispersión actual

El hábitat del cuy es muy extenso. Se han detectado numerosos grupos en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, noroeste de Argentina y norte de Chile, distribuidos a lo largo del eje de la cordillera andina. Posiblemente el área que ocupan el Perú y Bolivia fue el hábitat nuclear del género *Cavia*. Este roedor vive por debajo de los 4 500 metros sobre el nivel del mar, y ocupa regiones de la costa y la selva alta (Chauca, 1997).

2.3.3 Características del comportamiento

Por su docilidad los cuyes se crían como mascotas en diferentes países. Como animal experimental en los bioterios se aprecia por su temperamento tranquilo, que se logra con el manejo intensivo al que son expuestos, principalmente algunas líneas albinas. El cuy como productor de carne ha sido seleccionado por su precocidad y su prolificidad. Sin embargo, se tiene dificultad en el manejo de los machos en recría. Hacia la 10ma semana inician las peleas en los que lesionan la piel, además de bajar sus índices de conversión alimenticia. En el caso de las hembras muestran mayor docilidad por lo que se las puede manejar en grupos de mayor tamaño (Chauca, 1997).

2.3.4 Características morfológicas

La forma de su cuerpo es alargada y cubierto de pelos desde el nacimiento. Los machos desarrollan más que las hembras, por su forma de caminar y ubicación de los testículos no se puede diferenciar el sexo sin coger y observar los genitales. El Instituto Nacional de Investigación Agrícola (INIA, 2005) describe las partes del

cuerpo de los animales:

Cabeza. Relativamente grande en relación a su volumen corporal, de forma cónica y de longitud variable de acuerdo al tipo de animal. Las orejas por lo general son caídas, aunque existen animales que tienen las orejas paradas porque son más pequeñas, casi desnudas pero bastante irrigadas.

Los ojos son redondos vivaces de color negro o rojo, con tonalidades de claro a oscuro. El hocico es cónico, con fosas nasales y ollares pequeños, el labio superior es partido, mientras que el inferior es entero, sus incisivos alargados con curvatura hacia dentro, crecen continuamente, no tienen caninos y sus molares son amplios. El maxilar inferior tiene las apófisis que se prolongan hacia atrás hasta la altura del axis.

La fórmula dentaria corresponde a:

$I(1/1), C(0/0), PM(1/1), M(3/3) = \text{Total } 20$

Cuello. Grueso, musculoso y bien insertado al cuerpo, conformado por siete vértebras de las cuales el atlas y el axis están bien desarrollados.

Tronco. De forma cilíndrica y está conformada por 13 vértebras dorsales que sujetan un par de costillas articulándose con el esternón, las 3 últimas son flotantes.

Abdomen. Tiene como base anatómica a 7 vértebras lumbares, es de gran volumen y capacidad.

Extremidades. En general cortas, siendo los miembros anteriores más cortos que

los posteriores. Ambos terminan en dedos, provistos de uñas cortas en los anteriores y grandes y gruesas en las posteriores. El número de dedos varía desde 3 para los miembros posteriores y 4 para los miembros anteriores. Siempre el número de dedos en las manos es igual o mayor que en las patas. Las cañas de los posteriores lo usan para pararse, razón por la cual se presentan callosos y fuertes.

2.3.5 Sistemas de producción

Según Chauca (1997), se ha podido identificar tres diferentes niveles de producción, caracterizados por la función que ésta cumple dentro del contexto de la unidad productiva. Los sistemas de crianza identificados son el familiar, el familiar-comercial y el comercial. En el área rural el desarrollo de la crianza ha implicado el pase de los productores de cuyes a través de los tres sistemas.

En el sistema familiar el cuy provee a la seguridad alimentaria de la familia y a la sostenibilidad del sistema de los pequeños productores. El sistema familiar-comercial y comercial genera una empresa para el productor, la cual produce fuentes de trabajo y evita la migración de los pobladores del área rural a las ciudades.

2.3.6 Sanidad en cuyes

La mortalidad existente en la crianza de cuyes, como consecuencia del desconocimiento de alternativas en el área de salud animal, es lo que limita el desarrollo de la crianza. En los países andinos la crianza de cuyes se realiza de manera tradicional en el sistema familiar. Se viene haciendo esfuerzos a fin de mejorar este sistema difundiendo tecnología apropiada para mejorar su

producción. Siendo los problemas sanitarios los que provocan, de manera que se viene identificando las causas de mortalidad para tomar medidas de prevención y control (Chauca, L. 1997).

Los cuyes pueden padecer enfermedades bacterianas, virales, parasitarias y fúngicas. Las causas que predisponen las enfermedades son los cambios bruscos en su medio ambiente, considerando variaciones de temperatura, alta humedad, exposición directa a corrientes de aire, falta de limpieza en camas, deficiente alimentación, entre otras (Chauca, L. 1997).

2.3.7 Enfermedades infecciosas

El cuy como cualquier especie es susceptible a sufrir enfermedades infecciosas, pudiendo ser ellas de diversa naturaleza. El riesgo de enfermedad es alto, pero factible de ser prevenida con adecuada tecnología de explotación. La enfermedad, de cualquier etiología, deprime la producción del criadero, traduciéndose en pérdidas económicas para el productor de cuyes (Chauca, L. 1997).

En la actualidad dado que la crianza de cuyes, pretende consolidarse como una explotación intensiva basada en aspectos técnicos de manejo, alimentación y mejoramiento genético, urge la necesidad de poseer un adecuado programa sanitario, que asegure el mantenimiento de los logros obtenidos en las otras disciplinas.

a.- Micosis

Etiología. Es una afección de la piel que se transmite por contacto entre animales enfermos o por infestación a través de instalaciones o implementos contaminados. El agente causal es el *Trichophyton mentagrophytes* (Fernández, 2005).

Síntomas. Alopecia, piel enrojecida, lesiones alrededor de los ojos, nariz y en el lomo u otras partes del cuerpo. La sintomatología característica es la caída del pelo en forma circunscrita a manera de anillos, descamación de la parte afectada y comezón intensa. Por lo general la afección se inicia en la cabeza pudiendo extenderse en las diferentes partes del cuerpo. Dermatitis e hiperqueratitis (Fernández, 2005).

b.- Dermofitos

Según Fernández (2005), se trata de un conjunto de microorganismos que, evolutivamente, se han especializado en la utilización de la queratina como sustrato nutritivo-energético y disponen del sistema enzimático adecuado para la metabolización de la queratina presente en los seres vivos o bien la que estos depositan en el suelo.

