

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**



**“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL NONI  
(*Morinda citrifolia*) SOBRE *Escherichia coli* Y SU  
EFECTO INMUNOMODULADOR EN CUYES, EN TINGO  
MARÍA”**

**TESIS**

**Para optar el título de:**

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**XIOMARA BETETA BLAS**

**Tingo María – Perú**

**2018**



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, se reunieron a las 07:00 p.m. del 10 de mayo de 2018, para calificar la Tesis titulada "**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL NONI (*Morinda citrifolia*) SOBRE *Escherichia coli* Y SU EFECTO INMUNOMODULADOR EN CUYES, EN TINGO MARÍA**" presentado por la Bachiller en Ciencias Pecuarias **XIOMARA BETETA BLAS**.

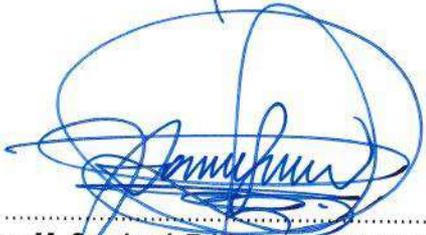
Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas, el Jurado declara **APROBADA LA TESIS** con el calificativo de "**EXCELENTE**".

En consecuencia, la sustentante queda capacitada para optar el **TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, y tramitado ante el Consejo Universitario, para la otorgación del título de conformidad con lo establecido en el Artículo 265°, inciso "b" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 17 de mayo de 2018.

  
.....  
**Ing. M. Sc. Juan Lao Gonzáles**  
Presidente

  
.....  
**M. V. Lisandro Roger Tafur Zevallos**  
Miembro

  
.....  
**Ing. M. Sc. José Eduard Hernández Guevara**  
Miembro

  
.....  
**Dr. Daniel Marco Paredes López**  
Asesor

Copia : Archivo

slcp/sec

## DEDICATORIA

A Dios; que me ha permitido vivir estos momentos de felicidad, siempre escuchándome y guiándome hacia un buen camino, concediéndome la virtud de luchar por mis metas, aunque se presenten obstáculos, él ha sabido guardarme.

A mis padres Elizabeth Blas Rojas y Ruber Beteta Gonzales; por siempre brindarme su amor, y revivir mi niñez en mi cada momento, por confiar en mí y apoyarme incondicionalmente, por ser mi ejemplo a seguir.

A mis hermanos Arbex, Kevin, la pequeña Katherine y en especial a mi hermana Dioni; por su confianza, constante apoyo y brindarme los consejos que necesitaba para seguir adelante.

A mis amigos; por su gran calidad humana, por el apoyo y ánimo contagioso, los que de gran manera ayudaron en el cumplimiento de mis metas.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y docentes de la Facultad de Zootecnia; por el sólido e invaluable aporte cultural, social y científico.

De manera especial al Dr. Daniel Marco Paredes López, Dr. Rizal Robles Huaynate y Ing. Wagner Severo Villacorta López; por el apoyo desinteresado como asesores de este trabajo de investigación. Muchas gracias por su paciencia, confianza y gran calidad humana.

A los miembros del Jurado de Tesis: Ing. M.Sc. Juan Lao Gónzales, M. V. Lisandro Roger Tafur Zevallos, Ing. M. Sc. José Eduard Hernández Guevara; por sus aportes, sugerencias y recomendaciones en la realización del presente trabajo.

A mi hermana Dioni Beteta Blas; quien desde niña me amo como si fuera una madre apoyándome y brindándome la confianza que necesitaba, por un ejemplo de persona y ayudarme a conseguir que este y otros sueños se vuelvan realidad.

A mis amigos los bachilleres Gerlin y Alex, quienes demostraron la calidad de personas que son al ayudarme a dar inicio a la ejecución de mi Tesis aun teniendo poco tiempo de conocernos; consolidamos una gran amistad y cariño por tan gratos momentos vividos.

A mis amigos Diana, Ida, Yanina, y en especial al bachiller Alexander Jara Alvarado, por brindarme su apoyo en momentos buenos y malos.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Noni ( <i>Morinda citrifolia</i> ).....	3
2.1.1. Generalidades.....	3
2.1.2. Descripción y clasificación botánica.....	3
2.2. Propiedades biológicas de noni.....	4
2.3. Componentes del noni.....	6
2.3.1. Principios activos del noni.....	7
2.4. Antecedentes de estudios con noni.....	10
2.4.1. Actividad antibacteriana.....	10
2.5. Hematología.....	12
2.5.1. Aspectos en patología clínica de animales.....	12
2.6. Hematología de los cuyes.....	14
2.6.1. Valores hematológicos reportados en cuyes.....	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. Descripción de la zona de estudio.....	22
3.1.1. Lugar de ejecución.....	22
3.2. Animales experimentales.....	22
3.3. Tipo de investigación.....	23
3.4. Insumo en estudio.....	23
3.4.1. Obtención de la harina de noni ( <i>Morinda citrifolia</i> )...	23
3.5. Instalaciones y equipos.....	23

3.6. Manejo.....	24
3.6.1. Alimentación.....	24
3.7. Variable dependiente.....	24
3.7.1. In vitro.....	24
3.7.2. In vivo.....	25
3.8. Croquis de distribución de los tratamientos y repeticiones.....	25
3.8.1. In vitro.....	25
3.8.2. In vivo.....	25
3.9. Variable dependiente.....	26
3.9.1. Efecto in vitro del noni ( <i>Morinda citrifolia</i> ) sobre la <i>Escherichia coli</i> .....	27
3.9.2. Efecto in vivo del noni, d ela harina de noni ( <i>Morinda citrifolia</i> ) en cuyes.....	28
3.10. Análisis estadístico.....	31
3.10.1. In vitro.....	31
3.10.2. In vivo.....	32
IV. RESULTADOS.....	34
4.1. Actividad antibacteriana in vitro del noni ( <i>Morinda         citrifolia</i> ) sobre <i>Escherichia coli</i> .....	34
4.2. Respuesta celular de los cuyes tratados con noni ( <i>Morinda         citrifolia</i> ).....	34
4.3. Perfiles bioquímicos hematológicos de los cuyes tratados con noni ( <i>Morinda citrifolia</i> ).....	37
V. DISCUSIÓN.....	39

5.1. Actividad antibacteriana in vitro del noni ( <i>Morinda citrifolia</i> ) sobre <i>Escherichia coli</i> .....	39
5.2. Respuesta celular de los cuyes tratados con noni ( <i>Morinda</i> <i>citrifolia</i> ).....	41
5.3. Perfiles bioquímicos hematológicos de los cuyes tratados con noni ( <i>Morinda citrifolia</i> ).....	49
VI. CONCLUSIONES.....	54
VII. RECOMENDACIONES.....	55
VIII ABSTRACT	56
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
X. ANEXOS.....	65

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Valores hematológicos de <i>Cavia porcellus</i> .....	15
2.	Constantes hematológicas de <i>Cavia porcellus</i> .....	16
3.	Valores hematológicos en cobayos infestados y no infestados con pulgas ( <i>Pulex irritans</i> ).....	16
4.	Valores hematológicos en 49 cobayos infestados y no infestados con <i>Dermanyssus gallinae</i> .....	17
5.	Reporte de valores Hematológicos para cobayos.....	18
6.	Valores Hematológicos normales del cobayo.....	19
7.	Perfiles de bioquímica sanguínea de cuyes machos de 75 días en función de los niveles de harina de <i>Erythrina</i> en la ración.....	20
8.	Diámetro del halo de inhibición del desarrollo de <i>Escherichia coli</i> (mm) por el efecto de las concentraciones de extracto acuoso de harina de noni.....	34
9.	Perfiles de respuesta celular evaluadas en función a diferentes concentraciones de noni a los 60, 75 y 90 días de edad de cuyes .....	36
10.	Desdoblamiento de dos factores: Concentración de harina de noni y edad (días), en el número total de eritrocitos (mm <sup>3</sup> ).....	37
11.	Desdoblamiento de dos factores: Concentración de harina de noni y edad (días), nivel de hematocrito.....	37

12.	Perfiles bioquímicos hematológicos evaluados en función a diferentes concentraciones de noni a los 60, 75 y 90 días de edad de cuyes .....	38
-----	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue (1) determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de noni (*Morinda citrifolia*) sobre *Escherichia coli*, medida por el halo de inhibición (mm), (2) evaluar *in vivo* el efecto de la harina de noni sobre perfiles de respuesta celular (leucocitos, eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, VCM, HCM y CHCM) y perfiles bioquímicos hematológicos (proteína total, albumina, globulina y colesterol) en cuyes de la línea Perú. Se utilizaron 4 tratamientos cada uno con 4 repeticiones por 30 días con 4 cuyes de 60 días de edad. Para la actividad antimicrobiana *in vitro* el extracto acuoso (concentradas en 2%, 4% y 8%) de harina de noni, se utilizó como parámetro de evaluación el diámetro de halo de inhibición (mm) de los discos de sensibilidad; para el efecto *in vivo* se agregó 2%, 4% y 8% de harina de noni en el alimento. Los resultados de los experimentos *in vitro* mostraron que el extracto acuoso de harina de noni a una concentración de 8% inhibe en el crecimiento de la *Escherichia coli* un halo de 6.63 mm. Este dato demuestra que la inhibición del crecimiento de la bacteria por efecto del extracto comienza a partir del 8% de noni. Los resultados *in vivo* para los perfiles de respuesta celular mostrarán efectos a los 75 días para los niveles de eritrocito y hematocrito, encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Sin embargo, la harina de noni no influyó para leucocitos, VCM, HCM y CHCM ( $P > 0,05$ ), del mismo modo para perfiles bioquímicos hematológicos.

Palabras clave: Respuesta celular, perfil bioquímico, halo de inhibición.

## I. INTRODUCCIÓN

Los problemas digestivos de cuyes en fase de lactancia o acabado y en un menor grado en reproductores, son la principal causa de pérdidas económicas en explotaciones industriales. Las diarreas pueden ser causadas por una diversidad de microorganismos, pero los principales a mencionar son coccidias (parásitos) y bacterias entre ellas *Escherichia coli*, *Clostridium* y *Salmonella*.

Al tener estos problemas patógenos se genera una resistencia que se desarrolla debido al uso indiscriminado de antibióticos comerciales comúnmente utilizados para tratar las enfermedades infecciosas. Esta situación, nos ha llevado a investigar nuevas sustancias antimicrobianas a partir de plantas consideradas popularmente medicinales, los cuales pueden actuar sobre el sistema inmune del cuy ofreciendo grandes ventajas en su uso como moduladores de la respuesta inmune. El noni (*Morinda citrifolia*) es una planta nativa del sureste asiático y hoy en día expandida por todo el continente americano, es reconocida por sus propiedades beneficiosas tanto antimicrobianas como inmunomoduladores.

El propósito del presente trabajo fue investigar la actividad antimicrobiana de la harina de noni (*Morinda citrifolia*) y su efecto en fortalecer el sistema inmunitario produciendo componentes vitales para defensas

naturales del organismo del cuy. En este contexto nos planteamos la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son los efectos antimicrobianos e inmunomoduladores del extracto acuoso y harina de frutos de noni (*Morinda citrifolia*), respectivamente, en Tingo María?

### Hipótesis

El uso de extracto acuoso y harina de frutos de noni (*Morinda citrifolia*), generan un efecto antimicrobiano contra la *Escherichia coli* in y mejora el perfil hematológico en relación al sistema inmune de los cuyes.

Considerando lo expuesto, los objetivos considerados en la investigación son los siguientes:

### Objetivo general

- Evaluar el efecto de la actividad antimicrobiana in vitro del noni (*Morinda citrifolia*) sobre *Escherichia coli* y su efecto inmunomodulador en cuyes, en Tingo María.

### Objetivos específicos

- Determinar la actividad antibacteriana in vitro de noni (*Morinda citrifolia*) sobre *Escherichia coli*, en Tingo María.
- Determinar los perfiles de respuesta celular de los cuyes tratados con noni (*Morinda citrifolia*), en Tingo María.
- Evaluar los perfiles bioquímicos hematológicos de los cuyes tratados con noni (*Morinda citrifolia*), en Tingo María.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Noni (*Morinda citrifolia*)

#### 2.1.1. Generalidades

El noni es el nombre Hawaiano que recibe la fruta de *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae). El noni es originario de la región comprendida desde el sureste asiático hasta Australia y se cultiva en Polinesia, India, el Caribe, México, América Central y la parte sur de América del Sur. Los polinesios han usado durante más de 2000 años la planta de noni con propósitos alimenticios y medicinales.

En la farmacopea tradicional, la fruta es recomendada para prevenir y curar diversas enfermedades; principalmente se usa para estimular el sistema inmune y de esa forma combatir bacterias, virus, parásitos e infecciones fúngicas, así como para prevenir la formación y proliferación de tumores, incluyendo algunos de tipo maligno (ARMANDO *et al.*, 2012).

