



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS
EXTRACTOS DE *Allium cepa* (CEBOLLA) Y *Zingiber officinale*
(JENGIBRE)**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA

AUTORA:

MINERVA HUERTA MORAN

Riobamba – Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS
EXTRACTOS DE *Allium cepa* (CEBOLLA) Y *Zingiber officinale*
(JENGIBRE)**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA

AUTORA: MINERVA HUERTA MORAN

DIRECTORA: Dra. VERÓNICA MERCEDES CANDO BRITO. Mgs.

Riobamba – Ecuador

2022

©2022, Minerva Huerta Moran

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor

Yo, Minerva Huerta Moran, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 23 de noviembre de 2022

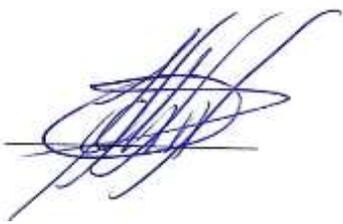
A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Minerva Huerta Moran', with a large, stylized flourish above it.

Minerva Huerta Moran

C. I: 030265833-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: el Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS DE *Allium cepa* (CEBOLLA) Y *Zingiber officinale* (JENGIBRE)**, realizado por la señorita **MINERVA HUERTA MORAN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Elizabeth del Rocío Escudero Vilema, PhD. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-11-23
Dra. Verónica Mercedes Cando Brito, PhD. DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-11-23
BQF. Jhon Marcos Quispillo Moyota, MsC. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2022-11-23

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico primeramente a Dios por ser mi guía y fortaleza en el transcurso de mi vida. A mis padres Raúl Huerta y Mery Moran, por estar conmigo, por enseñarme a crecer y a que si caigo debo levantarme, por apoyarme y guiarme, por ser las bases que me ayudaron a llegar hasta aquí. A mis hermanos por brindarme su apoyo incondicional, por creer en mí y darme las fuerzas necesarias para seguir adelante en momentos difíciles y sobre todo por el inmenso amor que me han dado, especialmente a mi hermana Wendy, quien ha sido mi ejemplo a seguir y me ha demostrado que con perseverancia, dedicación y esfuerzo se puede alcanzar nuestras metas, gracias por darme grandes enseñanzas y por ser la principal protagonista de este “sueño alcanzado”. A mis sobrinos porque siempre me han motivado a seguir adelante y a no rendirme. A mi cuñado Luis, que siempre ha estado pendiente con palabras de aliento y guiándome en cada momento de mi vida. A mi mejor amiga Lizeth Velasteguí, por apoyarme siempre y estar a mi lado incondicionalmente, gracias por tus consejos y tus palabras de aliento en los momentos que más lo necesite.

Minerva

AGRADECIMIENTO

Mi sincero agradecimiento a mi distinguida institución, la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por brindarme la formación necesaria, una profesión y la oportunidad de servir a la sociedad y al país. A mi querida Escuela de Bioquímica y Farmacia por brindarme los conocimientos y valores necesarios para convertirme en una gran profesional, a sus maestros que han sembrado huellas en cada uno de nosotros y que han aportado con un granito de arena para guiarnos en esta carrera y sobre todo nos han hecho amar cada una de las actividades que realicemos en el campo profesional.

Un especial agradecimiento a la Dra. Verónica Cando tutora del presente trabajo, por su paciencia, sabiduría, por su permanente asesoramiento y apoyo en el transcurso de la realización del Trabajo de Integración Curricular. Además, al BQF. John Quispillo, a la Ing. Erika Carzola, al BQF. Benjamín Román, a la BQF. Yolanda Buenaño, al BQF. Stalin Rojas, por su apoyo, interés y asesoramiento en el desarrollo del presente trabajo de Integración Curricular.

Minerva

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Planteamiento del Problema.....	3
1.2. Objetivos.....	4
1.2.1. <i>Objetivo General</i>	4
1.2.2. <i>Objetivos Específicos</i>	4

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. Antecedentes.....	7
2.2. Marco Conceptual.....	8
2.1.1. <i>Resistencia Bacteriana</i>	8
2.1.2. <i>Mecanismo de Resistencia</i>	9
2.1.3. <i>Tipos de Resistencia</i>	10
2.1.3.1. <i>Resistencia Natural</i>	10
2.1.3.2. <i>Resistencia adquirida</i>	10
2.1.3.3. <i>Resistencia por inactivación del antibiótico</i>	10
2.1.3.4. <i>Resistencia por alteración del sitio blanco del antibiótico</i>	11
2.1.3.5. <i>Resistencia por barreras de permeabilidad</i>	11
2.1.4. <i>Cepas Bacterianas</i>	11
2.1.4.1. <i>Características de Klebsiella pneumoniae, y perfil de sensibilidad</i>	11
2.1.4.2. <i>Características de Enterobacter cloacae y perfil de sensibilidad</i>	13
2.1.4.3. <i>Características de Echerichia coli y perfil de sensibilidad</i>	14

2.1.4.4.	<i>Características de Staphylococcus aureus y perfil de sensibilidad</i>	15
2.1.5.	<i>Alternativas Antibióticas</i>	16
2.1.6.	<i>Plantas con propiedades antibióticas</i>	16
2.1.7.	<i>Allium cepa (Cebolla)</i>	17
2.1.7.1.	<i>Origen</i>	17
2.1.7.2.	<i>Características de la planta</i>	18
2.1.7.3.	<i>Principales componentes</i>	19
2.1.7.4.	<i>Efecto antibiótico y mecanismo de acción</i>	19
2.1.8.	<i>Zingiber officinale (Jengibre)</i>	20
2.1.8.1.	<i>Origen</i>	20
2.1.8.2.	<i>Características de la planta</i>	20
2.1.8.3.	<i>Principales componentes</i>	21
2.1.8.4.	<i>Efecto antibiótico y mecanismo de acción</i>	21
2.1.9.	<i>Metodología para evaluar la actividad antibacteriana</i>	22
2.1.9.1.	<i>Método de Dilución</i>	22

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	25
3.1.	Lugar de la investigación	25
3.2.	Tipo y diseño de la Investigación	25
3.2.1.	<i>Tipo de investigación</i>	25
3.2.2.	<i>Diseño de la investigación</i>	25
3.2.3.	<i>Identificación de variables</i>	25
3.3.	Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo	26
3.3.1.	<i>Población de la variable dependiente</i>	26
3.3.2.	<i>Población de la variable independiente</i>	26
3.3.2.1.	<i>Criterios de inclusión</i>	26
3.3.2.2.	<i>Criterios de exclusión</i>	26
3.3.3.	<i>Técnica de recolección de datos</i>	26
3.4.	Material, Equipos y Reactivos	27
3.4.1.	<i>Materia prima vegetal</i>	27
3.4.2.	<i>Material biológico</i>	28
3.4.3.	<i>Materiales</i>	28
3.4.4.	<i>Equipos</i>	28
3.4.5.	<i>Reactivos</i>	29