En general, desde un punto de vista práctico, se entiende como tal cualquier hongo capaz de producir enfermedades (infecciones superficiales) en la piel y órganos anexos (tiñas o dermatofitosis). Asimismo, esta definición parece implicar un marcado carácter parasitario hacia los tejidos queratinizados, no se debe olvidar que hay otros hongos no incluidos en esta denominación, como los queratinofílicos de los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Acremonium*,

Cladosporium, *Penicillium* y *Scopulariopsis*, que también pueden causar infecciones en la piel y órganos anexos de hombres y animales (García y Col, 2000).

De acuerdo a Cabañes, (2000), Entre los dermatofitos zoófilos, que originan micosis en los animales, y a partir de los cuales se infecta el hombre, se puede citar a *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton equinum*, *Microsporum gallinae*, etc.

Patogenesidad

Al respecto Jungerman, (1977) refiere que el dermatofito generalmente no es capaz de sobrevivir a una reacción inflamatoria, por ello que tiende a desplazarse hacia la superficie lejos de la reacción inflamatoria, y fijar su residencia en el tejido normal adyacente, los mismos eventos inflamatorios que ocurre originalmente, se repite en la nueva residencia del dermatofito, y otra vez el microorganismo se desplaza periféricamente hacia la piel normal adyacente.

Es así que el dermatofito para mantenerse en la piel de los animales, depende de no causar una reacción inflamatoria en la piel por lo que el dermatofito tiene para establecerse en la piel debe competir con la flora bacteriana normal; generar resistencia en la piel sin provocar lesión reconocible y finalmente poder establecer resistencia en la piel y producir enfermedad

Tratamiento y control

Fernández,(2005) propone para el tratamiento y control de los dermatofitos a los siguientes:

- Tratamiento tópico: sulfato de cobre al 5 por ciento y espolvoreo de polvos sulfurosos.
- Vía oral: griseofulvín 60 mg/kg, durante 10 días
- Cloruro de benzalconio al 0.1% en solución acuosa tiene acción fungicida contra el dermatofito, Trichophyton sp. En la piel del cuy.
- El clotrimazol es un agente antimicótico de amplio espectro, usado para el tratamiento de afecciones dermatológicas causadas por diferentes especies de dermatofitos patógenos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE ESTUDIO

El desarrollo del experimento se produjo en el Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Formación Profesional de medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, que posee la siguiente ubicación geográfica:

- Región : Ayacucho
- Provincia : Huamanga
- Distrito : Ayacucho
- Altitud : 2 765 m.s.n.m

3.2 MATERIAL DE ESTUDIO

3.2.1 Recursos biológicos

a) **Animales empleados;** se utilizan *Cavia porcellus* “cuy” se trata de animales enfermos, quienes presentan dermatomicosis en número de diez.

b) **Planta medicinal;** se emplea plantas del genero plumbago, *Plumbago coerulea* “yana warmi” debido a su principio activo, el plumbagin.

3.2.2. Materiales y equipos

-	Autoclave	1 unidad
-	Microscopio compuesto	1 unidad
-	Estufa calibrada a 30°C	1 unidad
-	Agar Saboraud	100 g
-	Placas de Petri	20 unidades.
-	Tubos de prueba con tapa	50 unidades
-	Balones de vidrio de 1 litro	2 unidades
-	Asa de Kolle	2 unidades
-	Papel resma	10 pliegos
-	Alcohol yodado	1 litro
-	Hisopos estériles	100 unidades
-	Guantes quirúrgicos	20 unidades.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.3.1. Población

Se consideró la población animal de una granja familiar - comercial del distrito de Ayacucho, la misma que se encontró constituida por una población total de 1 500 cuyes.

3.3.2 Muestra

La muestra obtenida a partir de la población fue de 10 cuyes con signos de dermatomicosis.

3.4 TRATAMIENTOS

Los tratamientos del experimento son cinco, cuya descripción se detalla en el cuadro N° 3.1

Cuadro N° 3.1 tratamiento y descripción; empleados en el experimento

Tratamientos	Descripción
T1	Extracto de <i>Plumbago coerulea</i> al 20%
T2	Extracto de <i>Plumbago coerulea</i> al 30%
T3	Extracto de <i>Plumbago coerulea</i> al 40%
T4	Fármaco Griceofulvina
T5	Farmaco Fluconazol

3.5 DISEÑO ESTADISTICO

El experimento in vitro se condujo en el Diseño Completamente Aleatorio (DCA), con 5 tratamientos y 4 repeticiones, haciendo un total de 20 unidades experimentales; cuyo modelo aditivo lineal es:

$$Y = \mu + T_i + \varepsilon_i$$

Donde:

Y = Variable dependiente

μ = Media general

T_i = Efecto de los tratamientos

ε_i = Error experimental

3.6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.6.1 Aislamiento e identificación de los dermatofitos de *Cavia porcellus* “cuy”

a) Obtención de cepas

- Una vez seleccionados los 10 cuyes enfermos con dermatomicosis, fueron trasladados al Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Formación profesional de Medicina Veterinaria.
- Se preparó placas petri con agar sabouraud considerando las normas de

bioseguridad y esterilidad.

- Se cortaron los pelos de las áreas afectadas con micosis en los cuyes enfermos, para luego limpiar la zona afectada con agua estéril.
- A continuación haciendo uso de unas pinzas, se tomaron muestras de las áreas infectadas del cuy, para ser sembradas en placas petri con agar sabouraud, previamente preparadas.
- Las placas petri sembradas fueron envueltas con papel resma y se llevaron a una incubadora a 37°C durante 7 días.
- Cumplido el periodo se procedió a aislar las cepas en tubos de prueba con tapa de baquelita (cepario).
- Obtenidas las cepas puras de dermatofitos se cultivaron durante 3-7 días, y luego ser conservadas en refrigeración hasta el momento de instalar el experimento.

b) Identificación de hongos dermatofitos “Técnica de Microcultivo”

- Haciendo uso de un bisturí se procedió a cortar trozos de agar sabouraud de dimensiones $0.6 \times 0.6 \text{ mm}^2$ y se deposita sobre una lamina portaobjetos.
- Empleando una ansa de siembra se procede a sembrar una pequeña porción del cultivo de hongos en los cuatro vértices del agar sabouraud.
- Se procede a cubrir con una laminilla para luego depositar la lamina en

una placa petri, la misma que contiene un trozo de algodón estéril húmedo.