#### 2.1.2. Descripción y clasificación botánica

El género *Morinda* (Rubiaceae), que incluye la especie de *Morinda citrifolia* L., está formado por alrededor de 80 especies. El noni es un arbusto o árbol pequeño, de 3 a 10 m de altura, con abundantes hojas anchas elípticas (5-17 cm de largo, 10 a 40 cm de ancho). Sus flores aromáticas están

dispuestas en cabezuelas globosas, con el cáliz truncado y la corola tubular de color blanco. El fruto de noni (3-10 cm largo, 3-6 cm de ancho) es oval, su color varía de verde a amarillo hasta casi blanco al momento de su recolección, con una cáscara cubierta de pequeñas protuberancias, cada una de las cuales contiene una semilla. El fruto maduro despiden un fuerte olor a rancio semejante al del ácido butírico; la pulpa es jugosa y amarga, de color amarillo opaco o blanco y aspecto gelatinoso, presentando numerosas cavidades triangulares de color marrón rojizo los cuales contienen cuatro semillas (ARMANDO *et al.*, 2012).

Basado en el Sistema de Clasificación de CRONQUIST (1988), el noni se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida (Dicotiledoneae)
Sub-clase	: Asteridae
Orden	: Rubiales
Familia	: Rubiaceae
Género	: Morinda
Especie	: Morinda citrifolia Linneo
Nombre común	: Noni

## 2.2. Propiedades biológicas del noni

La actividad biológica de *Morinda citrifolia* ha quedado de manifiesto a través de sus efectos antimicrobiano, anti cáncer, antioxidante,

antiinflamatorio y en la actividad cardiovascular (WANG *et al.*, 2002 y CHANG - BLANCO *et al.*, 2006).

Se encontraron evidencias de que el noni inhibe el crecimiento de ciertas bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Se estima que el efecto antimicrobiano puede ser debido a ciertos compuestos fenólicos como la acubina, alizarina, escopoletina y otras antraquinonas (ATKINSON, 1956). Al jugo de noni también se le atribuyen propiedades inmunomoduladoras, es decir, capacidad para mejorar el sistema inmune (HIRAZUMI *et al.*, 1996).

También, los polisacáridos presentes en el jugo de noni compuestos de ácido glucurónico, galactosa, arabinosa, y ramnosa han demostrado contar con efectos inmunomoduladores y anti tumor contra el carcinoma pulmonar de Lewis; posee efectos estimuladores de ciertas sustancias como las citocinas las cuales disminuyen el ciclo celular en tumores, incrementando la respuesta de células a otras células inmunizadas que luchan contra el crecimiento del tumor y ejercen una actividad macrófaga potente que supone un papel importante en la muerte de tumores (HIRAZUMI *et al.*, 1994; HIRAZUMI y FURUSAWA, 1999).

Las propiedades antioxidantes o de capacidad de captación de radicales libres del jugo de noni, han quedado demostradas al ejercer una fuerte inhibición de la oxidación de lípidos comparable al mismo peso de  $\alpha$ -tocoferol e butil-hidroxi-tolueno puros (YANG *et al.*, 2007; 2010). SU *et al.* (2001) demostraron que el jugo de noni presenta un efecto en la inhibición

selectiva de enzimas ciclo-oxigenasas implicadas en procesos inflamatorios logrando resultados equivalentes a los de drogas tradicionales no esteroideas como la aspirina, indometacina y celebrex. También se atribuyen propiedades analgésicas y sedativas del jugo de noni las cuales se comprobaron a partir de experimentos con ratas (WANG *et al.*, 2002).

### 2.3. Componentes del noni

ARMANDO *et al.* (2012), mencionan que aproximadamente 160 compuestos fitoquímicos se han identificado en la planta de Noni, de los cuales los principales son compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y alcaloides. Entre los compuestos fenólicos más importantes están las antraquinonas, acubina, ácido asperulósido y escopoletina; los principales ácidos orgánicos son el caproico y caprílico mientras que el principal alcaloide reportado es la xeronina. Sin embargo, la composición química varía grandemente dependiendo de la parte de la planta que se analice. La composición fisicoquímica completa de fruto aún no está disponible y sólo se cuenta con información parcial del jugo de Noni. La fruta contiene 90% de agua y los componentes mayoritarios de la materia seca son sólidos solubles, fibra dietética y proteínas. El contenido proteínico de la fruta es de 11.3% de la materia seca del jugo y los principales aminoácidos son el ácido aspártico, el ácido glutámico y la isoleucina. El contenido de minerales es de 8.4% de la materia seca y los más importantes son potasio, azufre, calcio y fósforo, además de trazas de selenio. Por otra parte, de los compuestos fenólicos con propiedades funcionales identificados

en el jugo de noni destacan: damnacantal, escopoletina, morindona, alizarina, acubina, nordamnacantal y rubiadina.

También se han identificado aproximadamente 51 compuestos del aroma en la fruta madura de Noni, incluyendo ácidos orgánicos, alcoholes, esterres, cetonas y lactonas.

### 2.3.1. Principios activos del noni

DE LA TORRE (2001) define los principios activos, como sustancias químicas encontradas en las plantas que se pueden usar como remedios terapéuticos. Los principios activos más importantes en el noni, son la xeronina, proxeronina y proxeroninasa, damnacantal, escopoletina, o bioflavonoides, y aunque no forme parte del noni, el óxido nítrico, producido de forma natural en nuestro organismo, ya que está demostrado que el jugo del Noni estimula la producción de este compuesto, fundamental para el buen estado de la salud.

**Xeronina.**- Es un alcaloide existente en todas las células sanas de los seres vivos, aunque en cantidades muy reducida (DE LA TORRE, 2001). Para HEINICKE (1985), la fruta del Noni contiene un precursor natural para la Xeronina que denominó Proxeronina y que se convierte en el cuerpo en el alcaloide Xeronina, debido a la acción de una enzima llamada por él Proxeroninasa. Su hipótesis refiere que dicha Xeronina podría modificar la estructura molecular de las proteínas y por tanto, tener una amplia gama de actividades biológicas ya que cuando una proteína tal como una enzima, un receptor, o un transductor de señal no tiene la estructura apropiada, no

funcionará adecuadamente pero la Xeronina interactuará entonces con la proteína y la hará adoptar la estructura adecuada de manera que funcione correctamente.

Es decir, que según HEINICKE (2001), siempre que surja un problema en la célula, debido a algún problema estructural de una proteína, la presencia de Xeronina sería beneficiosa explicando esta hipótesis el por qué el jugo de la *Morinda citrifolia* L pudiera ayudar en muchos problemas de salud de diferentes maneras, puesto que se considera que el ingrediente activo en muchas de las enzimas farmacológicamente activas y en muchas de las drogas tradicionales efectivas, es la Xeronina.

**Damnacantal.**- Es una sustancia que inhibe el crecimiento de tumores cancerosos. Junto con la xeronina, constituye un equipo que lucha con probabilidad de éxito contra esta terrible enfermedad. En efecto, el Damnacantal detiene el crecimiento de los tejidos malignos y una vez detenido este proceso, la xeronina repara las células del tejido dañado, hasta controlar su crecimiento aumentando la capacidad del sistema inmunológico, acelerando la formación de nuevos leucocitos (DE LA TORRE, 2001).

HIRAMATSU *et al.* (1993), reporta que el Damnacantal, un compuesto de antraquinona aislado de la raíz del noni actúa como inhibidor del oncógeno, que se cree está relacionado con la transducción de señal en varias neoplasias humanas tales como la de pulmón, colon, páncreas y la leucemia, mientras que HIWASA *et al.* (1999), demuestran que dicho Damnacantal

provoca un efecto estimulador sobre la apoptosis inducida por rayos ultravioleta.

**Escopoletina.**- Para DE LA TORRE (2001) la escopoletina tiene por misión la dilatación de los vasos sanguíneos y uniéndose a la serotonina consigue llevar la tensión arterial a sus niveles normales (nunca a niveles inferiores), mejorando la circulación de la sangre y la oxigenación de la misma.

**Bioflavonoides.**- Son poderosos antioxidantes, y por tanto eficaces aliado contra los radicales libres, responsables del deterioro celular y del envejecimiento.

Para HEINICKE (1985) el fruto del noni tiene 10 flavonoides. Los flavonoides son las sustancias de pigmentación de las frutas y los vegetales. Ayudan en la reparación de los capilares, son antiinflamatorios y antiviruses.

**Óxido nítrico.**- DE LA TORRE (2001) detalla que aunque no está contenido en el Noni, hay que tener en cuenta el que es producido directamente por las células del cuerpo humano y que cumple innumerables funciones, como la dilatación de los vasos sanguíneos, mejorando la tensión arterial y la circulación y oxigenación de la sangre, previniendo la angina de pecho, mejorando la memoria, ayudando a combatir los radicales libres y previniendo la oxidación del colesterol “malo”, evitando la coagulación prematura de la sangre y el bloqueo de las arterias que provocan lo fatales infartos cardiacos y cerebrales.

Ayuda también al páncreas a mantener los niveles de insulina en sangre y contribuye a ayudar y prevenir la lucha contra la diabetes.

#### 2.4. Antecedentes de estudios con noni

SHIVANANDA *et al.* (2009) realizaron un estudio en ratas para evaluar la actividad de la *Morinda citrifolia* en la cicatrización de heridas, Obteniendo como resultado la mejora de contracción de la herida, reducción del tiempo de epitelización y un mayor contenido en hidroxiprolina. Dando como conclusión la capacidad de la *Morinda citrifolia* para promover la actividad cicatrizante de heridas.

RODRÍGUEZ *et al.* (2005) realizaron un estudio del tamizaje fitoquímico al fruto verde y maduro, en la que precisó que en la composición fitoquímica de la planta estaban presentes, fundamentalmente, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos, carbohidratos reductores, alcaloides y flavonoides; los cuales pueden ser los responsables de la activación de respuestas inmunes. Esto sugiere que las variaciones encontradas con los estudios anteriores se deben a la asimilación de estos componentes como parte de su dieta.

##### 2.4.1. Actividad antibacteriana

TORRES y TORANZO (2009) detallan que numerosos autores coinciden en haber encontrado diferentes grados de actividad antibacteriana en los derivados de las partes del noni, y puede resumirse, como reporta ATKINSON (1956) a la Acubina como el compuesto causante, en investigaciones más recientes que la escopoletina presente en el noni

asperulósido y la alizarina del fruto, así como otros compuestos de antraquinona presentes en la raíz, han demostrado luchar contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgaii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigela*, además DUNCAN *et al.* (1998) demuestra que, inhibe la actividad de *E. coli* y que la *Morinda citrifolia* L. también ayuda en el tratamiento de la úlcera gástrica a través de la inhibición de la bacteria *Helicobacter pylori*.

Además, un estudio realizado por CASTILLO *et al.* (2014) en extracto de hojas y semillas en etanol al 20 % y en extractos secos, utilizando como flujo el etanol al 20 % concentrando 200 mL a 50 °C con ayuda de un roto-evaporado posteriormente realizando una extracción en solventes inmiscibles de polaridad creciente (n-hexano, cloroformo y acetato de etilo) mediante una extracción sucesiva sólido-líquido, obtuvo diámetros de hasta 10 mm en hojas y de 0 mm en semillas por el primer método, y de 9 mm en hojas y 7 mm en semillas en el diámetro de inhibición frente a *E. coli* (ATCC) por el segundo método; a partir de esto se supone que no sólo la dosis del extracto influye en la medida del diámetro, sino también el método de extracción y la parte de la planta en la que se realiza. se demostró la actividad antimicrobiana de hojas y semillas del árbol de *M. citrifolia* L (noni), siendo los metabolitos secundarios quinonas y comarinas los responsables de ésta.

PONCE *et al.* (2008), plantean que los microorganismos son sensibles frente a un extracto natural cuando las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano se encuentran entre 9 y 14 mm. Fundamentando esto

DURAN *et al.* (2013) y RODRÍGUEZ *et al.* (2007) cuando plantean que sus actividades se deben a su capacidad de actuar como inhibidores potentes de la cadena de transporte electrónico, como desacopladores de la fosforilación oxidativa, como agentes intercaladores en la hélice doble del ADN, como agentes de alquilación reductiva de biomoléculas, y como productores de radicales libres de oxígeno (por ciclo redox) bajo condiciones aeróbicas. Por lo que concluyen que la actividad antibacteriana de los extractos de las hojas y semillas de *M. citrifolia* se debe a la presencia de quinonas y cumarinas HIRAMATSU e IMOTO (1993).