3.5.	Técnicas y Métodos	29
3.5.1.	Ensayo botánico	29
3.5.1.1.	<i>Recolección de plantas e identificación botánica (Análisis macromorfológico)</i>	29
3.6.	Procedimiento general	30
3.6.1.	<i>Características organolépticas de la planta Allium cepa</i>	30
3.6.2.	<i>Características organolépticas de la planta Zingiber officinale</i>	30
3.6.3.	<i>Secado y Macerado de las plantas Allium cepa y Zingiber officinale</i>	30
3.6.4.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	31
3.6.5.	<i>Determinación del contenido cenizas totales, solubles en agua y ácido insoluble</i> ...	32
3.6.6.	Cromatografía en capa fina	34
3.6.6.1.	<i>Visualización de las manchas</i>	35
3.6.6.2.	<i>Cálculo del factor de retención R_f</i>	35
3.6.7.	Tamizaje del extracto alcohólico de la Cebolla y Jengibre	35
3.6.7.1.	<i>Ensayos para el reconocimiento de Flavonoides</i>	36
3.6.7.2.	<i>Ensayos para el reconocimiento de Cumarinas</i>	37
3.6.7.3.	<i>Ensayos para el reconocimiento de Quinonas/Antraquinonas</i>	37
3.6.7.4.	<i>Ensayos para el reconocimiento de Alcaloides</i>	38
3.6.7.5.	<i>Ensayos para el reconocimiento de Triterpenos y/o esteroides</i>	38
3.6.7.6.	<i>Ensayos para el reconocimiento de Saponinas</i>	39
3.6.7.7.	<i>Ensayos para el reconocimiento de Taninos/Compuestos fenólicos</i>	39
3.6.8.	Método de Microdilución	40
3.6.9.	Kirby-Bauer (sensibilidad a los antibióticos)	41

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	43
4.1.	Análisis organolépticos de las drogas vegetales	43
4.2.	Control de calidad realizada en las drogas vegetales	44
4.2.1.	<i>Determinación de Humedad de la droga vegetal cruda</i>	44
4.2.2.	<i>Determinación de Cenizas de la droga vegetal</i>	45
4.3.	Cromatografía en capa fina	46
4.4.	Tamizaje fitoquímico de la droga vegetal cruda	48
4.5.	Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos	51
4.5.1.	<i>Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)</i>	52
4.5.2.	<i>Concentración Mínima Bactericida (CMB)</i>	56
4.6.	Antibiograma (Método de Kirby Bauer)	62

CONCLUSIONES	65
RECOMENDACIONES	66
GLOSARIO	
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-3:	Materiales	28
Tabla 2-3:	Equipos	28
Tabla 3-3:	Reactivos	29
Tabla 4-3:	Contenido de Humedad	32
Tabla 5-3:	Ensayo Shinoda	36
Tabla 6-3:	Reacción de hidróxido de sodio al 10%	36
Tabla 7-3:	Reacción con hidróxido de amonio:	37
Tabla 8-3:	Reacción con hidróxido de amonio:	37
Tabla 9-3:	Reacción con ácido sulfúrico:	37
Tabla 10-3:	Ensayo Börntrager:.....	37
Tabla 11-3:	Ensayo de Mayer, Wagner y Dragendorff.....	38
Tabla 12-3:	Ensayo de Lieberman Bouchard:.....	38
Tabla 13-3:	Prueba de altura y estabilidad de espuma:.....	39
Tabla 14-3:	Ensayo Rosenthaler (Reactivo de Vainillina).....	39
Tabla 15-3:	Reacción con gelatina:.....	39
Tabla 16-3:	Reacción de cloruro férrico:	40
Tabla 1-4:	Características organolépticas de la Cebolla	43
Tabla 2-4:	Características organolépticas del Jengibre	44
Tabla 3-4:	Contenido de humedad en <i>Allium cepa</i> y <i>Zingiber officinale</i>	44
Tabla 4-4:	Determinación de cenizas en <i>Allium cepa</i>	45
Tabla 5-4:	Determinación de cenizas en <i>Zingiber officinale</i>	45
Tabla 6-4:	Placa cromatográficaextracto alcohólico de <i>Allium cepa</i> y <i>Zingiber officinale</i>	46
Tabla 7-4:	Determinación de Rf para metabolitos secundarios extracto de <i>Allium cepa</i> ...	47
Tabla 8-4:	Determinación de Rf para metabolitos secundarios del extracto de <i>Zingiber officinale</i>	48
Tabla 9-4:	Resultados tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico de <i>Allium cepa</i>	49
Tabla 10-4:	Resultados tamizaje fitoquímico extracto alcohólico de <i>Zingiber officinale</i>	50
Tabla 11-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Escherichia coli</i> . ..	52
Tabla 12-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Klebsiella pneumoniae</i>	53

Tabla 13-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Tabla 14-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Enterobacter cloacae</i>	54
Tabla 15-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Escherichia coli</i>	54
Tabla 16-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Klebsiella pneumoniae</i>	55
Tabla 17-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Tabla 18-4:	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Enterobacter cloacae</i>	56
Tabla 19-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto ...z de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Escherichia coli</i>	57
Tabla 20-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Klebsiella pneumoniae</i>	57
Tabla 21-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Tabla 22-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de cebolla (<i>Allium cepa</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Enterobacter cloacae</i>	58
Tabla 23-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Escherichia coli</i>	59
Tabla 24-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Klebsiella pneumoniae</i>	60

Tabla 25-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Staphylococcus aureus</i>	60
Tabla 26-4:	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) sobre la cepa bacteriana <i>Enterobacter cloacae</i>	61
Tabla 27-4:	Tamaño del halo de inhibición (mm) de los antibióticos comerciales	63

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-2:	Morfología de cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	12
Ilustración 2-2:	Morfología de cepas de <i>Enterobacter cloacae</i>	13
Ilustración 3-2:	Morfología de cepas de <i>Escherichia coli</i>	14
Ilustración 4-2:	Morfología de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	15
Ilustración 5-2:	<i>Allium cepa</i>	18
Ilustración 6-2:	Molécula de Alicina	20
Ilustración 7-2:	<i>Zingiber officinale</i>	21
Ilustración 8-2:	Molécula de Gingerol.....	22
Ilustración 1-3:	Procedimiento general para la evaluación de la actividad antibacteriana de la Cebolla y el Jengibre	27