- Se deja incubar al medio ambiente por un periodo de 7 días.
- Trascurrido los 7 días con ayuda de una pinza se levanta la laminilla, y se ubica sobre una lamina portaobjeto, el cual contiene azul de lacto fenol, para finalmente observar al microscopio y proceder con la identificación.

3.6.2 Obtención del extracto de *Plumbago coerulea* “yana warmi”

- Las plantas de *Plumbago coerulea* “yana warmi” fueron colectadas en la localidad de Huatatas y fueron transportadas al laboratorio en bolsas de plástico adecuadamente etiquetadas.
- Una vez en el laboratorio se picaron en trozos pequeños y se procedió a licuar con alcohol etílico de 96°.
- Licuado el vegetal se procedió a tamizar para guardar el extracto en frascos de vidrio oscuro de boca ancha.
- En el extracto obtenido se procedió a separar el alcohol utilizando baño maria, con el cual se logró evaporar el alcohol, dejándose libre de éste y así obtener un extracto concentrado, al cual se le denominó extracto de *Plumbago coerulea* al 100%.
- A partir del extracto concentrado de *Plumbago coerulea* (100%), se procedió a las diluciones correspondientes a los tratamientos, con el detalle que se muestra en el cuadro N° 3.2

Cuadro 3.2 proporciones de extracto empleados para las concentraciones deseadas.

Sustancia	Concentración de las diluciones y volúmenes de mezcla (ml)		
	20%	30%	40%
Extracto de “yana warmi”	2 ml	3 ml	4 ml
Agua destilada estéril	8 ml	7 ml	6 ml

3.6.3 Efectividad anti fúngica del *Plumbago coerulea* “yana warmi”, en condiciones *in vitro*.

a) Trabajos previos

- Se inicia con el preparado de caldo sabouraud, en el cual se cultivaron las cepas de dermatofitos aislados, durante 7 días a 37°C hasta la producción de esporas.
- A cada unidad de placas petri de un total de 20 (total de tratamientos) conteniendo agar saboraud, se vertieron 0.2 ml del caldo de esporas anterior.
- Un total de 20 unidades de antibiograma fueron embebidos con los extractos diluidos, así como con los fármacos; los que corresponden a igual número de tratamientos.

b) Instalación del experimento *in vitro*

- Sobre las placas con agar sabouraud y sembradas con 0.2 ml de cepas de

dermatofitos, se ubicaron al centro los discos embebidos de antibiograma de acuerdo a los tratamientos.

- Las placas fueron incubadas a 37°C durante 7 días, al cabo del cual se procede con la evaluación correspondiente

3.7 PARÁMETROS DE EVALUACIÓN

- La evaluación del experimento in vitro consistió en medir el ancho de los halos de inhibición de crecimiento de hongos, los que fueron expresados en cm.
- Identificación del género de hongo dermatofito

3.8 EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

Los resultados obtenidos, se sometieron a evaluación mediante el análisis de variancia y pruebas de contraste de Tukey.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 DEL EFECTO ANTIFUNGICO DEL *Plumbago coerulea* “yana warmi”

a) Primera prueba

En el cuadro N° 01-A del anexo, se muestra el análisis de varianza de los halos de inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos aislados de la *Cavia porcellus* “cuy”, en el que se observa diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.01$) entre tratamientos y realidad la prueba de Tukey (0.05) que se muestra en el gráfico N° 01, se observa que el extracto al 40% de *Plumbago coerulea* “yana warmi” (Imagen N° 01) permite en promedio mayor halo de inhibición de crecimiento de hongos dermatofitos que alcanza los 12.50 mm; seguido del segundo tratamiento (dilución de extracto de “yana warmi” al 30%) con un halo de 10.75 mm de inhibición, posteriormente los halos resultan menores, así con 8.0 mm se obtiene con el extracto al 20.0%; que no se diferencia estadísticamente del medicamento antimicótico comercial griseofulvina (7.25 mm). El último lugar es ocupado por el fluconazol con el cual el halo de inhibición del crecimiento de dermatofitos es de tan sólo 4.5 mm (Imagen N° 02)