## 2.5. Hematología

Según MEDWAY *et al.* (1986) la sangre y los órganos formadores de sangre participan en el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono en los tejidos periféricos y en el envío del dióxido de carbono a los pulmones para su eliminación. Este líquido complejo es el medio de transporte para el movimiento de nutrimentos a las células y la excreción de productos de desechos por los riñones, intestino, pulmones, hígado y piel. El contenido de agua de las células corporales y del líquido intersticial es controlado por la sangre. Las variaciones en la distribución de la sangre ayudan en la regulación de la temperatura corporal. La sangre distribuye también hormonas para controlar las funciones del cuerpo y su contenido es, en cambio, afectados por hormonas que obran en los órganos formadores de sangre. La defensa contra la invasión bacteriana y los mecanismos de inmunidad son funciones importantes de los componentes sanguíneos. Puesto que la sangre participa directa o indirectamente en casi

todos los procesos bioquímicos en el cuerpo, sus alteraciones en el estado de enfermedad ayudan a detectar con frecuencia la lesión o mecanismo existentes.

#### 2.5.1. Aspectos en patología clínica de animales

A menos que el animal esté bien adaptado a que le saquen muestras de sangre, lo que no es usual, estará estresado durante el procedimiento (es decir, por el acercamiento del operador, captura, sujeción, administración de agentes inmovilizantes, y obtención de la muestra). Como parte de la reacción de estrés, se producen catecolaminas (adrenalina, noradrenalina). Una de las acciones de estas hormonas es provocar que se contraiga el bazo. El bazo es un lugar de almacenamiento de glóbulos rojos, y en algunas especies, puede almacenar hasta el 25% de los glóbulos rojos del cuerpo. Cuando se contrae, se liberan glóbulos rojos a la circulación. No es una reacción anormal pero suministra a la sangre una mayor capacidad de transporte de oxígeno para afrontar una situación normal de "pelea". Por lo tanto, el recuento de hematíes, el hematocrito y los niveles de hemoglobina estarán artificialmente altos en las muestras de sangre obtenidas de animales conscientes estresados (SECAL, 1993).

El estado fisiológico del animal en el momento del muestreo afecta la composición de la sangre. Siempre se debe considerar la especie, edad, sexo (gestación) y el ejercicio. El sitio de punción debe estar limpio y libre de patógenos. El grado de desinfección de la piel es determinado no solo por el temor a la infección sino también a la estructura y sensibilidad de

la piel. En cambio, la esterilización de los instrumentos de punción no tiene consideraciones atenuantes. Después de la punción, el sitio debe dejarse seco, limpio y libre de sangre (MEDWAY *et al.*, 1986).

## 2.6. Hematología de los cuyes

### 2.6.1. Valores hematológicos reportados en cuyes

MEDWAY *et al.* (1986) mencionan que, si bien la asunción de los rangos de referencia supone un patrón de comportamiento constante, hay que resaltar que lo único constante en la vida es el cambio. Es decir, la concentración de los componentes de la sangre sufre oscilaciones en forma permanente. Dichas fluctuaciones controladas del homeostasis, son superadas en ocasiones por las fluctuaciones no controladas de la enfermedad. (Cuadro 1)

Así que, los análisis sólo serán válidos cuando el clínico se halle en condiciones de saber interpretar los resultados a partir de un conocimiento previo de aquellos factores o limitantes que potencialmente pueden afectarlos (COLES, 1986). Los desacuerdos entre los valores hematológicos normales obtenidos por diversos autores llevaron a definir que los principales factores de variación del hemograma se centrarían en el tamaño y origen de la muestra, el sexo, la raza, la salud, la actividad muscular, la temperatura ambiental, la altitud, el estado nutritivo y de hidratación de los animales en estudio, así como el método de recolección de sangre y las técnicas de laboratorio empleadas (JAIN, 1993).

Los valores reportados por BUSTAMANTE (1993) y VIDALON (2014), tomados del Primer Curso Nacional de Cuyes Huancayo – 1976, no especifican número de animales muestreados, sexo, edad y solo reportan los promedios de cada parámetro (Cuadro 2).

Cuadro 1. Valores hematológicos de *Cavia porcellus*

Valores	<i>Cavia porcellus</i>
Eritrocitos (x10 <sup>6</sup> /μl)	4.5 - 7.0
Hematocrito %	37.0 - 48.0
Hemoglobina (g/dl)	11.0 - 15.0
Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /μl)	7.0 - 18.0
Proteínas Totales (g/dl)	4.2 - 6.8
Globulinas (g/dl)	NP
Albumina (g/dl)	2.1 - 3.9
Colesterol (mg/dl)	16.0 - 43.0

Fuente: COLVETCADIZ (2015).

LEGUÍA (1995) Y FLORIAN (1995) realizaron experimentos con *Pulex irritans* y *Dermanyssus gallinae* respectivamente, para observar el efecto de estos ectoparásitos en los animales infestados experimentalmente comparados con animales control libre de ectoparásitos (Cuadro 3 y Cuadro 4), solo se observan el promedio de los valores reportados.

El ISIS (International Species Information System, 1999), reporta valores hematológicos para cobayos sanos provenientes de exámenes médicos anuales sin especificar edad ni sexo, pertenecientes a diversos laboratorios y zoológicos del mundo (Cuadro 5). (BENJAMÍN, 1998) menciona

que los resultados pueden variar por la técnica empleada al momento de la toma de muestra, ya que un mal manejo produciría hemólisis y así el escape de hemoglobina de los glóbulos rojos con aumento en sus lecturas (Benjamín, 1998). La extracción de sangre del animal y la sujeción física provocan estrés, lo que puede incrementar el número de hematíes, el valor del hematocrito y de la hemoglobina (Morales, M. 2009).

Cuadro 2. Constantes hematológicas de *Cavia porcellus*

Parámetros	Promedio	
	Machos	Hembras
Glóbulos rojos (millones por mm <sup>3</sup> )	5.52	5.01
Glóbulos blancos (miles por mm <sup>3</sup> )	3.79	4.08
Hemoglobina (g. por 100 ml)	13.72	13.50
Hematocrito (%)	40.42	40.11
Volumen globular medio (u <sup>3</sup> )	78.13	83.42
Hemoglobina globular media (uug)	24.86	27.15
Concentración media de hemoglobina globular (%)	3.47	34.71

Fuente: Primer curso nacional de cuyes. Huancayo (1976).

Cuadro 3. Valores hematológicos en cobayos infestados y no infestados con pulgas (*Pulex irritans*)

Parámetros	No infestado	Infestado
	Media	Media
Glóbulos Rojos (millones /mm <sup>3</sup> )	5290	3650
Glóbulos Blancos (miles/mm <sup>3</sup> )	3620	2787
Hemoglobina (g/100ml)	13.1	8.4

Fuente: LEGUÍA (1995)

Cuadro 4. Valores hematológicos en 49 cobayos infestados y no infestados con *Dermanyssus gallinae*

Parámetros	No infestado	Infestado
	Media	Media
Glóbulos Rojos (millones /mm <sup>3</sup> )	5357	4109
Glóbulos Blancos (miles/mm <sup>3</sup> )	4840	5126
Hemoglobina (g/100ml)	14.3	12.7
Hematocrito (%)	42.8	39.2
Neutrófilos maduros (%)	30.5	39.6
Neutrófilos inmaduros (%)	7.6	9.5
Linfocitos (%)	57.6	47.7
Monocitos (%)	3.6	1.1

Fuente: FLORIAN (1995)

MEDWAY *et al.* (1986), reporta valores hematológicos normales en cobayos, no especifica sexo, edad ni tamaño muestral (Cuadro 6). Destacando que cuando los leucocitos se concentran grandes cantidades de animales, los recuentos totales de leucocitos tienden a ser altos. Los animales libres de patógenos tienden a poseer menores recuentos totales de leucocitos que los animales criados en condiciones convencionales. Las condiciones de estrés, antes o durante la extracción de sangre, afectan el hematocrito, aún en animales relativamente dóciles puede subir hasta en un 20%, similar acción realiza el ejercicio; contrariamente, la sedación en algunos casos reduce en forma considerable los parámetros eritrocíticos (DOXEY, 1987).

Cuadro 5. Reporte de valores hematológicos para cobayos

Parámetros	N°	Media	Desviación estándar	Rango
Glóbulos Blancos ( $10^3/\mu\text{l}$ )	14	7.01	3.46	3.0 - 14.4
Hemoglobina (g/dl)	12	13.10	1.60	10.6 - 16.2
Hematocrito (%)	14	38.00	5.20	28.0 - 46.7
VCM (fL)	12	78.20	8.20	55.2 - 84.0
CHCM (g/dl)	12	34.00	2.00	30.2 - 37.5
HCM (PG)	12	26.50	2.60	20.0 - 29.1
Neutrófilos (%)	14	37.50	31.20	13.3 - 52.0
Linfocitos (%)	14	55.10	27.70	33.0 - 51.0
Monocitos (%)	11	6.80	5.80	3.0 - 9.4
Eosinófilos (%)	8	3.10	3.50	1.0 - 5.2
Basófilos (%)	4	1.00	0.37	0.6 - 1.3
Neutrófilos en Banda (%)	1	1.20	0.00	0.0

Fuente: ISIS VALUES (1999)

VCM: Volumen Corpuscular Medio.

CHCM: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media. HCM: Hemoglobina Corpuscular Media.

Los cobayos que se encuentran libres de gérmenes tienden a tener menor recuento de leucocitos totales y un menor número de neutrófilos que los cobayos convencionales de la misma edad (GORDON, 1959). El conteo total de leucocitos es significativamente influenciado por el lugar del drenaje de la sangre, la edad del animal, la actividad muscular, los factores de estrés y alojamiento (REBAR et al 2002).

Cuadro 6. Valores Hematológicos normales del cobayo

Parámetros	Media	Rango
Glóbulos rojos ( $10^6/\mu\text{l}$ )	6	4 - 7
Hemoglobina (g/dl)	14	11 - 17
Hematocrito (%)	40	33 - 45
Leucocitos ( $10^3/\mu\text{l}$ )	10	7 - 14

Fuente: MEDWAY *et al.* (1986)

La investigación realizada por LAGUAQUIZA (2015) en su estudio demuestra que no existe variación en los valores sanguíneos (biometría hemática) realizados en las parroquias de Cusubamba y San Miguel. Por medio de los exámenes de laboratorio se estableció los siguientes valores hematológicos Leucocitos 6,014- 5,571 Eritrocitos 62,7200- 59,8600, Hemoglobina 17,6822- 17,036, Hematocrito 47,72- 45,16, VSG 1,66- 1,7, VCM 75,924- 74,842, HCM 28,16- 27,428 CHCM 36,582- 36,71, Segmentados 55,68- 54,08 Linfocitos 40,08- 43,02 Monocitos 2,46- 2,26 Eósinofilos 1,04- 0,5 Basofilo 0,24- 014.

WASHINGTON Y VAN HOOSIER (2012), comentan que, existen escasos reportes de literatura relacionado con perfiles bioquímicos sanguíneos en cuyes; pero menciona que la proteína total y albumina en el suero sanguíneo podría estar relacionado a que el nivel de proteína en la dieta es un factor que variablemente favorece el incremento de proteína total en sangre (Cuadro 7).

Esto podría estar relacionado con mecanismos fisiológicos por los cuales en una alimentación con dietas elevadas en proteínas se eleva

los niveles de proteína total en suero y al mismo tiempo la albumina toda vez que es la proteína del plasma más abundante a medida que alcanzan la etapa adulta en las diversas especies (ECKERSALL, 2008). Sin embargo, otro estudio previo utilizando extracto de *Erythrina* en ratones mostró disminución en el perfil de proteína total (ATSAMO *et al.*, 2011).

Cuadro 7. Perfiles de bioquímica sanguínea de cuyes machos de 75 días en función de los niveles de harina de *Erythrina* en la ración

Niveles Erythrina	GLU (g/dL)	PT (g/dL)	ALB (g/dL)	AST (g/dL)	ALT (g/dL)	LDH (mg/dL)	UREA (mg/dL)
0%	96,12	4,74	3,69	41,00	26,50	11,22	38,76
7%	88,08	5,07	3,88	54,75	24,25	12,06	39,20
14%	96,30	6,19	4,35	44,25	39,00	12,41	37,57
21%	85,78	4,75	3,53	45,00	23,75	11,48	36,55
28%	96,64	6,50	4,71	38,50	32,75	14,53	39,69
R <sup>2</sup>	---	0,40	0,44	---	---	---	16,34
Regresión	NS	L (0,088)	L (0,057)	NS	NS	NS	NS

0%: Sin inclusión de harina de hojas de *Erythrina*, 7%: Inclusión de 7% de harina de hojas de *Erythrina*, 14%: Inclusión de 14% de harina de hojas de *Erythrina*, 21%: Inclusión de 21% de harina de hojas de *Erythrina* y 28%: Inclusión de 28% de harina de hojas de *Erythrina*), R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación, NS: No significativo, L: Regresión lineal, p-valor 0,088, pvalor 0,057.