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** OFICIO AUTORIZACIÓN USO DE LABORATORIOS
- ANEXO B:** OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA EN EL MERCADO MAYORISTA DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA-ECUADOR
- ANEXO C:** PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL PROCESO DE SECADO
- ANEXO D:** PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL PROCESO DE PULVERIZACIÓN
- ANEXO E:** PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL PROCESO DE MACERACIÓN
- ANEXO F:** Y OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE CEBOLLA Y JENGIBRE
- ANEXO G:** RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL, DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD Y CENIZAS
- ANEXO H:** RESULTADOS DE LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DE LA CEBOLLA Y EL JENGIBRE
- ANEXO I:** RESULTADOS DEL TAMIZAJE DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE CEBOLLA Y JENGIBRE
- ANEXO J:** RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA Y LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE CEBOLLA Y JENGIBRE
- ANEXO K:** RESULTADOS DEL ANTIBIOGRAMA DE AZITROMICINA Y PENINCILINA EN CADA UNA DE LAS BACTERIAS EN ESTUDIO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Ac.	Ácido
A.C.	Antes de Cristo
ACSOs	Alquilcistein sulfónicos
MDR	Bacterias multidrogorresistentes
CCF	Cromatografía en capa fina
cm	Centímetros
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI	Concentración mínima inhibitoria
D.C.	Después de Cristo
DMSO	Dimetilsulfoxido
g.	Gramos
°C	Grados centígrados
NaOH	Hidróxido de sodio
KOH	Hidróxido de potasio
I	Intermedio
µl	Microlitro
mL	Mililitros
mg.	Miligramos
OMS	Organización Mundial de Salud
PPM	Partes por millón
PBPs	Proteínas de unión a penicilinas
R	Resistente
S	Susceptible
S.S.	Solución salina
T	Temperatura
TSB	Triptocaseída-soya
UFC	Unidad formadora de colonias
Vit.	Vitamina

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de *Allium cepa* (cebolla) y *Zingiber officinale* (jengibre) en cuatro cepas bacterianas de importancia clínica: *Staphylococcus aureus*, *klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae*, para ello se evaluó algunos parámetros como la selección del material vegetal el cual se recomienda realizarlo desde perspectivas etnofarmacológicas. Para nuestro estudio se empleó el método de dilución en agar para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI), de acuerdo con los resultados, se evidenció que los extractos alcohólicos de cebolla y jengibre presentaron un CMI de 50 µg/ml, capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Se establecieron parámetros de calidad e identificación de los fitoconstituyentes de las drogas vegetales en estudio, mismo que se basó en la identificación, pérdida de humedad y parámetros de calidad de la droga como la determinación de cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido clorhídrico y cromatografía en capa fina. Se determinó desde los índices menores a los máximos establecidos, demostrando la calidad y pureza de nuestra materia prima. El estudio químico cualitativo se realizó mediante tamizaje fitoquímico y de acuerdo con las reacciones de coloración y precipitación obtenidas, se evidenció la presencia de alcaloides, triterpenos, taninos, flavonoides, fenoles, cumarinas y catequinas para ambas especies. Finalmente, mediante el método de Kirby Bauer, se estableció la resistencia que presentan las bacterianas en estudio frente a antibióticos comerciales: azitromicina y penicilina, mediante esta prueba se estableció el poder bactericida que presentan los extractos en estudio. En conclusión, las plantas que son utilizadas como alimento convencional representan un gran potencial antibacteriano, razón por la cual es relevante realizar estudios sobre dichas especies para descubrir posibles compuestos antimicrobianos naturales que ayuden a combatir diversas infecciones.

Palabras clave: <TAMIZAJE>, <RESISTENCIA BACTERIANA>, <DROGA VEGETAL>, <MICRODILUCIÓN>, <KIRBY BAUER>.



20-12-2022

2456-DBRA-UPT-2022

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of *Allium cepa* (onion) and *Zingiber officinale* (ginger) extracts on four bacterial strains of clinical importance: *Staphylococcus aureus*, *klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae*, to this purpose some parameters were evaluated, such as: the selection of the plant material, which is recommended to carry out from ethnopharmacological perspectives. For our study, the agar dilution method was used to determine the minimum bactericidal concentration (MBC) and the minimum inhibitory concentration (MIC), according to the results, it was evidenced that the alcoholic extracts of onion and ginger presented a MIC of 50 µg/ml, capable of inhibiting bacterial growth. Quality parameters and identification of the phytoconstituents of the vegetable drugs under study were established, based on identification, moisture loss and drug quality parameters such as the determination of total ash, water-soluble ash, hydrochloric acid-insoluble ash and thin-layer chromatography. It was determined from the lower indexes to the maximum established, demonstrating the quality and purity of our raw material. The qualitative chemical study was carried out by phytochemical screening and according to the coloration and precipitation reactions obtained, the presence of alkaloids, triterpenes, tannins, flavonoids, phenols, coumarins and catechins was evidenced for both species. Finally, the Kirby-Bauer method was used to establish the resistance of the bacteria under study to commercial antibiotics: azithromycin and penicillin, by means of this test the bactericidal power of the extracts under study was established. In conclusion, plants that are used as conventional food represent a great antibacterial potential, that is why it is relevant to carry out studies on these species to discover possible natural antimicrobial compounds that help to combat various infections.

Keywords: <SCREENING>, <BACTERIAL RESISTANCE>, <VEGETAL DRUG>, <MICRODILUTION>, <KIRBY-BAUER>.



Edison Hernán Salazar Calderón

C.I. 0603184698

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más alarmantes para la comunidad científica, tanto para Medicina Humana como para la Veterinaria es el constante brote altamente mutagénico y peligroso que presentan algunas cepas bacterianas a uno o más antibacterianos, constituyendo un problema de salud pública a nivel mundial. La resistencia antimicrobiana, es uno de los problemas principales dentro de la salud pública, afectando a diversos países con un impacto negativo en el control de enfermedades bacterianas (López, 2018, p. 11).

Pese a que las industrias farmacológicas han producido nuevos antibióticos durante las últimas décadas, la resistencia a dichos fármacos por parte de los microorganismos ha incrementado, generalmente, las bacterias tienen una capacidad genética de transmitir y obtener resistencia a los fármacos, que se aplican como agentes terapéuticos. En contestación a la necesidad de lograr alternativas eficaces contra la resistencia antimicrobiana, se ha recurrido a la fitoquímica y fitofarmacológica (López, 2018, p. 11).