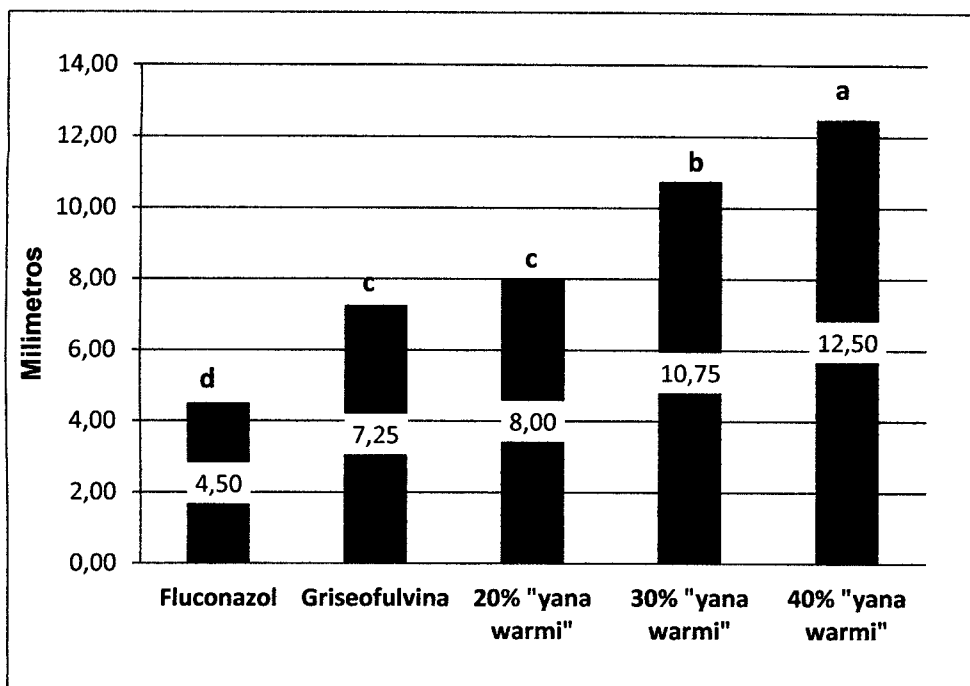


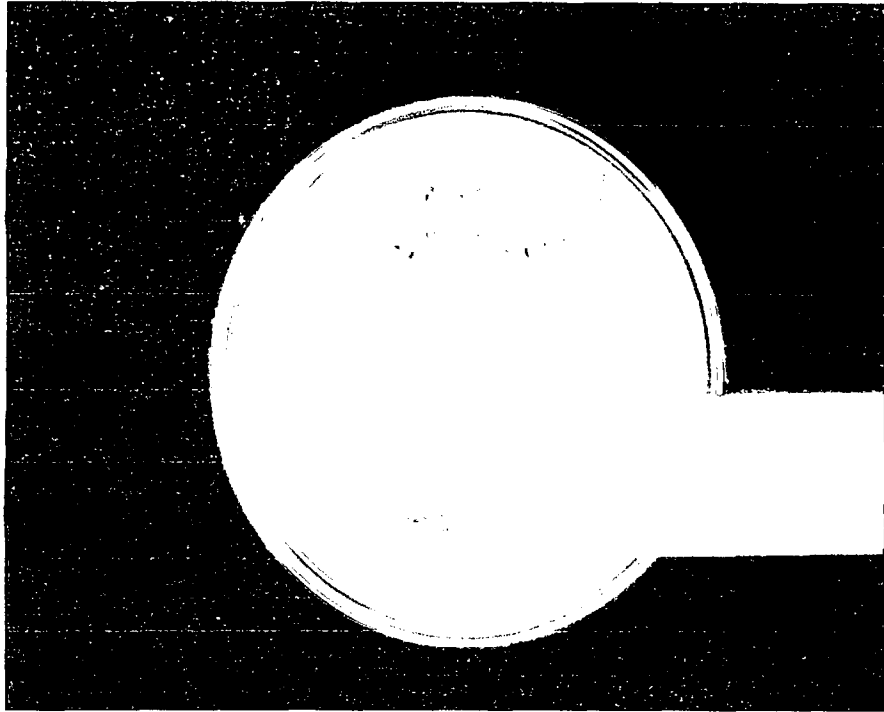
Gráfico N° 01. Prueba de Tukey de los halos de inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos con extracto de *Plumbago coerulea* "yana warmi". Primera prueba. Ayacucho – 2009.

Otros trabajos de investigación demuestran la efectividad del *Plumbago Coerulea* sobre hongos procedentes de otras especies infectadas; así Vargas (2003), evaluando el efecto antimicótico del *Plumbago coerulea* "yana warmi" sobre hongos dermatofitos y *Candida albicans*, desarrollado en Ayacucho; encontró efecto altamente significativo ($P < 0.01$) en la interacción concentración vs parte de la planta inhibiendo el crecimiento en cepas *Microsporum gypseum*, indicando que el mayor promedio de inhibición se dio en la concentración de 100% con un halo promedio de 23.93 mm, y el menor promedio se dio con la concentración de 25% con el que alcanzó un promedio de 13.13 mm. De manera similar halló

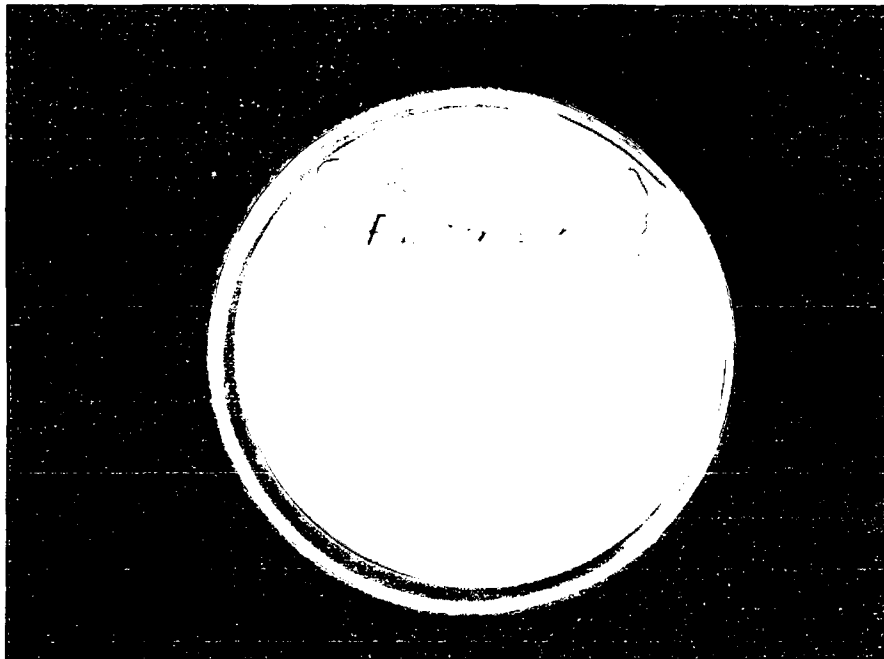
diferencia altamente significativa ($P < 0.01$) para el extracto etanólico, demostrándose que el mayor promedio de inhibición del crecimiento se dio en la concentración de 100% con un promedio de 25.60 mm y la menor inhibición se dio en la concentración de 25% con un promedio de 12.07 mm. Refiere también que en la comparación de los promedios de inhibición del extracto acuoso y extracto etanólico, no se halló diferencia estadística significativa ($t = -0.406$, $P = 0.724$), demostrándose que el *Plumbago Coerulea* en ambos extractos poseen efectos similares en la inhibición del crecimiento del *Microsporum gypseum*.