Otra consideración importante es la de las condiciones climáticas en la que se realiza el experimento; VIDALÓN (2014) en este sentido refiere que la disponibilidad de oxígeno en la atmósfera, la que se ve disminuida a medida que aumenta la altura, interfiere directamente en la cantidad de este elemento que se transporta en la sangre, afectando en la producción de hematíes

PAREDES *et al.* (2017) quienes al incluir harina de *Erythrina sp.* en la dieta alimenticia de 75 cuyes machos de 13 días de edad, encontraron una relación positiva entre la dosis suministrada y el nivel de proteínas (6.19 g/dl a 14% de concentración) y en contraste una relación negativa con el de albúmina (4.35 g/dl a 14% de concentración).

RODRÍGUEZ *et al.* (2005) realizaron un estudio del tamizaje fitoquímico al fruto verde y maduro, en la que precisó que en la composición fitoquímica de la planta estaban presentes, fundamentalmente, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos, carbohidratos reductores, alcaloides y flavonoides; los cuales pueden ser los responsables de la activación de respuestas inmunes. Esto sugiere que las variaciones encontradas con los estudios anteriores se deben a la asimilación de estos componentes como parte de su dieta.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Descripción de la zona de estudio**

##### **3.1.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación, se realizó en el laboratorio de Sanidad Animal y Galpón de cuyes de la Facultad de Zootecnia – Universidad Nacional Agraria de la Selva, en la ciudad de Tingo María, Distrito Rupa Rupa, Provincia Leoncio Pardo, Región Huánuco. Geográficamente se encuentra ubicado a 09° 17' 08" de latitud sur y 79° 59' 52" de longitud oeste, con una altitud de 660 msnm., con una humedad relativa promedio de 84%, una temperatura promedio de 24° C y una precipitación pluvial media de 3194 mm, considerado como bosque húmedo subtropical húmedo (UNAS 2018)

El experimento se inició en setiembre del 2017 y concluyó en febrero del 2018.

#### **3.2. Animales experimentales**

Se utilizaron 16 cuyes machos de la línea Perú con 60 días de edad, con un peso promedio de 500 ± g, previamente adaptados una semana antes de iniciar la evaluación experimental. A los cuales se les brindarán el confort que necesitan, los cuales son distribuidos al azar en 4 tratamientos, 4 repeticiones y 1 cuy por repetición.

### 3.3. Tipo de Investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental.

### 3.4. Insumo en Estudio

Se utilizó frutos de noni (*Morinda citrifolia*) obtenidos de la ciudad de Tingo María, distrito Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco. La obtención se realizó en la época seca en el mes de junio, donde se recolectó aproximadamente 25 kilogramos de frutos enteros y maduros en buen estado de conservación, se realizó un lavado con chorros de agua corriente.

#### 3.4.1. Obtención de la harina de noni (*Morinda citrifolia*)

Los frutos fueron presecados a 60° C con la finalidad de alcanzar un contenido en materia seca superior al 10%, posteriormente se llevó a una estufa a 105 ° C, la materia seca se determinó mediante la técnica de secado hasta obtener peso constante (AOAC, 1990), luego fue llevado al molino marca THOMAS WILEY “laboratory Mill” modelo 4, con zaranda de 1 mm de diámetro, donde se redujeron el tamaño de partícula posteriormente almacenado en un recipiente totalmente cerrado, fuera del alcance de la luz solar.

### 3.5. Instalaciones y equipos

In vitro

El experimento se realizó en el Laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia de la UNAS.

### In vivo

Se acondicionó un ambiente en el Galpón de cuyes para realizar el trabajo, provisto de piso de madera entablada y techo de calamina a dos aguas con claraboya en cuyo interior se cubrió con mantada. Se tenía 1 batería de bambú, madera y malla metálica de dos pisos; dividida en 16 partes iguales; los cuales fueron previamente desinfectados con lejía y detergente. Posteriormente se fumigó con un desinfectante de amplio espectro “Delegol vet” laboratorio Bayer, a toda el área que se utilizó dejando reposar por tres días.

### 3.6. Manejo

#### 3.6.1. Alimentación

La alimentación de los cuyes fue a base de una dieta de acabado (Anexo 2) preparado cada 10 días, el cual se suministró 50 g por animal con sus respectivas concentraciones de harina de noni (0%,2%, 4% y 8%), y como fuente de forraje el pasto fresco (King grass verde y morado) 200 g por animal, 2 veces por día. Registrándose los datos de respuesta biológica (Anexo 1)

### 3.7. Variable Independiente

#### Tratamientos:

#### 3.7.1. In Vitro

T<sub>1</sub>: Agua destilada con 0% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

T<sub>2</sub>: Agua destilada con 2% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

T<sub>3</sub>: Agua destilada con 4% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

T<sub>4</sub>: Agua destilada con 8% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

### 3.7.2. In vivo

T<sub>1</sub>: Alimento balanceado con 0% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

T<sub>2</sub>: Alimento balanceado con 2% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

T<sub>3</sub>: Alimento balanceado con 4% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

T<sub>4</sub>: Alimento balanceado con 8% de inclusión de harina de noni (*M. citrifolia*)

## 3.8. Croquis de distribución de los tratamientos y repeticiones

### 3.8.1. Distribución in vitro

T1R4	T2R1	T3R1	T4R6
T1R3	T2R4	T3R3	T4R2
T1R1	T2R2	T3R7	T4R5
T1R5	T2R3	T3R2	T4R4
T1R2	T2R6	T3R8	T4R1
T1R8	T2R5	T3R6	T4R3
T1R6	T2R8	T3R4	T4R7
T1R7	T2R7	T3R5	T4R8

### 3.8.2. Distribución in vivo

T1R4	T2R3	T2R4	T2R1
T4R2	T1R3	T4R3	T4R4
T1R1	T2R2	T3R1	T3R4
T4R1	T3R3	T1R2	T3R2

### 3.9. Variable Dependiente

- Actividad antibacteriana in vitro de noni (*M. citrifolia*) sobre *Escherichia coli*:

Diámetro de halo de inhibición (mm).

- Perfiles de respuesta celular de los cuyes tratados con noni (*M. citrifolia*):

Hematocrito %

Hemoglobina (g/dL)

Volumen corpuscular medio (fL)

Hemoglobina Corpuscular Medio (pG)

Concentración de Hemoglobina Corpuscular Medio (g/dL)

Leucocitos ( $10^3/\text{mm}^3$ )

- Perfiles bioquímicos hematológicos de los cuyes tratados con noni (*M. citrifolia*):

Concentración de proteína total (g/dL)

Concentración de albumina (g/dL)

Concentración de globulina (g/dL)

Concentración de colesterol (mg/dL)

La metodología que se empleó para determinar cada una de las variables dependientes fue la siguiente.

### 3.9.1. Efecto in vitro del noni (*M. citrifolia*) sobre la *Escherichia coli*

La bacteria fue obtenida en el Laboratorio de Sanidad Animal, cuyo aislamiento se realizó mediante método de difusión de agar *Maconque* y el método de resembrado; para así lograr las colonias de *Escherichia coli* con la ausencia de otros agentes bacterianos. Se realizó tinción Gram para observar las bacterias de *Escherichia coli* en el microscopio óptico a 100x con aceite de inmersión. Posteriormente se realizó la identificación de la bacteria mediante el método establecido por el laboratorio de Sanidad Animal y un patrón cualitativo de turbidez preparado, según el método estándar de McFarland.

Posterior a las pruebas de identificación se realizó el Agar Blood y luego se comprobó la sensibilidad de la bacteria ante antibióticos comerciales con principios activos comprobados como: ceftriaxona, sulfametoxazol, amikacina, norfloxacin y ciprofloxacina.

Los discos de sensibilidad se elaboraron con papel filtro Watman N°4 con 0.05 ml de capacidad de absorción. La elaboración de las concentraciones con harina de noni (*Morinda citrifolia*) consistió en el método de dilución, por lo que se diluyo 4gr, 8gr, 16gr, de la harina de Noni (*Morinda citrifolia*) en 200ml de agua destilada luego se filtró y se llevó al rotavapor a una temperatura de 60°C por un lapso de tiempo de 2 horas para obtener la esencia mínima. Para homogenizar los resultados se establecieron que todos tendrían 30 ml completando con agua destilada esterilizada dicha medida.

Luego se dejó remojar por 20 minutos los discos de los cuales se obtuvo las concentraciones de: 0% (T<sub>1</sub>), 2% (T<sub>2</sub>), 4% (T<sub>3</sub>) y 8% (T<sub>4</sub>), de extracto acuoso de noni (*Morinda citrifolia*) en los discos de sensibilidad, que seguidamente fueron llevados a la estufa a una temperatura 35°C. Así mismo los tratamientos que se utilizaron se dividieron en 8 repeticiones.

El estudio del efecto in vitro, de las diferentes concentraciones de la harina de noni (*Morinda citrifolia*) se realizó en el laboratorio, mediante la prueba de sensibilidad de los tratamientos. Las diferentes concentraciones, se sometieron al método de antibiograma, a fin de comparar el efecto y se utilizó como parámetro de evaluación el diámetro de halo de inhibición (mm) de los discos de sensibilidad.

Las evaluaciones de los diferentes tratamientos, se realizaron a las 24 horas post siembra de la bacteria *Escherichia coli*, utilizando el agar nutritivo Muller Hinton.

### 3.9.2. Efecto in vivo, de la harina de Noni (*M. citrifolia*) en cuyes

Los cuyes fueron evaluados en un periodo de 30 días, constando de tres evaluaciones (60, 75 y 90 días de edad), al inicio sin aplicar las concentraciones de harina de noni en cada tratamiento y luego a los 75 y 90 días aplicando las concentraciones establecidas.

Se extrajo 1mL sangre para cada tubo uno sin anticoagulante y el otro con anticoagulante; de la vena safena de su extremidad, previamente limpiado y desinfectado. Se empezó la administración alimento con la concentración por tratamiento después de haber extraído la

primera muestra de sangre. Se le brindó alimento balanceado en la que se suministró las concentraciones de 0 g, 1 g, 2 g y 4 g de harina de noni (*Morinda citrifolia*) Tal cual los tratamientos 0%, 2%, 4%, 8% en 50gr de alimento balanceado con 4 repeticiones.

#### 3.9.2.1. Análisis hematológicos

Las muestras con EDTA fueron analizados como máximo 5 horas después de su extracción tiempo en el cual estuvieron debidamente refrigeradas a 4°C en el laboratorio de Sanidad Animal donde se determinó los valores hematológicos como concentración de hemoglobina (g/dl) y recuento eritrocitos ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ) de donde se determinará el volumen corpuscular medio (fL), hemoglobina corpuscular media (pG), y concentración de hemoglobina corpuscular media (g/dL).

##### a) Hematocrito

La determinación de hematocrito se realizó mediante el método del microhematocrito, que consistió en llenar sangre que contiene anticoagulante aproximadamente hasta tres cuartos de los tubos capilares lisos (1.0 mm x 75 mm), inclinándolo para facilitar el llenado. Luego se llevó a la centrifuga regulable digital para microhematocrito marca "Hettich EBA20" modelo DTN-450. Se centrifugó a 10000 rpm por 5 minutos, y finalmente se realizó la lectura con la ayuda de una tabla micro escala graduada de 0 a 100 (MUÑOZ, 2000).

##### b) Hemoglobina

La determinación de hemoglobina se realizó por el método de la cianometahemoglobina, para lo cual se necesitó el reactivo drabkin. Primero se establece cero en la escala de densidad óptica usando un blanco de solución. Luego se necesitó de 20 ul de sangre total con anticoagulante, obtenida con la micropipeta y 5 ml de Drabkin mezclándolos en un tubo de ensayo. Luego se dejó reposar por 10 minutos, para así luego leer en el espectrofotómetro UV marca "DiaLab" modelo DTN-450, a 546nm de longitud de onda con factor 36.3 (MUÑOZ, 2000).

c) Leucocitos ( $10^3/\text{mm}^3$ )

Se utilizó una pipeta Thoma para leucocitos y la sangre se aspiró hasta la marca 0.5 y diluida a la marca 11 con el dilutor de glóbulos blancos (solución Turk), esto proporcionó una dilución de 1:200. Luego se desechó de 2 a 3 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara de Neubauer. Se dejó un minuto para que los eritrocitos se lisen y que los leucocitos se sedimenten. Los leucocitos se observaron con el objetivo de 10x, el resultado se multiplicará por 50 y así se obtuvo el número de leucocitos totales por microlitro (MUÑOZ 2000)

### 3.9.2.2. Análisis bioquímicos de la sangre

La obtención del suero de las muestras de la sangre sin anticoagulante se realizó en el Laboratorio de Sanidad Animal mediante centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos. Para su posterior estudio de las variables bioquímicas.

a) Concentración de proteína total (g/dl)

Por el método calorimétrico de BIURET O Kjendhal Proteínas totales AA, empleando reactivos de Laboratorio Valtek, en un espectrofotómetro de marca DiaLab modelo DTN-450.

b) Concentración de albumina (g/dl)

Albumina AA, empleando reactivos de Laboratorio Valtek, en un espectrofotómetro, por el método de BCF (verde de tetrabromocresolsulfon ftaleinas) de marca DiaLab modelo DTN-450.

c) Concentración de globulina (g/dl)

Se obtuvo por la diferencia entre proteínas totales y albuminas.

d) Concentración de colesterol (mg/dl)

Por el método enzimático Colesterol total – LS empleando reactivos del Laboratorio Valtek, en un espectrofotómetro de marca DiaLab modelo DTN-450.