Las especies vegetales son una fuente fundamental de nuevos fármacos, poseen una creciente demanda en compuestos antimicrobianos debido al incremento poblacional con inmunodepresión y a la creciente resistencia a los antibióticos, lo cual constituye una amenaza mundial según apunta la Organización mundial de la salud (OMS) (Vivot et al. 2012, pp.133). Existe un enorme conjunto de sustancias naturales que tienen alguna actividad ante microorganismos, para lo que se ha planeado la idea de implementar el uso de compuestos o sustancias naturales para el procedimiento de patologías bacterianas como una opción natural.

La utilización de los vegetales, constituye una importante alternativa terapéutica, obedece no solo a los cambios culturales de muchos pueblos, sino también fundamentalmente al elevado costo de los fármacos. En este sentido el análisis científico de las plantas medicinales es una fuente importante para el hallazgo de nuevos fármacos que después se sintetizan, además posibilita un entendimiento más profundo de los vegetales que conduce a que varios productos naturales sean identificados como fitofármacos, o sea, compuestos que igualan el grado de los fármacos de síntesis (Vivot et al. 2012, pp.133).

Los extractos de origen vegetal se han presentado de forma útil y eficaz produciendo principalmente un mecanismo de defensa contra infecciones en el control de crecimiento de diversas bacterias. Por ello se ha generado el interés de investigar nuevos principios activos que

tengan actividad antimicrobiana como son los antibióticos, ya que gran parte de estos en la industria farmacéutica han sido producidos por microorganismos (Lara, 2015, pp.1047).

En este contexto plantas como la cebolla y el jengibre surgen como una alternativa natural para tratar las enfermedades de origen bacteriano. Si hablamos de la cebolla, esta es una alternativa que brinda capacidad bactericida debido a que posee compuestos azufrados en el bulbo, tales como la alicina, el disulfuro de alilpropilo y el disulfuro de dialilo, mientras que por su parte el Jengibre debe su actividad antibacteriana debido a la abundancia de terpenoides que posee en su estructura (Castillo, 2018, pp.1).

El presente Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, está enfocado en evaluar la actividad antibacteriana de la Cebolla (*Allium cepa*) y el Jengibre (*Zingiber officinale*) en cuatro cepas bacterianas tomadas del laboratorio de bacteriología de la Facultad de Ciencias (ESPOCH), mediante el método de microdilución. Por consiguiente, para lograr cumplir la meta planteada, se distribuye al proyecto de la siguiente manera:

- En capítulo I. Se detalla el planteamiento del problema, objetivos y justificación del proyecto, en el cual está enfocado determinar la actividad antibacteriana que poseen la cebolla y el jengibre frente a ciertas cepas bacterianas
- En el capítulo II. Las investigaciones previas de ambas especies vegetales y las referencias teóricas mediante el cual se fundamenta la investigación en base a los distintos conceptos investigativos, por ende, se justifica todas las decisiones planteadas dentro del estudio.
- En el capítulo III. Se realiza un análisis del marco metodológico en el cual se obtiene la población a estudiar, y además se detalla de manera minuciosa como se realiza las diferentes pruebas de control de calidad de los vegetales y la metodología de microdilución que se utiliza para obtener la concentración mínima inhibitoria.
- En el capítulo IV. Interpretación de datos, en la cual se explica cada uno de los resultados que se obtuvieron a la largo de la investigación.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema

En la actualidad el estudio científico de las plantas medicinales es de gran importancia para el descubrimiento de nuevos fármacos que luego se sintetizan, y a su vez permite una comprensión más profunda de los vegetales lo que conduce a que muchos productos naturales sean reconocidos como fitofármacos (Calachua, 2019, pp.2). Una problemática común hoy en día, es que existen plantas medicinales que tienen una actividad antimicrobiana conocida por la población, sin embargo, no han sido estudiadas fondo, con el fin de determinar sus beneficios.

La utilización de sustancias naturales en el tratamiento de diferentes enfermedades, incluidas las de etiología infecciosa, constituye en la actualidad un desafío en la medicina y se ofrece como una alternativa, especialmente en aquellas dolencias para las que no existe un remedio adecuado (Azuelo et al., 2016, pp.12).

Las investigaciones se centran en terapias alternas mediante la utilización de extractos de plantas, aceites esenciales, metabolitos secundarios etc. Hay una diversidad de procedimientos de laboratorio para evaluar la actividad antibacteriana in vitro de un extracto o un compuesto puro. Diversos bioensayos como la difusión en disco, la difusión de pozos y la dilución en caldo o en agar son procedimientos de uso común, pero los procedimientos citofluorométricos y bioluminiscentes de flujo no son muy utilizados ya que demandan de un equipo especializado (Montero et al., 2018, pp.1544).

En las últimas décadas tanto en el Ecuador, como en otros países del mundo, el uso indebido de antibióticos ha tenido unas consecuencias negativas en la salud de las personas. Gracias a este inadecuado uso de fármacos, las cepas bacterianas se han transformado, permitiendo con ello el surgimiento de cepas multi resistentes. En la actualidad, los microorganismos de más grande inquietud para la sociedad científica son esas bacterias resistentes a los betalactámicos, aminoglucósidos y quinolonas (Serra, 2017, pp.310).

En nuestro país, según datos del año 2008, emitidos por la Red Nacional de Vigilancia de Resistencia Bacteriana de Ecuador (REDNARBEC), se ha reportado que a nivel comunitario la resistencia de *Shigella spp* a tetraciclina fue del 96% y a ampicilina 93%, *Salmonella spp* fue resistente a tetraciclina en un 30%. *Escherichia coli* era resistente a ampicilina y tetraciclina en

un 71%, *Staphylococcus aureus* era resistente a eritromicina en un 30% y oxacilina en un 25% (Gomez & Pinargote, 2020, pp.23).

Estudios demuestran que componentes esenciales de algunas plantas, vegetales y frutas contienen sustancias como, aceites esenciales, compuestos fenólicos, que manifiestan actividad inhibitoria en microorganismos como bacterias, mohos y algunas levaduras. En Ecuador los estudios de *Allium cepa* demuestran que gracias a sus compuestos organosulfurados, estas presentan inhibición frente a algunos microorganismos como *B. subtilis*, *Serratia marcescens* y algunas micobacterias en medios microbiológicos (Mora & Ramos, 2020, pp.34)

Por otro lado, en los rizomas del jengibre están presentes de forma natural sustancias fenólicas como los gingeroles y los shogaoles que actúan en la captación de los radicales libres y protegen las células del daño oxidativo. Estas propiedades han sido documentadas en microorganismos y se ha comprobado su efecto inhibitor. “De acuerdo con algunas investigaciones, estas revelaron los efectos antimicrobianos de extracto de jengibre contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Escherichia coli*, dándonos un indicio para saber que puede ser un poderoso antibacterial” (Dávila, 2018, pp.9).