Imagen N° 01. Halo de inhibición crecimiento de hongos dermatofitos por efecto del *Plumbago coerulea* “yana warmi” al 40%. Primera prueba. Ayacucho, 2009.



(a)



(b)

Imagen N° 02. Halos de inhibición crecimiento de hongos dermatofitos por efecto del Griseofulvina (a) y Fluconazol (b). Primera prueba.

Ayacucho, 2009.

Comparando con los resultados obtenidos, en nuestro experimento se puede afirmar que los promedios de inhibición del extracto acuoso y etanólico hallados por Vargas (2003), son diferentes; con halos de inhibición mayores, en razón a que el mencionado autor utilizó el extracto de *Plumbago coerulea* concentrado, es decir al 100%; en tanto que en esta investigación la concentración máxima utilizada fue de 40%.

De otro lado las diferencias encontradas también se atribuyen a que Vargas, emplea dermatofitos aislados de humanos, quienes podrían tener características fisiológicas; así como respuesta de crecimiento frente al extracto de “yana warmi” diferentes a los dermatofitos procedentes de animales, en este caso como los del cuy.

Así mismo investigaciones de Chipana y Osnayo (2005), quienes comparan el uso de *Plumbago coerulea* “yana warmi” y clotrimazol; refieren que el uso diario de una solución de extracto de *Plumbago coerulea* de 1-5% de concentración, sobre los dermatofitos en niños menores de 10 años, produjo efecto curativo en un tiempo promedio de 5.8 días de curación; en tanto que aplicando interdiariamente la solución al 1% aumenta el tiempo de curación hasta los 12.6 días; finalmente, empleando en el tratamiento con Clotrimazol la curación se produjo en mayor tiempo (14 días). Las diferencias anteriores son atribuidas a la presencia del principio activo de la planta, denominado plumbagin o plumbagina, presente en concentraciones variables en tallos, hojas y raíces de la planta

Finalmente, se observa la variabilidad de resultados obtenidos en investigaciones con *Plumbago coerulea*; hecho que es explicable en razón a que cada dermatofito

ofrece resistencia microbiana frente a los compuestos sintéticos o sintetizados a nivel de laboratorio. Sin embargo cuando se trata de sustancia inorgánica extraídos en forma natural a partir de plantas y animales, tal resistencia no se produce y se muestra como una efectividad variable Vargas, (2003)

b) Segunda prueba

En el cuadro N° 01-B del anexo, se muestra el análisis de varianza de los halos de inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos por efecto de diferentes concentraciones de plumbago; en el que se observa, también diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.01$) entre tratamientos; demostrándose por segunda vez, este efecto.

En el gráfico N° 02, de la prueba de Tukey se muestran en barras, el ancho de los halos de inhibición de hongos dermatofitos aislados de la *Cavia porcellus* “cuy” frente al extracto de *Plumbago coerulea* “yana warmi” observándose diferencia estadística significativa ($P < 0.01$) entre tratamientos, así el mayor promedio (13.25 mm) de halo de inhibición se obtuvo con el extracto 40% de “yana warmi” (Imagen N 03), seguido del tratamiento con extracto al 30.0% con un promedio de 10.75 mm de halo de inhibición; finalmente con el tratamiento con extracto al 20.0% de 8.25 mm de ancho del halo de inhibición. El último grupo está constituido por aquellos tratamientos que Griseofulvina y Fluconazol quienes tuvieron halos de 6.5 y 4.5 mm respectivamente; los cuales comparativamente a los que se producen empleando las diferentes concentraciones del extracto de *Plumbago coerulea*, son mucho menores; lo que nos estaría indicando que probablemente se produzca cierta resistencia de los hongos a los fármacos

comerciales.

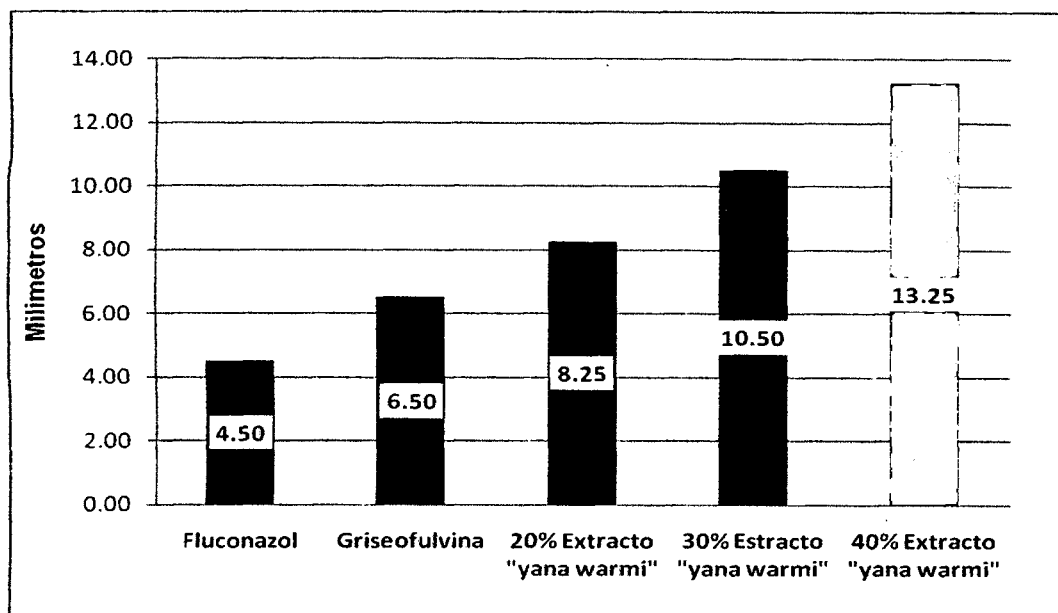


Gráfico N° 2. Prueba de Tukey de los halos de inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos con extracto de *Plumbago coerulea* "yana warmi". Segunda prueba. Ayacucho – 2009.