### 3.10. Análisis estadístico

#### 3.10.1. In vitro

Las muestras fueron distribuidas en un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 3 niveles de inclusión y un testigo, 8 repeticiones, cuya unidad experimental fue de 1 cultivo. Los análisis de variancia fueron realizados con el software estadístico Infostat (INFOSTAT, 2017) y los promedios fueron comparados por el test de Student-Newman-Keuls (5%), cuyo modelo aditivo lineal es

El modelo aditivo lineal es:

$$Y_{ij} = \mu + N_i + E_{ij}$$

Dónde:

- $Y_{ij}$  = j-ésimo diámetro de halo, del i-ésimo concentración harina de noni
- $U$  = Media muestra.
- $N_i$  = Efecto de la i-ésima concentración de harina de noni (0%, 2 %, 4 %, 8%)
- $e_{ij}$  = Error experimental.

### 3.10.2. In vivo

Para las variables hematológicas y bioquímicas se evaluaron con el diseño completamente al azar, con arreglo factorial de 4 x 2 + 1 (4 concentraciones de noni x 2 edades del cuy para la toma de muestra de sangre + 1 edad control). Los análisis de variancia fueron realizados con el software estadístico Infostat (INFOSTAT, 2017) y los promedios fueron comparados por el test de Student-Newman-Keuls (5%), cuyo modelo aditivo lineal es:

$$Y_{ij} = \mu + N_i + E_j + (N \times E)_{ij} + e_{ij}$$

- $Y_{ij}$  = i-ésimo concentración de la j-ésima edad
- $\mu$  = Media general o media de población
- $N_i$  = Efecto del i-ésimo concentración de harina de noni (0%, 2%, 4% y 8%)
- $E_j$  = Efecto de la j-ésima edad (75 y 90 días)

$(N \times E)_{ij}$  = Efecto de la interacción del  $i$ -ésimo concentración de harina de noni y de la  $j$ -ésima edad

$e_{ij}$  = Error experimental

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Actividad antibacteriana in vitro del noni (*M. citrifolia*) sobre *Escherichia coli*

En el Cuadro 8, se muestra la capacidad de inhibición de las diferentes concentraciones (0%, 2%, 4% y 8%) de harina de noni frente al desarrollo de la *Escherichia coli*, observándose que la inhibición comienza a partir del 8 % de concentración de noni.

Cuadro 8. Diámetro del halo de inhibición del desarrollo de *Escherichia coli* (mm) por el efecto de las concentraciones de extracto acuoso de harina de noni

Concentración de noni	Diámetro (mm)*
0%	0.00 <sup>b</sup>
2%	0.00 <sup>b</sup>
4%	0.00 <sup>b</sup>
8%	6.63 ± 0.02 <sup>a</sup>
p-valor	0.001
C.V	0.94

Letras diferentes dentro de la misma columna, indican diferencia estadística (SNK 5%). \*Los datos fueron transformados por la  $\sqrt{+1}$ .

### 4.2. Respuesta celular de los cuyes tratados con noni

En el Cuadro 9, se observan los promedios de Leucocitos (LEU mm<sup>3</sup>), Eritrocitos (ERI mm<sup>3</sup>), Hematocrito (HC %), Hemoglobina (HB g/dL);

VCM (fL): volumen corpuscular medio (VCM fL), Hemoglobina corpuscular media (HCM pG) y Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM g/dL); de cuyes alimentados con diferentes concentraciones (0%, 2%, 4% y 8%) de harina de noni y evaluados a los 60 (control), 75 y 90 días de edad; notándose diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) para VCM.

En el Cuadro 10 y 11, se muestra el desdoblamiento de dos factores: Concentración de harina de noni y edad (días) para Eritrocitos ( $\text{mm}^3$ ), Hematocrito (%) respectivamente; notándose diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). entre los dos factores estudiados.

Cuadro 9. Perfiles de respuesta celular evaluadas en función a diferentes concentraciones de noni a los 60, 75 y 90 días de edad de cuyes

Factores	LEU (mm <sup>3</sup> )	ERI (mm <sup>3</sup> )	HC (%)	HB (g/dL)	VCM (fL)*	HCM (pG)	CHCM (g/dL)
Concentración de noni							
0%	5793.8	3351458	30.54	14.22	90.99 <sup>b</sup>	43.17	47.36
2%	6462.5	3106250	28.25	14.25	90.94 <sup>ab</sup>	46.93	51.56
4%	7450.0	3438750	31.25	14.70	90.85 <sup>a</sup>	43.64	48.02
8%	6037.5	3753750	34.13	15.70	90.95 <sup>ab</sup>	42.93	47.30
Edad en días							
60	4268.8	2794375 <sup>b</sup>	25.625 <sup>b</sup>	12.52 <sup>b</sup>	91.18 <sup>b</sup>	45.11	49.25
75	6637.5	3556250 <sup>a</sup>	32.313 <sup>a</sup>	14.45 <sup>a</sup>	90.91 <sup>a</sup>	41.95	46.18
90	6615.6	3408125 <sup>a</sup>	31.000 <sup>a</sup>	15.42 <sup>a</sup>	90.91 <sup>a</sup>	45.90	50.47
p-valor CN	0.336	0.054	0.059	0.099	0.001	0.439	0.468
p-valor Edad	0.071	0.019	0.025	0.001	0.047	0.158	0.183
p-valor CN x Edad <sup>1</sup>	0.055	0.040	0.045	0.753	0.441	0.062	0.085
C.V. (%) <sup>2</sup>	24.29	13.79	13.97	7.78	0.01	13.87	14.32

Letras diferentes dentro de la misma columna, indican diferencia estadística (SNK 5%). <sup>1</sup>Interacción de factores (Concentración de harina de Noni x Edad de los cuyes). <sup>2</sup>Coefficiente de variación. LEU mm<sup>3</sup>: Leucocitos; ERI mm<sup>3</sup>: Eritrocitos; HC %: Hematocrito; HB g/dL: Hemoglobina en gramos/decilitros; VCM fL: volumen corpuscular medio en femtolitro; HCM pG: Hemoglobina corpuscular media en picogramo; CHCM g/dL: Concentración de hemoglobina corpuscular media en gramos/decilitros. \*Los datos fueron transformados por arcoseno.

Cuadro 10. Desdoblamiento de dos factores: Concentración de harina de noni y edad (días), en el número total de eritrocitos ( $\text{mm}^3$ )

Concentración de noni	60	75	90
0%	2794375 b	3795000 aA	3465000 a
2%	2794375	2750000 B	3462500
4%	2794375	3605000 A	3272500
8%	2794375 b	4075000 aA	3432500 ab

Letras minúsculas: Fila

Letras mayúsculas: columnas

Letras diferentes dentro de la misma columna, indican diferencia estadística (SNK 5%)

Cuadro 11. Desdoblamiento de dos factores: Concentración de harina de noni y edad (días), nivel de hematocrito

Concentración de noni	60	75	90
0%	25.6 b	34.5 aA	31.5 a
2%	25.6	25.0 B	31.5
4%	25.6	32.8 A	29.8
8%	25.6 b	37.0 aA	21.2 ab

Letras minúsculas: Fila

Letras mayúsculas: columnas

Letras diferentes dentro de la misma columna, indican diferencia estadística (SNK 5%)

#### 4.3. Perfiles bioquímicos hematológicos de los cuyes tratados con noni (*M. citrifolia*)

A continuación, en el cuadro 15 se muestra los valores promedio registrados para proteína total (PT g/dL), Albumina (ALB g/dL), Globulina (GLO g/dL), Colesterol (CT g/dL); de cuyes alimentados con diferentes concentraciones (0%, 2%, 4% y 8%) de harina de noni y evaluados a los 60 (control), 75 y 90 días de edad; notándose que no existe diferencia estadística ( $p > 0.05$ ).

Cuadro 12. Perfiles bioquímicos hematológicos evaluadas en función a diferentes concentraciones de noni a los 60, 75 y 90 días de edad de cuyes

Factores	PT (g/dL)	ALB (g/dL)	GLO (g/dL)	CT (g/dL)*
Concentración de noni				
0%	4.99	3.87	1.11	23.99
2%	4.88	3.67	1.26	21.68
4%	4.57	3.54	1.02	22.39
8%	4.80	3.34	1.46	27.69
Edad en días				
60	5.27 <sup>a</sup>	4.34 <sup>a</sup>	0.87	26.58
75	5.13 <sup>a</sup>	3.77 <sup>b</sup>	1.36	24.87
90	4.42 <sup>b</sup>	3.32 <sup>c</sup>	1.12	22.35
p-valor CN	0.566	0.436	0.369	0.274
p-valor Edad	0.001	0.002	0.195	0.371
p-valor CN x Edad <sup>1</sup>	0.986	0.404	0.460	0.175
C.V. (%) <sup>2</sup>	10.08	11.84	40.20	8.33

Letras diferentes dentro de la misma columna, indican diferencia estadística (SNK5%). <sup>1</sup> Interacción de factores (Concentración de harina de Noni x Edad de los cuyes). <sup>2</sup> Coeficiente de variación. PT g/dL: Proteína total en gramos/decilitros; ALB g/dL: Albumina en gramos/decilitros; GLO g/dL: Globulina en gramos/decilitros; CT g/dL: Colesterol en gramos/decilitros. \*los datos fueron transformado por logaritmo.

## V. DISCUSION

### 5.1. Actividad antibacteriana in vitro del noni (*M. citrifolia*) sobre *Escherichia coli*

Los resultados obtenidos para la actividad antibacteriana del extracto acuoso de harina de noni detallan que las concentraciones aplicadas a los discos de sensibilidad de acuerdo a la prueba de Student ( $\alpha=0.05$ ) presentan diferencias altamente significativas ( $p<0.05$ ) en la inhibición del desarrollo de la *Escherichia coli*. El medio de cultivo suspendido en agua destilada y una inclusión del 8% de extracto acuoso de harina presentó como diámetro promedio del halo de inhibición de 6.63 mm a diferencia de 0%, 2% y 4% de la dosis que no registraron halos de inhibición a las 24 horas de iniciada la post siembre de la bacteria.

A partir de esto se infiere que las concentraciones aplicadas de extracto acuoso de noni persiguen un comportamiento lineal con el diámetro del halo de inhibición, siendo efectiva su capacidad inhibidora en el crecimiento de esta bacteria a partir de una concentración del 8% de extracto acuoso; de esto se infiere que la actividad inhibitoria de este extracto se desarrolla a partir de esta concentración; cabe mencionar que si bien se difiere con resultados obtenidos por PONCE *et al.* (2008) quienes detallan que los microorganismos son sensibles frente a un extracto natural cuando las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano se encuentran entre 9 y 14 mm, el bajo promedio

obtenido en el diámetro pudo deberse a la baja concentración del extracto acuoso planteado en los tratamientos.

En otro estudio realizado por CASTILLO *et al.* (2014) en extracto de hojas y semillas de noni en etanol al 20 % y en extractos secos, utilizando como flujo el etanol al 20 % concentrando 200 mL a 50 °C con ayuda de un roto-evaporado posteriormente realizando una extracción en solventes inmiscibles de polaridad creciente (n-hexano, cloroformo y acetato de etilo) mediante una extracción sucesiva sólido-líquido, obteniendo diámetros de hasta 10 mm en hojas y de 0 mm en semillas por el primer método, y de 9 mm en hojas y 7 mm en semillas en el diámetro de inhibición frente a *Escherichia coli* por el segundo método; a partir de esto se supone que no sólo la dosis del extracto influye en la medida del diámetro, sino también el método de extracción y la parte de la planta en la que se realiza.

En general, se concuerda con diversos autores (TORRES y TORANZO, 2009) que concluyen haber encontrado actividad inhibitoria en diversos elementos (hojas, frutos y semillas) de la planta de noni frente al desarrollo de *E. coli*; debiéndose esta acción de acuerdo a RODRIGUEZ *et al.* (2007) y DURAN *et al.* (2013) quienes afirman la capacidad inhibidora en la cadena de transporte electrónico, desacoplación de la fosforilación oxidativa, intercalación en la hélice doble del ADN, como agentes de alquilación reductiva de biomoléculas, y como productores de radicales libres de oxígeno (por ciclo redox) bajo condiciones aeróbicas de sustancias presente en el fruto como; la escopetina y de los metabolitos secundarios: quinonas y cumarinas,

coincidiendo con las conclusiones de CASTILLO *et al.* (2014) e HIRAMATSU e IMOTO (1993).