Este estudio, surge ante la necesidad de encontrar nuevas alternativas antibióticas que contribuyan de manera efectiva a dar una solución al problema de la resistencia bacteriana frente a los antibióticos, o en su defecto, ayuden a la disminución de brotes de enfermedades. Por tal razón los resultados obtenidos mediante investigación pueden contribuir a un mejor entendimiento de la bioactividad de estas especies vegetales mencionadas anteriormente, y con ello se conocerán los beneficios que éstas brindan a la población.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos *Allium cepa* (cebolla) y *Zingiber officinale* (jengibre).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos de la *Allium cepa* (cebolla) y *Zingiber officinale* (jengibre).

- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), de los extractos de *Allium cepa* y *Zingiber officinale* frente a enterobacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, y cocos gram positivos *Staphylococcus aureus*, utilizando el método de microdilución.
- Comparar la actividad antibacteriana frente antibióticos comerciales.

1.3. Justificación

La resistencia a los antimicrobianos es hoy una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo. La utilización indebida de fármacos en la gente y los animales, la falta de políticas de antibióticos y la no integración a Guías clínicas por ciertos expertos, aceleran esta peligrosidad y además se incurre en la prolongación de los tratamientos, por ende, de las patologías. (Serra, 2017. p. 311).

Al momento, uno de los problemas a los que se enfrenta la comunidad científica inmersa en el área de Salud, es la creciente aparición de cepas bacterianas resistentes a diversos antibióticos, por ello la búsqueda de nuevas alternativas antibióticas se ha convertido en una prioridad en los últimos años, los esfuerzos de la comunidad científica se han depositado en el descubrimiento y estudio de nuevos antibióticos. (Baptista et al., 2017. p. 18).

Últimos estudios de la OMS revelan que son muchos los países que carecen de instrumentos fundamentales para hacer frente a la resistencia a los antibióticos, tales como sistemas básicos de seguimiento y monitorización del problema. Algunos países han tomado medidas para la prevención de las infecciones mediante una mejor higiene, el acceso al agua potable, el control de las infecciones en los centros sanitarios y la vacunación, a fin de reducir la necesidad de antibióticos (Yaguana, 2015. p. 1).

Como última medida se ha apostado por la investigación y el desarrollo de nuevos productos diagnósticos, antibióticos y otros instrumentos que permitan a los profesionales sanitarios tener ventaja ante la resistencia emergente. En cuanto a la búsqueda de nuevas alternativas antibióticas, se ha recurrido, una vez más, al uso de sustancias bioquímicas cuya procedencia suele derivar del metabolismo de ciertos microorganismos y de otros organismos pluricelulares más complejos como plantas y algunos animales marinos (Yaguana, 2015 p. 1).

La evaluación de la actividad antimicrobiana en la actualidad ha surgido del estudio de sustancias químicas que poseen algunas plantas y que tienen la capacidad de eliminar o inhibir el desarrollo

de microorganismos; sin embargo, debido a la comercialización irresponsable de antibióticos en las últimas décadas ha contribuido a establecer un ambiente acogedor para las bacterias, lo que a su vez ha provocado resistencia a los impactos tóxicos de los antimicrobianos (Serra, 2017. p. 311).

Existen ya grandes aportes que nos permiten idealizar y materializar proyectos encaminados a la prevención y tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos resistentes a antibióticos; estudios han demostrado que ciertas plantas como la cebolla, el ajo y el cilantro presentan actividad antibiótica frente a microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y algunos tipos de *Salmonella* (Yaguana, 2015. p. 2).

Estudios realizados por (Munzón & Barreto, 2021. p. 30), revelaron que el extracto de cebolla roja (*Allium cepa*) inhibe el desarrollo de levaduras. Su mecanismo es debido a la presencia de diferentes metabolitos y éste se fundamenta en la inactivación de diferentes enzimas como la alcalina, fosfatasa, ureasa y papaína, así como también las enzimas sulfhídricas. De igual manera se ha evaluado la capacidad inhibitoria del jengibre y según estudios de (Ayala, 2016. p. 5) “el extracto de Jengibre posee un efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*”.

El presente trabajo de investigación es muy relevante puesto que pretende aportar pruebas concretas sobre la actividad antibacteriana de ciertos productos naturales, como lo es la cebolla y el jengibre, mismos que son usados en la vida diaria y que son de fácil acceso para la población en general.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En la actualidad el uso indiscriminado de antibióticos se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial. La exposición continua de las bacterias a medicamentos antimicrobianos ha generado que estas se adapten y se hagan inmunes a su efecto. “La resistencia a los antimicrobianos es uno de los problemas más grandes para los sistemas de salud, la seguridad alimentaria y el desarrollo, y puede afectar a todo tipo de población independientemente de la edad, sexo, raza o estatus social” (Serra, 2017, pp.310).

Los efectos de la resistencia antimicrobiana son medibles como el aumento en costos de tratamiento, mayor tiempo de estancia hospitalaria, aumento de la mortalidad y morbilidad por microorganismos que antes no eran patógenos. Esto además contribuye a la falla en el tratamiento, dificulta la aplicación de guías, limitando el tratamiento empírico, y conduce al uso de antibióticos menos efectivos, o con efectos secundarios mayores (Serra, 2017, pp.310).

En las últimas décadas, la industria farmacéutica se ha dedicado exclusivamente a la producción de fármacos sintéticos, a lo largo de décadas, dejando atrás la medicina ancestral que tomaba como base, los extractos de las plantas medicinales. Si hablamos de Ecuador, este no es la distinción, pues las plantas con características medicinales representan una de los instrumentos trascendentales en la medicina clásica, puesto que se vio que muchas plantas muestran actividad antifúngicas y antibacterianas capaces de encarar a distintas infecciones causadas por patógenos resistentes a antibióticos (Mesa, 2017, pp.18).

La resistencia bacteriana ha crecido en los últimos años, por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas. La utilización de las plantas como agentes terapéuticos, se ha mantenido a lo largo del tiempo y puede afirmarse que aproximadamente el 60-80% de la población mundial todavía depende de los tratamientos tradicionales que implican el uso de extractos de plantas o de sus principios activos que utiliza la industria farmacéutica para elaborar fármacos (García & Díaz 2012, pp.10).