Igualmente, Vargas (2003), halló diferencia estadística significativa al evaluar dos extractos de *Plumbago coerulea*: acuoso y etanólico en dos diferentes concentraciones sobre cepas de *Trichophyton mentagrophyte*. De manera que el mayor promedio de inhibición del crecimiento con extracto acuoso se produjo empleando la concentración de 100% con 15.20 mm de halo de inhibición y la menor inhibición se dio con la concentración de 25% con un promedio de 6.80 mm. En tanto que con el extracto etanólico el mayor promedio de inhibición del crecimiento también es con la concentración del 100% (17.87 mm) y la menor inhibición se produjo con el 25% de extracto, que alcanzó a 7.60 mm.

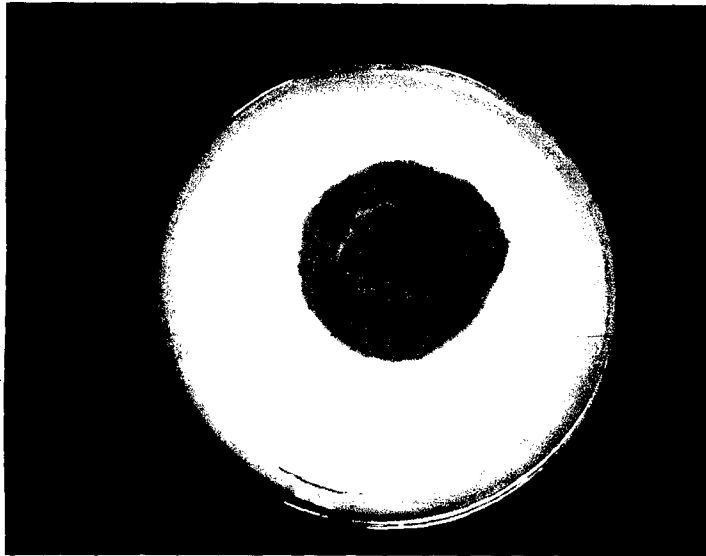


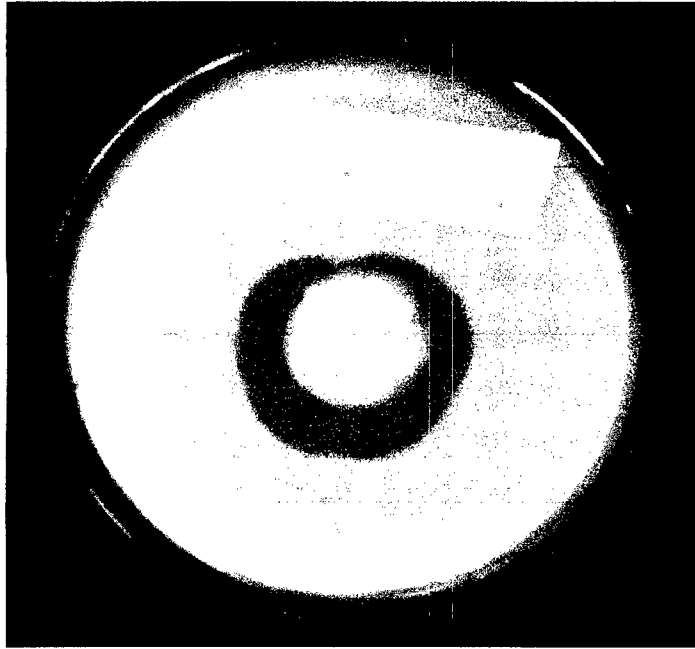
Imagen N° 03. Halo de inhibición crecimiento de hongos dermatofitos por efecto del *Plumbago coerulea* “yana warmi” al 40%. Segunda prueba. Ayacucho, 2009.

De otro lado las evaluaciones realizadas por Vargas (2003), encuentra que la mayor inhibición de crecimiento de hongos *Microsporum gypseum*, se produce empleando el extracto etanólico con 18.68 mm de halo inhibitorio, seguido del extracto acuoso con 18.13 mm, demostrándose la mayor sensibilidad del hongo *Microsporum gypseum* a los principios activos del “yana warmi”; particularmente en etanol.

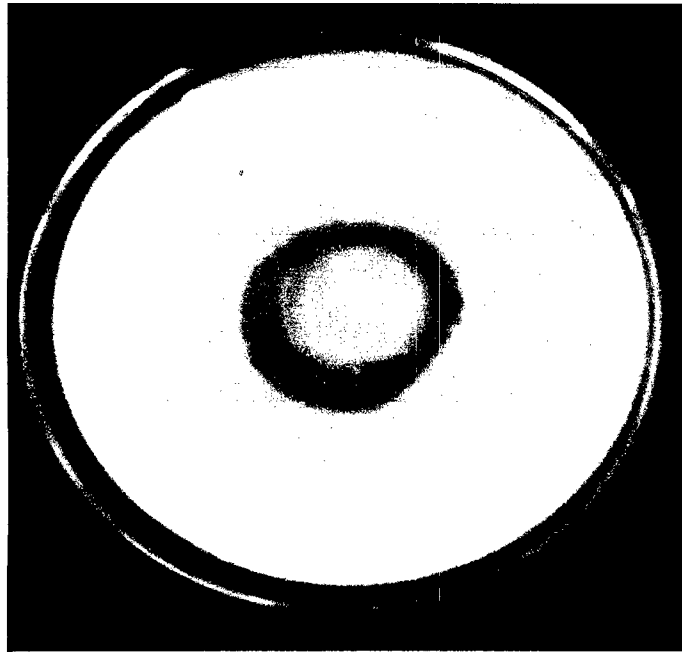
Nuestro trabajo demuestra que no se necesita emplear muy concentrado el extracto de *plumbago cerulea*, dado que existe respuesta, llegándose a controlar a los dermatofitos del “cuy” inclusive en niveles superiores a los obtenidos con productos comerciales.

En definitiva a través de diferentes trabajos de investigación y aprovechando la inmensa biodiversidad con lo que cuenta nuestro país existe una búsqueda creciente e incesante de plantas medicinales con principios activos que alivian y/o curan diferentes enfermedades; tal es así tenemos a Alvites (2006), quien emplea plantas medicinales como “manzanilla” y “romero” que en infusión, sirven para tratar infecciones dérmicas causadas por bacterias y hongos, los cuales utilizados en baños interdiarios, durante 15 días, son muy efectivas siendo más efectivas ($P < 0.05$).