## 5.2. Respuesta celular de los cuyes tratados con noni (*M. citrifolia*)

Previa a la discusión es meritorio conocer los valores hematológicos normales en la especie; por ello, conociendo que los reportes en nuestro país se limitan a lo expuesto por BUSTAMANTE (1993) y VIDALÓN (2014), se hará una comparación numérica entre los promedios que refieren dichos autores y los obtenidos en el experimento, así como otros registros que fue debido mencionar.

En los valores hematológicos de la sangre de los cuyes, las concentraciones aplicadas de harina de noni en la dieta de cuyes influenciaron ( $p < 0.05$ ) únicamente en el nivel volumen corpuscular medio (VCM). Entendiéndose que en las demás variables no hubo diferencias significativas entre sus promedios, lo que supone que las concentraciones provistas para el experimento no influyen en la disponibilidad de las variables evaluadas.

Respecto a la edad de los cuyes; se muestra otro comportamiento en los promedios; donde sólo en la hemoglobina corpuscular media (HCM) y en la concentración de la hemoglobina corpuscular media (CHCM) se encuentran promedios similares estadísticamente ( $p > 0.05$ ) lo que demuestra que el nivel en las variables: leucocitos ( $N^\circ/mm^3$ ), eritrocitos ( $N^\circ/mm^3$ ), hematocrito (%), hemoglobina (g/dL) y volumen corpuscular medio (VCM), la edad afecta significativamente sus valores, debiéndose básicamente a la capacidad de

cumplir sus actividades fisiológicas lo que se encuentra predispuesta por la madurez y a la demanda metabólica del individuo.

El nivel de leucocitos ( $\text{mm}^3$ ) en la sangre de cuyes no fue influenciado ( $p > 0.05$ ) por la inclusión de 0%, 2%, 4% y 8% de harina noni en sus respectivas dietas concentradas. Cabe destacar que, numéricamente se observa un incremento gradual desde 0% hasta 4% de concentración de noni; sin embargo, cuando la dosis fue de 8% los niveles de leucocitos se redujeron, pudiéndose notar que la disponibilidad de esta célula se ve modificada en cierta forma con la aplicación de la harina de noni en el alimento. Respecto a la edad se tiene que el nivel de leucocitos mostró un crecimiento importante de los 60 a 75 días (4268.8-6635.6 leucocitos  $\text{mm}^3$ ), registrando para los 90 días un ligero decrecimiento; por lo que no se encuentran diferencias significativas ( $p > 0.05$ ).

El promedio de eritrocitos ( $\text{mm}^3$ ) no mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por lo que la inclusión al 0%, 2%, 4% y 8% no influenciaron en esta variable. notando que el que mayor registro se obtuvo al 8% (3753750 leucocitos  $\text{mm}^3$ ) de concentración de noni, contrariamente al 2% de harina de noni se registra un menor valor, por lo que se predispone que a esa cantidad de harina de noni no afectan en la disponibilidad de estas células. Respecto a la edad registran diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) mostrando el mayor valor a los 75 días; sin embargo, a los 90 días de edad se observó un descenso de esta célula, pudiéndose notar que la disponibilidad de esta célula se ve modificada en cierta forma por la edad del cuy.

En el Cuadro 10, se muestra el desdoblamiento de dos factores: Concentración de harina de noni y edad (días), en el número total de eritrocitos

(mm<sup>3</sup>) notándose diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre los factores estudiados. Se observa que según la edad a los 90 días no hay efecto de la harina de noni en sus diferentes concentraciones sobre el número de eritrocitos.

Según la concentración de harina de noni, al 0% y 8% de noni existe una influencia significativa en el nivel de eritrocitos. Contrariamente al 2% y 4% de harina de noni los cuales no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) por lo que se predispone que estas cantidades de harina de noni no afectan en la disponibilidad de estas células. Cabe mencionar, que los promedios registrados, presentan un ligero crecimiento a los 75 días, en contraste, para los 90 días donde se vio una reducción en los niveles promedio en casi todas las concentraciones de noni.

El promedio de hematocrito no mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por lo que la inclusión al 0%, 2%, 4% y 8% no influenciaron en esta variable. notando que el que mayor registro se obtuvo al 8% (34.13 %) de concentración de noni, contrariamente al 2% de harina de noni se registra un menor valor, por lo que se predispone que a esa cantidad de harina de noni no afectan en la disponibilidad de esta variable. Respecto a la edad registran diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) mostrando el mayor valor a los 75 días; sin embargo, a los 90 días de edad se observó un descenso de esta célula, pudiéndose notar que la disponibilidad de esta célula se ve modificada en cierta forma por la edad del cuy.

En el Cuadro 11, se muestra el desdoblamiento de dos factores: Concentración de harina de noni y edad (días), en el nivel de hematocrito (%) notándose diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre los factores estudiados. Se

observa que según la edad a los 90 días no hay efecto de la harina de noni en sus diferentes concentraciones sobre el nivel de hematocrito;

Según la concentración de harina de noni, al 0% y 8% de noni existe una influencia significativa en los niveles de hematocrito. Contrariamente al 2% y 4% de harina de noni los cuales no mostraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ). Cabe mencionar, que los promedios registrados, presentan un ligero crecimiento a los 75 días, en contraste, para los 90 días donde se vio una reducción en los niveles promedio en casi todas las concentraciones de noni.

Las concentraciones de harina de noni aplicadas en la dieta de los cuyes en las condiciones mencionadas no influyeron estadísticamente ( $p>0.05$ ) en el promedio de hemoglobina (g/dL). Cabe destacar que, numéricamente se observa un incremento gradual desde 0% hasta 8% de concentración de noni, pudiéndose notar que esta variable se ve modificada en cierta forma con la aplicación de la harina de noni en el alimento. Respecto a la edad se tiene que el nivel de hemoglobina mostró un crecimiento importante de los 75 hasta 90 días (14.45-15.42 HB g/dL).

Los registros para el volumen corpuscular medio (VCM fL) mencionan que durante el experimento que las concentraciones de harina de noni aplicados en la dieta de los cuyes afecta significativamente ( $p<0.05$ ). Notando que el que mayor registro se obtuvo al 0% (90.99 fL) de concentración de noni, contrariamente al 4% de harina de noni se registra un menor valor, por lo que se predispone que a esa cantidad de harina de noni no afectan en la disponibilidad de esta variable. Respecto a la edad registran diferencias significativas ( $p<0.05$ ) mostrando el mayor registro a los 60 días de edad

reduciéndose linealmente hasta los 75 días a partir del cual mantuvo constante su valor.

Los promedios para la hemoglobina corpuscular media (HCM pG) muestran resultados sin diferencias estadísticas ( $p>0.05$ ) para las concentraciones de harina de noni aplicadas. Cabe destacar que los mayores registros se obtuvieron al 2% de harina de noni; observando una disminución gradual al 4% y 8% de concentración, pudiéndose notar que la disponibilidad de esta variable se ve modificada en cierta forma con la aplicación de la harina de noni en el alimento. Respecto a la edad se tiene que el nivel de HCM mostró un bajo valor a los 75 recuperándose a los 90 días de edad.

Los registros para Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM g/dL), mencionan que durante el experimento que las concentraciones de harina de noni aplicados en la dieta de los cuyes no afecta significativamente ( $p>0.05$ ). Notando que el que mayor registro se obtuvo al 2% (51.56 g/dL) de concentración de noni, contrariamente al 4% de harina de noni se registra un menor valor, por lo que se predispone que a esa cantidad de harina de noni no afectan en la disponibilidad de esta variable. Respecto a la edad se tiene que el nivel de CHCM mostró un bajo valor a los 75 recuperándose a los 90 días de edad.

Los resultados guardan cierta similitud con los reportes de COLVETCADIZ (2015) donde sin diferenciar sexo y edad muestran para la hemoglobina un promedio de 11-15 g/dl, difieren sin embargo, con los niveles de leucocitos por  $\mu\text{L}$  ( $7.0-18.0 \times 10^3$ ), hematíes ( $4.5-7.0 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) y de hematocrito (37 - 48%); asimismo, al compararse los resultados con

LAGUAQUIZA (2015) quien caracterizó valores hemáticos en cuyes de dos distintas zonas geográficas mediante la técnica de la punción cardiaca se encontró similitud con el promedio de hemoglobina (17.36 g/dl) y de leucocitos (5892.5/ $\mu$ L).

Sin embargo, los registros encontrados son inferiores en el nivel de glóbulos rojos ( $75 \times 10^6 / \mu$ L) y el de hematocrito (46.44%), y superiores para el caso de VCM, cuyo autor detalla niveles desde 64.2 hasta 80 fL, para el HCM un promedio de 27.8 fL y para el CHCM de 36.6 g/dL. Por otro lado, los reportes de BUSTAMANTE (1993) del Primer Curso Nacional de Cuyes - Huancayo (1976), sin especificar la edad superan numéricamente a los datos obtenidos en hematíes ( $5.52$  y  $5.01 \times 10^6/\mu$ L en machos y hembras) y hematocrito (40.42 y 40.11%); para el VCM y HCM (80.78 fL y 26 pG en promedio respectivamente) los datos que muestra la referencia son menores a los registrados en el experimento; sin embargo, éstos afirman la similitud en el nivel de leucocitos ( $3.79$  y  $4.08 \times 10^3/\mu$ L en machos y hembras) y en el de la hemoglobina (13.72 y 13.50 g/dl).

También se concuerda con VIDALÓN (2014), quien caracterizó el perfil hematológico de dos líneas de selección de cuyes en condiciones de altura de 3350 msnm, en los niveles de hemoglobina (16.1 g/dl) y en el VCM (90.67 fL), en contraste los valores difieren en los demás parámetros teniéndose valores ampliamente superados para los leucocitos ( $7.9 \times 10^3/\mu$ L), hematíes ( $6.08 \times 10^6/\mu$ L) y hematocritos (55.1%), en los demás casos los valores que obtuvo el autor fueron inferiores a los reportados.

Cabe mencionar los reportes de LEGUÍA (1995) quien realizó evaluaciones hematológicas en cuyes infestados con *Pulex irritans* registrando valores similares en el nivel de hematocritos (28%) y eritrocitos ( $3.65 \times 10^6/\mu\text{L}$ ); asimismo, los promedios obtenidos para los leucocitos (2787/ $\mu\text{L}$ ) fueron inferiores, en contraste los registros en hemoglobina superan numéricamente a los obtenidos en el presente experimento. También FLORIAN (1995) realizó evaluaciones hematológicas, pero en cuyes infestados con *Dermanyssus gallinae* teniéndose valores similares para el nivel de hematíes ( $4.1 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) y hemoglobina (12.7 g/dl), en los demás casos los promedios que obtuvo superan a los registrados en el presente, pudiéndose inferir que la efectividad de la aplicación de las dosis de harina en el alimento de los cuyes se ve limitada a ciertos parámetros.

Por otro lado, al comparar los resultados con los reportes del ISIS (1999), donde se analizó exámenes médicos anuales a cuyes sanos sin especificar edad ni sexo, pertenecientes a diversos laboratorios y zoológicos del mundo se encuentra concordancia con los promedios en leucocitos (7012/ $\mu\text{L}$ ) y la hemoglobina (13.1 g/dL) de la sangre. Empero, los valores que registran para los hematíes ( $4.9 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) y hematocrito (38%) superan ampliamente a los obtenidos en el experimento.

Esta variación entre los resultados deja muchos vacíos en la interpretación de la efectividad de la *M. citrifolia* como parte de la dieta alimenticia en cuyes bajo las condiciones descritas en el experimento; en este sentido cabe mencionar a JAIN (1993) quien refiere que los desacuerdos entre los valores hematológicos normales obtenidos por diversos autores llevaron a

definir que los principales factores de variación del hemograma se centrarían en el tamaño y origen de la muestra, el sexo, la raza, la salud, la actividad muscular, la temperatura ambiental, la altitud, el estado nutritivo y de hidratación de los animales en estudio, así como el método de recolección de sangre y las técnicas laboratoriales empleadas.

A partir de esto se puede inferir considerando estos planteamientos que las diferencias presentadas pueden deberse al método de crianza, alimentación y manejo de los individuos, tal como menciona MEDWAY *et al.* (1986) quien infiere que los niveles nutricionales en el alimento afectan directamente en la disponibilidad de la hemoglobina, así como el método de muestreo de la sangre (BENJAMIN, 1998). Otra consideración importante es la de las condiciones climáticas en la que se realiza el experimento; VIDALÓN (2014) en este sentido refiere que la disponibilidad de oxígeno en la atmósfera, la que se ve disminuida a medida que aumenta la altura, interfiere directamente en la cantidad de este elemento que se transporta en la sangre, afectando en la producción de hematíes.