En este contexto, los compuestos bioactivos presentes en algunas plantas medicinales pueden tener diversas actividades biológicas, tales como la acción antimicrobiana de *Allium cepa*, que es

utilizada, de forma etnofarmacológica para el tratamiento de diversas enfermedades tales como la tuberculosis, la diabetes, la hipertensión, etc. (Cruz et al., 2016, pp.193).

Especies del género *Allium*, como es la cebolla, son buenas fuentes de nutrientes. Contienen polifenoles y flavonoides, sin embargo, la concentración de estos compuestos depende de la etapa de crecimiento y de las condiciones ambientales en las que se encuentren. Se ha determinado que las especies de cebollas coloradas contienen en su estructura mayor concentración de flavonoides (Mora & Ramos, 2020, pp.38).

De igual manera de acuerdo con un estudio realizado por Hang, en la República de Corea, acerca de las “propiedades antimicrobianas de las especies de *Allium*”, se comprobó la capacidad antibacteriana de varias especies de *Allium*, incluyendo el ajo (*A. sativum L.*) y la cebolla (*A. cepa L.*) y se determinó que la actividad antimicrobiana del ajo es mayor. La actividad antimicrobiana de las especies *Allium* ha sido reconocidos compuestos como la alicina, otros tiosulfatos y sus productos de transformación que actúan inhibiendo el crecimiento de bacterias grampositivas y gramnegativas (Sánchez, 2017, pp.7).

Por otro lado, estudios señalan que el aceite esencial de jengibre produce efecto antimicrobiano sobre la bacteria gram positiva *E. faecalis*, según Hansan, la concentración mínima inhibitoria y concentración máxima inhibitoria se evaluaron mediante el método de microdilución después de 24 horas. Por lo que se deduce que el extracto de jengibre puede ser un prometedor agente terapéutico profiláctico (Guanoluisa, 2017, pp.66).

En la actualidad se registran innumerables investigaciones encaminadas a la exploración de nuevos compuestos con actividades biológicas, a partir de la evaluación de actividades antimicrobianas en extractos y aceites esenciales provenientes de plantas medicinales y aromáticas. Para ello se emplea técnicas por su factibilidad y reproductibilidad” (Vera, 2018, pp.2).

2.2. Marco Conceptual

2.1.1. Resistencia Bacteriana

Las patologías ocasionadas por bacterias multidrogorresistentes (MDR) producen alta morbilidad y mortalidad, por lo cual es fundamental entender las propiedades que definen la resistencia a antibióticos en dichos microorganismos. Es importante nombrar que el fenómeno de resistencia bacteriana es complicado y que los descubrimientos de susceptibilidad in vitro no siempre tienen la posibilidad de traducirse a la práctica clínica, variando conforme el escenario clínico y a los fármacos accesibles en cada organización de salud (Icaza, 2017, pp.15).

La definición tradicional de resistencia bacteriana cataloga a dichos microorganismos entre resistentes o sensibles de acuerdo a la probabilidad de tartar las infecciones que generan con un antibiótico determinado, logrando de esta forma el “éxito terapéutico” una vez que la bacteria es susceptible y el “fracaso terapéutico” una vez que la bacteria es resistente. De esta forma, se han establecido concentraciones mínimas inhibitorias o CMI que organizan a las bacterias entre susceptibles, resistentes o intermedias (Icaza, 2017, pp.15).

Gran parte de las bacterias presentan genes que, de manera natural proporcionan algún tipo de resistencia a los antibióticos. Las causas de dicha resistencia son múltiples, tanto desde el punto de vista genético como bioquímico. Los dos métodos genéticos claves por los que un microorganismo se hace resistente son la aparición de alteraciones o la adquisición de nuevos genes por transferencia (Ibañez & Navarro, 2019, pp.26).

2.1.2. Mecanismo de Resistencia

Para comprender la aparición de bacterias resistentes, se necesita entender los mecanismos con los que dichos microorganismos se adaptan a su ambiente y a condiciones adversas que estén impidiendo su desarrollo habitual. Además de mutaciones puntuales en el ADN bacteriano que generen resistencia antibiótica, hay 3 mecanismos relevantes para la transferencia de material genético o además llamada transferencia horizontal de genes (Icaza, 2017, pp.17).

Primeramente, la transformación, es el procedimiento por medio del cual una bacteria transfiere información genética a otra mediante plásmidos. Estos plásmidos codificados por una pilosidad en la superficie de una bacteria donadora, transmitirá información genética a otra bacteria receptora pegándose a su área y sirviendo como un puente para la transferencia de ADN (Hernandez, n.d, pp.3)

En segundo lugar, en la transducción la bacteria donadora inyecta ADN en la bacteria receptora a través de bacteriófagos, que son segmentos de ADN recubiertos de proteínas que se adhieren a la pared de la bacteria receptora. Este es el mecanismo más práctico de transferencia de genes de resistencia entre bacterias y se estima que representa una fundamental táctica de intercambio genético responsable de la evolución bacteriana, no únicamente referente a genes de resistencia a antibióticos (Munita & Arias, 2016, pp.466).

Por último, la conjugación ocurre cuando la bacteria donadora libera segmentos lineales de ADN cromosómico que posteriormente podrán ser absorbidos por otra bacteria receptora e incorporados a su genoma (Hernandez, n.d, pp.3).

2.1.3. Tipos de Resistencia

Debido a la gran capacidad que tienen las bacterias para adaptarse, estas han desarrollado varios mecanismos de resistencia a los antibióticos, estos mecanismos pueden ser de origen natural o adquirida.

2.1.3.1. Resistencia Natural

Esta se define como una característica constante entre todas las 16 cepas de una misma especie bacteriana y que no tiene relación con la dosis del agente antibiótico. Una evidencia de resistencia intrínseca es la especie bacteriana *Proteus mirabilis* que mediante la presencia de un tipo de lipopolisacárido reduce la similitud de la colistina a su sitio de acción (Rodríguez, 2020, pp.20).

2.1.3.2. Resistencia adquirida

Aparece por cambios puntuales en el DNA ya sea por mutación o por la adquisición de material genético a través de plásmidos, trasposones e integrones. En el caso de la mutación se dan casos tales como la transformación de una betalactamasa en una betalactamasa de espectro extendido, o las mutaciones de los genes que codifican las porinas, con el consecuente bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo (Yaguana, 2015, pp.9).