De otro lado Aquino (2008), empleando el *Piper angustifolium* “matico” demuestra que los baños tópicos fueron efectivos para el tratamiento de infecciones dérmicas causadas por hongos y bacterias en conejos y pollos ($P < 0.05$).



(a)



(b)

Imagen N° 04. Halos de inhibición crecimiento de hongos dermatofitos por efecto del Griseofulvina (a) y Fluconazol (b). Segunda prueba.

Ayacucho, 2009.

4.2 DE LA IDENTIFICACIÓN DE HONGOS DERMATOFITOS DEL *Cavia porcellus* “CUY”

La imagen N° 05 muestra estructuras aisladas del dermatofito que en el “cuy” *Cavia porcellus* es la causa más común de dermatomicosis; se trata de estructuras características del dermatofito, que fueron identificadas como *Trichophyton sp.* Se trata de hongos cuya presencia provoca la más común de dermatomicosis en estos animales, aún cuando también existen algunas veces del tipo *Microsporum sp.* Cuyo denominador común es el de ser difíciles de tratar, porque ya adquirieron algún nivel de resistencia a los antifúngicos comerciales; siendo esta la razón máxima por la cual es de importancia la búsqueda de nuevos principios activos en plantas medicinales que están al alcance de la población con menores recursos; y que además resultan efectivas al aplicarse adecuadamente según la patología (Martínez, 2005).

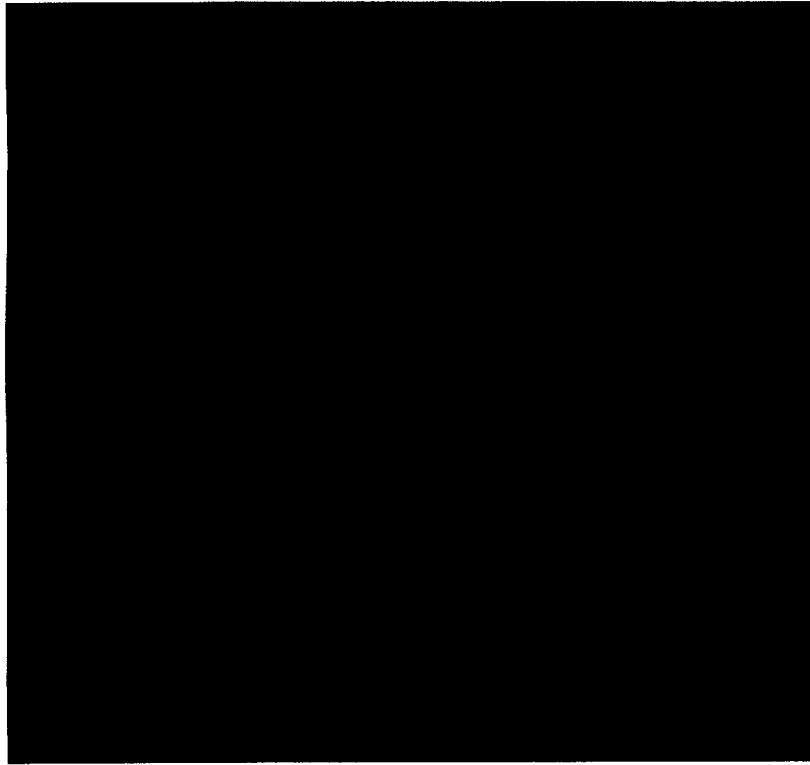


Imagen N° 05. Estructuras de *Trichophyton* sp. aislado de *Cavia porcellus* "cuy".

Ayacucho, 2009.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES:

Para las condiciones en las cuales se desarrolló el experimento los resultados obtenidos permite concluir:

- 1° los hongos dermatofitos aislados de cavia porcellus “cuy” son los *Trichophyton* sp.
- 2° El extracto de *plumbago coerulea* “yana warmi” al 40% muestra mayor eficiencia antimicótica de dermatofitos de cavia porcellus “cuy” seguidos de 30 y 20%.
- 3° los extractos de *plumbago coerulea* “yana warmi” poseen mayor eficiencia antimicótica que la griseofulvina y el fluconazol.

5.2 RECOMENDACIONES:

- 1° Se recomienda el uso del extracto de plumbago coerulea “yana warmi” para el control de dermatofitos en cuyes; en concentraciones de 40%.
- 2° Continuar investigando en la búsqueda de nuevas alternativas de tratamientos para dermatomicosis en animales de crianza en granjas, de manera que permita disminuir los costos producción.
- 3° Realizar pruebas específicas de principios activos puros, que permita determinar la concentración mínima inhibitoria para evitar la resistencia del dermatofito frente a este principio activo.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) ALVITES, A. (2006). Uso de plantas medicinales en animales menores. Tesis Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. P: 45-51.
- 2) AQUINO, N. (2008). Plantas medicinales alto andinas de Perú. Revista Herediana. Lima – Perú. : 2(1): 19-25.
- 3) CABAÑES, J. (2000). Dermatofitosis animales. Recientes avances. Revista Iberoamericana de Micología; 17: S8-S12
- 4) CHAUCA, L. (1997). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma,
- 5) FERNÁNDEZ, T. (2005). Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos. Unidad de Microbiología. Departamento de Ciencias Medicas Básicas. España.
- 6) FERNÁNDEZ, R.; SEGUNDO, C.; ARENAS, R.; DA SILVA, D., GUZMÁN, A. (2002). Determinación de las variedades de *Trichophyton mentagrophytes* en 10 casos de dermatofitosis zoonótica en Paraguay. Bioquímica Vol. 27 N°. 2, 41-45.
- 7) GARCÍA S. (2000). Micología Veterinaria. Revista Iberoamericana de Micología. Madrid, 17: S1.
- 8) GARCÍA, E. y BLANCO, L. (2000). Presente y futuro del diagnóstico inmunológico de las micosis animales. Revista Iberoamericana de Micología; 17: S23-S28.
- 9) GARCÍA, E. y BLANCO, L. (2000). Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos. Revista Iberoamericana de Micología; 17: S2-S7.
- 10) Instituto Nacional de Investigación Agraria (2006). Manejo de cuyes.