Asimismo, de acuerdo a MORALES (2009) y DOXEY (1987) el método de extracción y sujeción del animal provoca estrés, afectando el nivel de hematíes, hematocritos y el de la hemoglobina, así la sedación en algunos casos reduce en forma considerable de eritrocitos. Por otro lado, el número de individuos con el que se experimenta tiende a predisponer la disponibilidad de leucocitos, puesto que a menos individuos los agentes patógenos son reducidos por lo que la producción de leucocitos sigue el mismo comportamiento, en contraste, si existen más individuos las enfermedades se

prolifera más rápido, lo que conlleva a mayor producción de glóbulos blancos como agente de defensa, afianzando este enunciado con lo referido por GORDÓN (1959) quien afirma que los cuyes que se encuentran libres de gérmenes tienden a tener menor recuento de leucocitos totales.

REBAR *et al.* (2002) menciona que el conteo de leucocitos está estadísticamente influenciado por el lugar del drenaje de la sangre, la edad del animal, la actividad muscular, los factores de estrés y alojamiento. Asimismo, VIDALÓN (2014) refiere que los niveles hematológicos (Hemoglobina, Hematocrito, VCM y HCM) se ve afectado principalmente por la selección genética y por los cambios fisiológicos generados por un proceso de adaptación de los individuos, dado que los cuyes son oriundos de climas andinos el proceso de adaptación a condiciones tropicales afecta en la disponibilidad de estos parámetros.

### 5.3. Perfiles bioquímicos hematológicos de los cuyes tratados con noni (*M. citrifolia*)

En cuanto a los valores serológicos o perfiles bioquímicos sanguíneos en cuyes existen escasos reportes en la literatura (WASHINGTON y VAN HOOSIER, 2012), por lo que nos limitaremos a hacer una comparación numérica con los valores reportados por COLVETCADIZ (2015).

El análisis estadístico de acuerdo a la concentración de harina de noni aplicadas detalla los promedios no mostraron significancia ( $p > 0.05$ ) en ningunos de los perfiles bioquímicos evaluados. Respecto a la edad de los individuos la prueba de SNK refiere que para el nivel de proteínas (g/dL) y

albúminas (g/dL) se registran promedios estadísticamente distintos, en las demás variables la edad de los individuos fue irrelevante.

Las concentraciones de harina de noni aplicadas en la dieta de los cuyes en las condiciones mencionadas no influyeron estadísticamente ( $p>0.05$ ) en el promedio de proteínas (g/dL). Cabe destacar que se observó un decrecimiento gradual desde 0% hasta 8% de concentración de noni, pudiéndose notar que esta variable no se favorece cuando aplicamos harina de noni en el alimento. Respecto a la edad se tiene que el nivel de proteína mostró un decrecimiento importante de los 75 hasta 90 días (5.27-4.42 PT g/dL).

Las concentraciones de harina de noni aplicadas en la dieta de los cuyes en las condiciones mencionadas no influyeron estadísticamente ( $p>0.05$ ) en el promedio de albumina (g/dL). Cabe destacar que se observó un decrecimiento gradual desde 0% hasta 8% de concentración de noni, pudiéndose notar que esta variable no se favorece cuando aplicamos harina de noni en el alimento. Respecto a la edad se tiene que el nivel de albumina mostró un decrecimiento importante de los 75 hasta 90 días (4.34 - 3.32 g/dL).

Los registros para globulina (g/dL), mencionan que durante el experimento que las concentraciones de harina de noni aplicados en la dieta de los cuyes no afecta significativamente ( $p>0.05$ ). Notando que el mayor registro para la globulina se observó aplicando al 8% de harina de noni (1.46 g/dL) de concentración de noni, contrariamente al 4% de harina de noni se registra un menor valor, por lo que se predispone que a esa cantidad de harina de noni no afectan en la disponibilidad de esta variable. Respecto a la edad se tiene que el

nivel de globulina mostró un crecimiento a los 75 días y luego disminuyó a los 90 días de edad.

Los registros para colesterol (g/dL), mencionan que durante el experimento que las concentraciones de harina de noni aplicados en la dieta de los cuyes no afecta significativamente ( $p > 0.05$ ). Notando que el mayor registro para la globulina se observó aplicando al 8% de harina de noni (27.69 g/dL) de concentración de noni, contrariamente al 2% de harina de noni se registra un menor valor, por lo que se predispone que a esa cantidad de harina de noni no afectan en la disponibilidad de esta variable. Respecto a la edad se tiene que el nivel de colesterol mostró descenso en relación a los 75 y 90 días.

Los resultados del experimento se encuentran dentro del rango propuesto por COLVETCADIZ (2015) para el nivel de proteínas y albúminas a los 75 y 90 días de edad en la sangre de cuyes, mostrando un rango de 4.2-6.8 g/dL y 2.1 - 3.9 g/dL respectivamente; asimismo, los resultados superan ligeramente a los 60 días de edad de los cuyes en los niveles de albúmina a los resultados del mismo autor, quien detalla un promedio 3.0 g/dL.

El colesterol por su parte muestra decrecimiento con la adición de harina de noni en la dieta lo que refiere un resultado positivo en el cuadro serológico de los cuyes, puesto que evita la frecuencia de enfermedades cardíacas y accidentes cerebrovasculares. COLVETCADIS (2015), señala un rango de 16 - 43 mg/dL en cuyes, datos que superan a los obtenidos en el presente estudio, lo que supone la efectividad de las dosis aplicadas en referencia al nivel de este parámetro. Cabe mencionar que, si bien se coincide numéricamente con los valores de proteínas y albúminas, estos parámetros

durante todo el experimento decrecieron en relación a la concentración y a la edad del cuy, encontrándose sin embargo dentro de los valores normales reportados para el cuy como animal de laboratorio (WASHINGTON y VAN HOOSIER ,2012).

Esto difiere con lo mencionado por ECKERSALL (2008) quien afirma que en una alimentación con dietas elevadas en proteínas se eleva los niveles de proteína total en suero y al mismo tiempo la albúmina, toda vez que es la proteína del plasma más abundante a medida que alcanzan la etapa adulta en las diversas especies; pudiéndose deber a mecanismos fisiológicos en los cuyes como también al método en el que se está suministrado la fuente proteica. Este resultado se confirma con el estudio de PAREDES *et al.* (2017) quienes al incluir harina de *Erythrina sp.* en la dieta alimenticia de 75 cuyes machos de 13 días de edad, encontraron una relación positiva entre la dosis suministrada y el nivel de proteínas (6.19 g/dL a 14% de concentración) y en contraste una relación negativa con el de albúmina (4.35 g/dL a 14% de concentración).

Por otro lado, nuestros resultados concuerdan con ATSAMO *et al.* (2011) quien encontró una correlación negativa al incluir harina de *Erythrina sp.* en la dieta de ratones en el perfil de proteína total.

Cabe destacar, que la variación de los resultados en el presente experimento se debe asimismo a los componentes activos que se encuentran en el fruto de noni, pues como refiere RODRÍGUEZ *et al.* (2005) quien realizó un estudio del tamizaje fitoquímico al fruto verde y maduro, en la que precisó que en la composición fitoquímica de la planta estaban presentes,

fundamentalmente, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos, carbohidratos reductores, alcaloides y flavonoides; los cuales pueden ser los responsables de la activación de respuestas inmunes. Esto sugiere que las variaciones encontradas con los estudios anteriores se deben a la asimilación de estos componentes como parte de su dieta.

Ante estas diferencias y variaciones obtenidas en los resultados del presente estudio se debe considerar lo mencionado por COLES (1986) quien afirma que los resultados de laboratorio solo tendrán valor cuando el clínico se halle en condiciones de saber interpretar los mismos a partir de un conocimiento previo de aquellos factores o limitantes que potencialmente pueden afectarlos.

## VI. CONCLUSIONES

- La actividad antibacteriana del extracto acuoso de la harina de frutos de noni (*Morinda citrifolia*) sobre el desarrollo de la *Escherichia coli*, tuvo efecto antimicrobiano con un promedio de 6.63 mm al incluir 8% de harina de *Morinda citrifolia*, contrastándose con las concentraciones de 0%, 2%, 4%, que no mostrarán actividad antimicrobiana.
- Las diferentes concentraciones de inclusión de harina de *Morinda citrifolia* en la dieta mostraron efectos a los 75 días para los niveles de eritrocito y hematocrito donde los niveles de los parámetros fueron superiores a los resultados de los 60 y 90 días de edad de los cuyes machos en fase de acabado de la línea Perú.
- Las concentraciones de inclusión de harina de noni (*Morinda citrifolia*) en la dieta no mostraron efectos sobre los perfiles bioquímicos hematológicos de cuyes machos en fase de acabado (60 a 90 días de edad) de la línea Perú.

## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones con extracto acuoso de harina de Noni (*Morinda citrifolia*) bajo procesos de liofilización y atomizado, sobre el desarrollo de diferentes bacterias que afectan la producción de animales domésticos.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de harina de Noni (*Morinda citrifolia*), en mayores concentraciones, sobre la *Escherichia coli*.
- Realizar más investigaciones con plantas medicinales Fito farmacológicas para incorporar en la ración de los animales domésticos.

## VIII. ABSTRACT

### IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CHEESE FRUIT (*Morinda citrifolia*) ON *Escherichia coli* AND ITS IMMUNOMODULATOR EFFECT IN GUINEA PIGS IN TINGO MARÍA

The objectives of the study were: to determine the in vitro antibacterial activity of the aqueous extract from cheese fruit on *Escherichia coli* at the in vivo evaluation of the effect of cheese fruit flour on the cellular response and hematological biochemical profiles of guinea pigs from the Peru breed. Sixteen male guinea pigs, at sixty days of age, were distributed in four treatments, four repetitions and one guinea pig per repetition. For the antimicrobial activity, 0%, 2%, 4% and 8% of the aqueous extract from cheese fruit flour were evaluated, using the diameter of the inhibition halo (mm) of the sensitivity disks as an evaluation parameter and for the in vivo evaluation, 0%, 2%, 4% and 8% of cheese fruit flour were added to the food. The in vitro results showed that the aqueous extract from cheese fruit flour, at a concentration of 8%, inhibits the growth of *Escherichia coli* at a halo of 6.63 mm; also, the in vivo results indicate that at seventy five days of age, the guinea pigs showed an increase in erythrocytes and hematocrit, meanwhile, at ninety days, there was no effect from the inclusion of cheese fruit flour in the respective diets; meanwhile, the hematological biochemical variables were not affected by the inclusion of cheese fruit. It is concluded that the aqueous extract from cheese fruit flour at 8% inhibits the growth of *E. coli*; however, the inclusion of cheese fruit flour in the diets does not influence ( $p > 0.05$ ) the cellular response and hematological biochemical variables.

Keywords: Cellular response, biochemical profile, inhibition halo, aqueous extract

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. P. 1213.
- ARMANDO, J.; ROSAS, P.; RAMÍREZ, J.; ULLOA, B. 2012. El Noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. Revista Fuente Año 4 No. 10 Enero - Marzo 2012. P. 44-49.
- ATKINSON, N. 1956. Antibacterial substances from flowering plants. 3. Antibacterial activity of dried Australian plants by a rapid direct plate test. Australian J Exper Biol; P. 34:17- 26.
- ATSAMO, A.; NGUELEFACK, F.; DATTE, Y.; KAMANYI, A. 2011. Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. Journal of Ethnopharmacology. P.134: 697-702.
- BENIRSCHKE, K.; GARNER, F.; JONES, T. 1978. Pathology of Laboratory Animals. New York: Springer-Verlog. Nº 1.
- BENJAMÍN, M. 1998. Hematología Clínica Veterinaria. México: Editorial Limusa. P 33-87.

- BUSTAMANTE, J. 1993. Producción de Cuyes. 1era ed. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos- Facultad de Medicina Veterinaria. P.259.
- CASTILLO, A.; PASCUAL, Y.; CUNHANUNE, L.; DE LA PAZ, C.; CAÑETE L. 2014. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de *Morinda citrifolia* L. (noni). Revista Cubana de Plantas Medicinales. P.19(1):374-382
- CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PÉREZ, A.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.; BRAT, P. 2006. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. Journal of Food Composition and Analysis. P. 19: 645–654.
- COLES, E. 1986. Veterinary Clinical Pathology. 4º Ed. P. 486. Ed Saunders. USA.
- COLEGIO VETERINARIOS CÁDIZ. 2015. [En línea]: ([www.colvetcadiz.com/ficheros/cursos/pequeñosmamíferos/tablas.pdf](http://www.colvetcadiz.com/ficheros/cursos/pequeñosmamíferos/tablas.pdf) documento, marzo 2017).
- CRONQUIST, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. 2ª edición. New York Botanical Garden, Bronx.
- DE LA TORRE, A. 2001. Noni, el árbol de la vida. 2da. Ed. Madrid, España. Ediciones WFT. P. 152.