Desde el punto de vista molecular y bioquímico, existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente a un efecto antibiótico, estos son:

2.1.3.3. Resistencia por inactivación del antibiótico

Es un procedimiento molecular que se distingue por la producción de enzimas que van a llevar a cabo esta función. Las enzimas que destrazan la estructura química, más conocidas, son las betalactamasas que se caracterizan por hidrolizar el núcleo beta-lactámico rompiendo el enlace amida (Samuria, 2020, pp.17).

2.1.3.4. Resistencia por alteración del sitio blanco del antibiótico

En este mecanismo se cambian algunos sitios concretos de la morfología celular, como pared celular, subunidad 50s, 30s ribosomales, etc. De esta manera la modificación de enzimas catalizadoras en la producción de proteoglicanos celulares, otorgarán resistencia a los betalactámicos, dados que es esta enzima su sitio de acción (Yaguana, 2015, pp.10).

La resistencia bacteriana concedida por los cambios del lugar en donde actúa el antibiótico se apoya en la modificación de ciertos sitios específicos de la célula bacteriana como la membrana celular, la pared celular, la subunidad 50S o la subunidad 30S ribosomales, entre otras. Referente a las modificaciones a grado ribosomal tenemos la posibilidad de nombrar los cambios que ocurren en las subunidades 30S y 50S los cuales son los sitios de acción de aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas y lincosamidas (Troncoso et al., 2017, pp.1216).

2.1.3.5. Resistencia por barreras de permeabilidad

Existen dos mecanismos de resistencia:

Resistencia por entrada disminuida del antibiótico: Este mecanismo se debe a los cambios que se otorgan en los receptores bacterianos específicos para los antimicrobianos o por alteraciones estructurales en los elementos de envoltura de la célula bacteriana (membrana o pared celular) que repercuten en la permeabilidad, así como también a la pérdida de la función del transporte activo por medio de la membrana celular o la expresión de bombas de eflujo las cuales se activan en el instante en que el antibiótico se mete a la célula bacteriana (Troncoso et al., 2017, pp.1216).

Resistencia por eflujo activo: Se da por la presencia de proteínas de membrana especializadas. Se afecta la elaboración de energía y se reduce no simplemente la entrada del antibiótico, sino que a su vez las bacterias disminuyen la concentración del antibiótico y se promueve la extracción activa del mismo (Yaguana, 2015, pp.12).

2.1.4. Cepas Bacterianas

*2.1.4.1. Características de *Klebsiella pneumoniae*, y perfil de sensibilidad*

Klebsiella pneumoniae es una bacteria que presenta una forma bacilar, anaerobia facultativa, inmóvil y comúnmente encapsulada, ampliamente dispersa en el ambiente, y se presenta de manera específica en las superficies mucosas de mamíferos; en los humanos invade la nasofaringe

y el tracto gastrointestinal. Son bacterias gramnegativas, la asimilación y la fermentación de la lactosa se puede observar en el agar MacConkey donde las colonias son de color rosado (Puenayán, 2018, pp.12).

Esta bacteria pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, es la especie de mayor relevancia clínica y la más estudiada dentro del género *Klebsiella*. Comúnmente desarrolla una cápsula que opera como factor concluyente en la virulencia de la bacteria. La cápsula resguarda al microorganismo de la fagocitosis de los polimorfonucleares y de los elementos bactericidas séricos, inhabilitando la activación del complemento, especialmente del C3b (Puenayán, 2018, pp.12).



Ilustración 1-2: Morfología de cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Fuente: Procedimientos microbiológicos.

Klebsiella pneumoniae, posee una betaclamasas cromosómica de amplio espectro, por lo que es naturalmente resistente al amino y carboxipenicilinas. Gran parte de las cepas son sensibles al resto de los preparados betalactámicos, entre ellos se incluyen los monobactams. Esta se caracteriza por presentar una betalactamasas denominada SHV-1, reconocida como de codificación plasmídica en la mayoría de las especies donde se ha detectado. Esta enzima las puede hacer resistentes a ureidopenicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación (Schmidberger & Marín 2019, pp.3)

Los anfenicoles son antibióticos derivados del ácido dicloroacético, en ese grupo se describe el cloranfenicol, que es un antibiótico batenostático, pero en altas concentraciones tiene acción bactericida, es de amplio espectro y su mecanismo de acción consiste en unirse a la fracción 50s del ribosoma bacteriano para impedir la síntesis de proteínas por la bacteria. Actualmente se usa el cloranfenicol como tratamiento para *Kiebsiella pneumoniae*. (López, 2015, pp.15).

2.1.4.2. Características de *Enterobacter cloacae* y perfil de sensibilidad

La *Enterobacter cloacae* es una bacteria que pertenece al género *Enterobacter*, de la familia de las *Enterobacteriaceae*. Son cepas no pigmentadas, la mayoría de las veces móviles, catalasa positiva, oxidasa y ADNasa negativas, fermentan la glucosa, fermentan la lactosa por lo tanto se observan como colonias rosadas en Agar McConkey, reducen los nitritos, reacción de indol negativa, decarboxilan la ornitina, no decarboxilan la lisina y son citrato y ureasa positiva (Silva & Martínez 2018, pp.298).

La caracterización de especies dentro del complejo es complicada y necesita pruebas extras, como la hidrólisis de esculina, fermentación del azúcar, dulcitol y D-sorbitol, y producción de putrescina, entre otras (Silva & Martínez 2018, pp.298).

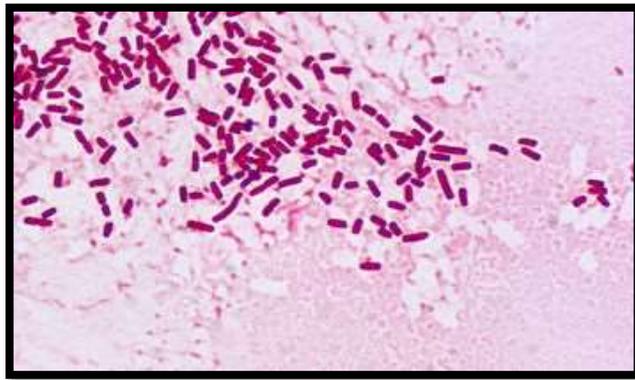


Ilustración 2-2: Morfología de cepas de *Entorabacter cloacae*

Fuente: Procedimientos microbiológicos.

Las tasas de resistencia antibiótica han aumentado globalmente durante los últimos años, sobre todo en los bacilos gramnegativos, debido a que presentan alto perfil de resistencia al producir naturalmente betalactamasas cromosómicas inducibles AmpC (Jiménez et al. 2020, pp.166).