Instituto de Investigación y Extensión Agraria. Lima – Perú.

- 11) INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGRARIA, (2005).
Características generales de la *Cavia porcellus*. Lima – Perú.
- 12) INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGRARIA (2001).
Crianza tecnificada de cuyes. Instituto de Investigación y Extensión Agraria. Ayacucho – Perú.
- 13) JUNGERMAN Paul F. (1997) Micología Médica Veterinaria . compañía editorial Continental S.A. .México:359-361
- 14) LIMAYLLA A. (1986). Aislamiento e Identificación del componente activo del *Plubago coerulea* “yana warmi”. Publicación Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- 15) MARTÍNEZ, M. (2005). Plantas con propiedades medicinales y su aplicación. Tesis Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. P: 34
- 16) OSNAYO, K. y CHIPANA, B. (2005). Tratamiento de la dermatomicosis con *Plumbago coerulea* “yana warmi” y clotrimazol en niños menores de 10
- 17) REYES, C. (1990). Bioestadística Aplicada. Editorial. Trillas. Segunda Edición. México.
- 18) SÁNCHEZ, G. (2007). Uso de plantas medicinales como alternativa de tratamiento de problemas fúngicos a nivel de la piel de animales menores. Revista de Microbiología Médica. Venezuela: 24(2): 45-62.
- 19) VARGAS, M. (2003). Efecto antimicótico del *Plumbago coerulea* “yana warmi” sobre hongos dermatofitos y *Cándida albicans*. Ayacucho 2003”. Tesis. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- 20) Años de la Institución Educativa Primaria “Santa Ana” N° 39006. Ayacucho 2005.

ANEXOS

**EXPERIMENTACION DIRECTA EN ANIMALES *Cavia porcellus*
INFECTADOS CON HONGOS DERMATOFITOS, EMPLEANDO
EXTRACTOS AL 40% DE *Plumbago coerulea* “yana warmi”.**



**Imagen N° 01-A: Cuy con dermatomicosis a nivel
de perímetro orbital del ojo.**



**Imagen N° 01-B: Tratamiento tópico de la
dermatomicosis a nivel de perímetro orbital del ojo.**



Imagen N° 01-C: Cuy sin evidencia de dermatomycosis a nivel de perímetro orbital, después de su tratamiento.



Imagen N° 02-A: Cuy con dermatomycosis a nivel superior de las fosas nasales.



Imagen N° 02-B: Tratamiento tópico de la dermatomicosis.



Imagen N° 02-C: Cuy tratado con extracto de “yana warmi” sin evidencia de dermatomicosis .



Imagen N° 03-A: Planta de *Plumbago coerulea* “yana warmi”.



Imagen N° 03-B: Planta de *Plumbago coerulea* “yana warmi”.



Imagen 04-A. Microcultivo para aislamiento e identificación de hongos dermatofitos aislados del “cuy” *Cavia porcellus*. Ayacucho, 2009.

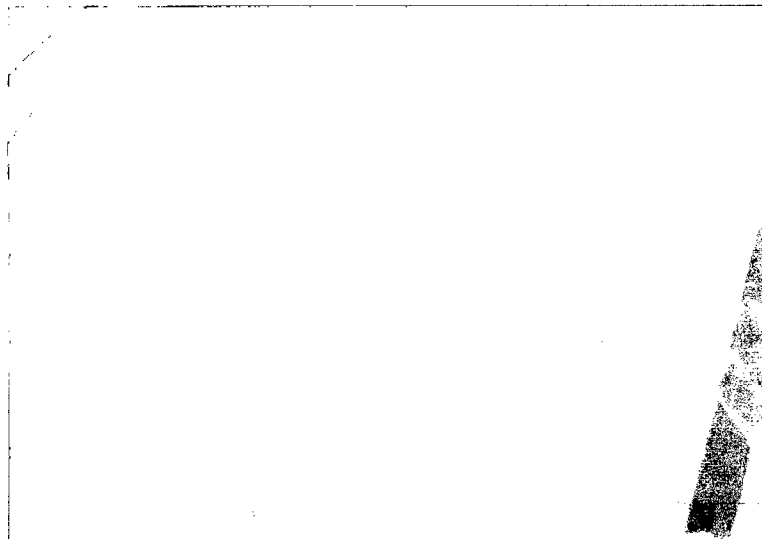


Imagen 04-B. Microcultivo para aislamiento e identificación de hongos dermatofitos aislados del “cuy” *Cavia porcellus*. Ayacucho, 2009.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

I. PRIMERA PRUEBA:

N° Placa	MEDICIONES DE HALOS DE INHIBICIÓN				
	Concentración del extracto de <i>Plumbago coerulea</i> "yanawarmi"			T4: Griseofulvina	T5: Fluconazol
	T1: 20 %	T2: 30 %	T3: 40 %		
1					
2					
3					
4					

II. SEGUNDA PRUEBA:

N° Placa	MEDICIONES DE HALOS DE INHIBICIÓN				
	Concentración del extracto de <i>Plumbago coerulea</i> "yanawarmi"			T4: Griseofulvina	T5: Fluconazol
	T1: 20 %	T2: 30 %	T3: 40 %		
1					
2					
3					
4					

CUADRO N° 01-A

Análisis de varianza de los halos de inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos con extracto de *Plumbago coerulea* “yana warmi” de la primera prueba. Ayacucho – 2009.

Fuente de variación	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F _c	F _t	Sig.
Tratamiento	4	155,300	38,825	91,353	5.41	,000
Repetición	3	,400	,133	,314		,815
Error	12	5,100	,425			
Total	19	1640,000				

CUADRO N° 01-B

Prueba de Tukey de los halos de inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos con extracto de *Plumbago coerulea* “yana warmi” de la primera prueba. Ayacucho – 2009.

Tratamiento	Orden			
	1	2	3	4
Fluconazol	4,50			
Griseofulvina		7,25		
20% Extracto "yanawarmi"		8,00		
30% Extracto "yanawarmi"			10,75	
40% Extracto "yanawarmi"				12,50

P<0.05 **