- DOXEY, L. 1987. Patología Clínica y procedimientos de diagnósticos en veterinaria. 2da Ed; P.185-194. Editorial El Manual Moderno S.A. México.
- ECKERSALL, P. 2008. Chapter 5: Proteins, proteomics and dysproteinemias. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals by J.J. Kaneko, J.W. Harvey & M.L. Bruss. 6th Edition, Academic Press. P. 117-155
- DUNCAN, S.; FLINT, H.; STEWART C. 1998. Inhibitory activity of gut bacteria against *Escherichia coli* 0157 mediated by dietary plant metabolites. FEMS Microbiol Lett. P. 164: 283-58.
- DURAN, M.; GAITÁN, R.; OLIVERO, J. 2013. Búsqueda en bases de datos de actividad biológica de moléculas quinoides. Revista Cubana de Información en Ciencias de la Salud. P. 24(4).416-430.
- FLORIAN, A. 1995. Control de ectoparásitos en cuyes. Resúmenes de experimentos en crianzas familiares. INIA. P. 98 (39): 7-10.
- GORDON, A. 1959. Morphological and Physiological Characterization of Germfree Life. Ann.NY.Acad.Sci. P. 78:208.
- HEINICKE, R. 1985 The pharmacologically active ingredient of Noni. Bulletin of the National Tropical Botanical Garden

- HEINICKE, R. 2001. The Xeronine system: a new cellular mechanism that explains the health promoting action of NONI and Bromelian. Direct Source Publishing.
- HILLYER, E.; QUESEN BERRY, K.; DONNELLY, T. 1996. Biology, husbandry, and clinical techniques (of guinea pig and chinchillos). In: Hillyer, E.V.; Quesen Berry, K.E. eds. Ferrest, rabbits, and rodents clinical medicine and surgery. Philadelphia: WB Saunders. P. 102.
- HIRAMATSU, T.; I MOTO, M.; KOYANO, T.; UMEZAWA, K. 1993. Induction of normal phenotypes in ras- transformed cells by damnacanthal from *Morinda citrifolia*. Cancer Lett. P. 73: 161-6.
- HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E.; CHOU, S.; HOKAMA, Y. 1994. Anticancer activity of *Morinda citrifolia* (noni) on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma in syngeneic mice. Proc West Pharmacol Soc. P. 37: 145-6.
- HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E.; CHOU S.; HOKAMA, S. 1996. Immunomodulation contributes to the anticancer activity of *Morinda citrifolia* (noni) fruit juice. Proc West Pharmacol Soc. P. 39: 7-9.
- HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E. 1999. An immunomodulator y polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. Phytother Res. P. 13: 380-7.

- HIWASA, T.; ARASE, Y.; CHEN, Z.; KITA, K.; UMEZAWA, K.; ITO, H. 1999. Stimulation of ultraviolet - induced apoptosis of human fibroblast. UVR - 1 cells by tyrosine kinase inhibitors. P. 444: 173-6.
- ISIS. International Species Information System. 1999. Clinical Pathology Records Report. In house Reference Values Mammels. *Cavia porcellus*. Guinea pig. [Internet]. Disponible en: [http:// www.isis.org.com](http://www.isis.org.com)
- JAIN, N. 1986. Schalm's veterinary hematology. 4th ed. Philadelphia: Lea de Febiger. P. 18.
- LAGUAQUIZA, W. 2015. Caracterización de valores hemáticos (biometría hemática) en el cuy (*Cavia porcellus*) en la Provincia de Cotopaxi Cantón Salcedo en las parroquias Cusubamba y San Miguel. Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga-Ecuador
- LEGUIA, G. 1995. Mermas de producción debido a enfermedades parasitarias. Informe final. Proyecto sistemas de producción de cuyes en el Perú. Fase I y II. INIA-CIID. Vols. I y II. P. 201.
- MEDWAY, W.; PRIER, J.; WILKINSON, J. 1986. Patología Clínica Veterinaria. 1era. Ed. Editorial Hispano – Americana, S.A. México. 15 -19; P. 208 – 248.
- MITRUKA, B.; RAWNSLEY, H. 1977. Clinical biochemical and haematological reference values in normal experimental animals and normal humans. 1st. ed. New York: Masson. P.33.

- MORALES, M. 2009. Atlas Hematología Veterinaria. 2da edición, Servet. P. 243.
- MUÑOZ, Z. 2000. Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología. Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.
- PAREDES, D.; ROBLES, R.; CÓRDOVA, O.; DE LA CRUZ, E. 2017. Efecto de la harina de hojas de *Erythrina* sp. sobre el perfil bioquímico, parámetros biológicos e histopatología del hígado de *Cavia porcellus*. Tingo María, Perú.
- PONCE, A.; ROURA, S.; DEL VALLE, C.; MOREIRA, M. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biology and Technology*. P. 49(2):294-300.
- RACHEL, W.; y LEACH, D. 2003. A cross-cultural study: anti-inflammatory activity of Australian and Chinese plants. *J Ethnopharmacol*.
- REBAR, P.; MAC, W.; METZGER, F. 2002. Manual de Hematología de perros y gatos. Primera edición española. Multimedia S.A. Barcelona, España.
- RODRÍGUEZ, EGR.; MÉNDEZ, D.; MARTELO, J.; ZAMBRANO, R. 2007. Análogos de quinonas naturales con actividad antibacteriana. *Scien Techn*. P. 13(33):281-3.
- RODRÍGUEZ, M.; BOFFILL, M.; LORENZO, G.; SÁNCHEZ, P.; LÓPEZ, R.; VERDECÍA, M. 2005. Evaluación preclínica del efecto antiinflamatorio

del jugo de Morinda citrifolia L.[En línea]:  
 ([http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S10284796200500030002%20-%20cargo](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10284796200500030002%20-%20cargo), artículo, febrero del 2018)

SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO (SECAL). 1993. Extracción de sangre de los mamíferos y aves de Laboratorio (online). Laboratory Animal. Vol. P. 27. 1-22. [En línea]: SECAL (<http://www.secal.es/home.htm>, documento, enero del 2017)

SU, CH.; WANG, M.; NOWICKI, D.; JENSEN, J.; ANDERSON, G. 2001. Selective COX-2 inhibition of *Morinda citrifolia* (Noni) in vitro. In: The Proceedings of the Eicosanoids and other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Disease. The 7th Annual Conference, 2001 October 14–17. Loews Vanderbilt Plaza, Nashville, Tennessee, USA.

TORRES, A.; TORANZO, A. 2009. Antecedentes y estado actual de investigaciones sobre la utilidad médica de la *Morinda Citrifolia* (Noni Tahitiano). [En línea]: COCMED (<http://www.cocmed.sld.cu/no134/no134rev1.htm>, documento, febrero 2017)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGARIA DE LA SELVA. 2018. Datos meteorológicos. Estación meteorológica José Abelardo Quiñones. Datos no publicados.

- VIDALÓN, J. 2014. Evaluación Hematológica de dos Líneas de Selección de Cuyes (Cárnica y Precoz) Criados en la Estación Ivita el Mantaro. Universidad Mayor de San Marcos. Lima-Perú
- WANG, M.; WEST, B.; JENSEN, C.; NOWICKI, D.; SU, CH.; PALU, A.; ANDERSON, G. 2002. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in noni research. *Acta Pharmacologica Sinica*. P. 23 (12): 1127 -1141.
- WASHINGTON, M.; VAN HOOSIER, G. 2012. Clinical Biochemistry. In: The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and Other Rodents by Suckow M.A.; Stevens, K.A.; Wilson R.P. Academic Press. P. 59-116.
- YANG, J.; PAULINO, R.; JANKE-STEDRONSKY, S.; ABAWI, F. 2007. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry* P. 102: 302–308.
- YANG, J.; GADI, R.; PAULINO, R.; THOMSON, T. 2010. Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. *Food Chemistry* P. 122: 627–632.

## **X. ANEXOS**

## Anexo 1. Análisis de varianza diámetro de halo de inhibición (mm)

F.V.	gl	CM	F	Significación
Tratamientos	3	0.167	1648.745	**
Error	28	0.000101		
Total	31			

Anexo 2. Análisis de varianza de Leucocitos/mm<sup>3</sup>de sangre

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	13957578	6978789	2.92	0.0712
Tratamiento	3	8455234	2818411	1.18	0.3363
Tratamiento*Edad	3	20552734	6850911	2.86	0.0552

Anexo 3. Análisis de varianza de eritrocitos/mm<sup>3</sup> de sangre

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	2.04	1.02	4.62	0.0189
Tratamiento	3	1.91	6368	2.88	0.0541
Tratamiento*Edad	3	2.10	7014	3.18	0.0400

## Anexo 4. Análisis de varianza de hematocrito

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	158.82	79.41	4.23	0.0252
Tratamiento	3	157.34	52.45	2.88	0.0593
Tratamiento*Edad	3	172.84	57.61	3.07	0.0446

C.V.= 13.97% / NS: No significativo al 5% de probabilidad

## Anexo 5. Análisis de varianza de hemoglobina

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	25.10	12.55	9.63	0.0007
Tratamiento	3	8.96	2.99	2.30	0.0999
Tratamiento*Edad	3	1.57	0.52	0.48	0.7533

## Anexo 6. Análisis de varianza de VCM

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	0.19	0.0988	2.92	0.001
Tratamiento	3	0.05	0.0173	1.18	0.0474
Tratamiento*Edad	3	0.02	00	2.86	0.4406

## Anexo 7. Análisis de varianza de HCM

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	147.82	73.91	1.98	0.1578
Tratamiento	3	104.36	34.79	0.93	0.4390
Tratamiento*Edad	3	530.65	176.88	4.74	0.0621

## Anexo 8. Análisis de varianza de CHCM

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	168.79	84.39	1.81	0.1827
Tratamiento	3	121.95	40.63	0.87	0.4675
Tratamiento*Edad	3	631.27	210.42	4.52	0.0853

## Anexo 9. Análisis de varianza de proteína total

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
------	----	----	----	----------	--------

Edad	2	4.56	2.28	9.63	0.0007
Tratamiento	3	0.48	0.16	0.69	0.5662
Tratamiento*Edad	3	0.03	0.01	0.85	0.9855

Anexo 10. Análisis de varianza de albumina

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	2.95	1.48	7.96	0.0019
Tratamiento	3	0.52	0.17	0.94	0.4355
Tratamiento*Edad	3	0.56	0.19	1.01	0.4035

Anexo 11. Análisis de varianza de globulina

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	0.88	0.44	1.74	0.1948
Tratamiento	3	0.76	0.25	1.09	0.3693
Tratamiento*Edad	3	0.62	0.21	0.89	0.4599

Anexo 12. Análisis de varianza de colesterol

F.V.	DF	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Edad	2	91.86	45.53	1.83	0.3711
Tratamiento	3	181.68	60.56	1.37	0.2736
Tratamiento*Edad	3	235.98	78.66	1.78	0.1753

## Anexo 13. Registro de datos sobre respuesta biológica de cuyes de la línea Perú en fase de acabado

CODIGO	CONSUMO DE ALIEMENTO + PASTO				GANANCIA DE PESO		CONVERSIÓN ALIMENTICIA	
	CONSUMO DE ALIMENTO	C. ALIMENTO/DIA	CONSUMO DE PASTO	C. PASTO/DIA	$\Sigma$ C. DE ALIEMENTO + PASTO/DIA	GANANCIA DE PESO		G. DE PESO/DIA
T1R1	920	30.667	3793	126.433	157.100	289	9.633	16.308
T1R2	829	27.633	4402	146.733	174.367	325	10.833	16.095
T1R3	841	28.033	4309	143.633	171.667	241	8.033	21.369
T1R4	951	31.700	4294	143.133	174.833	364	12.133	14.409
T2R1	1074	35.800	4546	151.533	187.333	270	9.000	20.815
T2R2	1037	34.567	4641	154.700	189.267	344	11.467	16.506
T2R3	924	30.800	4509	150.300	181.100	324	10.800	16.769
T2R4	807	26.900	4285	142.833	169.733	271	9.033	18.790
T3R1	915	30.500	4661	155.367	185.867	337	11.233	16.546
T3R2	985	32.833	3913	130.433	163.267	410	13.667	11.946
T3R3	1006	33.533	4659	155.300	188.833	376	12.533	15.066
T3R4	940	31.333	4535	151.167	182.500	367	12.233	14.918
T4R1	937	31.233	4598	153.267	184.500	312	10.400	17.740
T4R2	881	29.367	3749	124.967	154.333	309	10.300	14.984
T4R3	983	32.767	4251	141.700	174.467	347	11.567	15.084
T4R4	1142	38.067	3751	125.033	163.100	397	13.233	12.325

## Anexo 2. Dieta para cuyes em fase de acabado

INSUMOS	ACABADO (%)
Maíz	41.26
Afrecho de trigo	17.14
Torta de soya	18.72
Harina alfalfa	15
Melaza	4
Aceite de palma	1.32
Carbonato de calcio	1.25
Fosfato biclasico	0.25
Sal	0.42
Premix cuyes	0.1
Aflaban	0.05
BHT	0.05
Cloruro de colina	0.1
Lisina	0.14
Metionina	0.17
Treonina	0.04
TOTAL	100%