E. cloacae presenta una disminución de la sensibilidad a fosfomicina y es el microorganismo con menor porcentaje de sensibilidad a trimetoprim/sulfametoxazol y a piperacilina/tazobactam. Durante el año 2016 *E. cloacae* tuvo un descenso de la sensibilidad a nitrofurantoína, con porcentajes de sensibilidad del 28%. Debido al gran número de mecanismos de resistencia que puede desarrollar *E. cloacae* es recomendable realizar un antibiograma para poder elegir el tratamiento más adecuado, hoy en día, se recomienda incluir en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana (Jiménez et al. 2020, pp.169).

2.1.4.3. Características de *Echerichia coli* y perfil de sensibilidad

Echerichia coli es una de las especies bacterianas más cuidadosamente estudiadas, y no simplemente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de indagaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*, la misma que está integrada por bacilos gramnegativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos (Yaguana, 2015, pp.15).

Esta es una bacteria mesófila, su óptimo de desarrollo se encuentra en el entorno de la temperatura corporal de los animales de sangre caliente (35-43 °C). *E. coli* se caracteriza por poseer bacilos gramnegativos, no esporulante, producción de indol a partir de triptófano, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas (Lopez, 2018, pp.10).

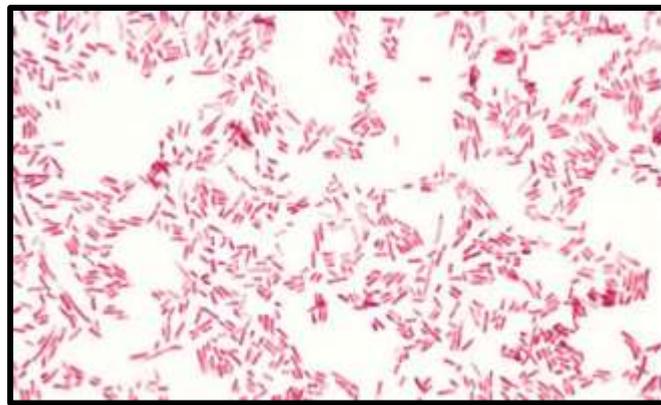


Ilustración 3-2: Morfología de cepas de *Echerichia coli*

Fuente: (Yaguana, 2015).

En cuanto al tratamiento para esta bacteria, se puede señalar que la sensibilidad de las diferentes cepas de *E. coli* varía ampliamente. Los antibióticos que generalmente son empleados pueden para tratar infecciones ocasionadas por esta bacteria incluyen amoxicilina, y además penicilinas semi-sintéticas, algunas cefalosporinas, Aztreonam, carbapenems, Nitrofurantoina Ciprofloxacina, y los aminoglucósidos (Yaguana, 2015, pp.41).

Las quinolonas son sustancias poderosas contra bacterias gramnegativas, útiles para el tratamiento antimicrobiano. Las quinolonas de segunda generación como el norfloxacino y el ciprofloxacino presentan una mayor actividad ante gérmenes gramnegativos, por lo que se suele usar como tratamiento frente a las infecciones causadas por cepas de *E. coli*. También se ha empleado el uso de fármacos como trimetoprima-sulfametoxazol, nitrofurantoína o fluoroquinolonas, no obstante, muchas cepas se han vuelto resistentes a estos antibióticos (Arés et al., 2017, pp.83).

2.1.4.4. Características de *Staphylococcus aureus* y perfil de sensibilidad

Staphylococcus aureus es un microorganismo de difícil tratamiento y es capaz de colonizar e invadir las células de su hospedero, lo cual es posible debido a su fisiopatología, donde se hallan mecanismos de resistencia como la creación de biopelícula las cuales producen una matriz extracelular constituida primordialmente por proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos. La formación de esta matriz causa que la interacción de los antibióticos con las bacterias no se dé de manera adecuada generando fallas en los tratamientos (Pasachova et al., 2019, pp.28).

Taxonómicamente el género *Staphylococcus* se encuentra en la familia bacteriana Staphylococcaceae. El género *Staphylococcus* contiene al presente 32 especies y 8 subespecies aerobias y anaerobias facultativas. Esta bacteria está clasificada como un coco grampositivo que se agrupa en racimos, β hemolítico, catalasa y coagulasa positivo (Pasachova et al., 2019, pp.28).

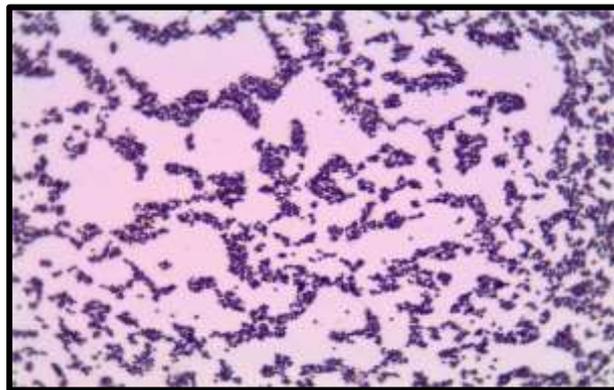


Ilustración 4-2: Morfología de cepas de *Staphylococcus aureus*

Fuente: (Yaguana, 2015).

Uno de los primeros antibióticos, que se solía utilizar para el tratamiento de *S. aureus* es la penicilina, sin embargo, debido a la gran resistencia que estos han presentado, hoy en día menos del 10 por ciento de las cepas presentan susceptibilidad a este fármaco. Por lo que se ha optado por utilizar los derivados de la penicilina como la amoxicilinaclavulánico y ampicilina-sulbactam, como tratamiento frente a *S. aureus* (Yaguana, 2015, pp.14).

La cefazolina es una cefalosporina de primera generación utilizado para el tratamiento de las infecciones invasoras por *S. aureus* de la sangre y el corazón, sin embargo, la cefazolina no puede penetrar bien en el líquido cerebroespinal y, por lo tanto, es ineficaz contra el centro de las infecciones del sistema nervioso. Debido a la gravedad de la enfermedad, el antibiótico se administra generalmente por vía intravenosa (Yaguana, 2015, pp.14).

La vancomicina se utiliza para tratar infecciones causadas por *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA), este antibiótico, con quien se tiene una mayor experiencia clínica, y la teicoplanina, constituyen uno de los fármacos de primera elección en el tratamiento de las infecciones causadas por cepas SARM (Camarena & Sánchez, n.d, pp.23). La combinación de los antibióticos Trimetoprim/sulfametoxazol (TMP/SMX) se puede utilizar para tratar infecciones causadas por cepas sensibles a meticilina y resistente a la meticilina de *S. aureus* (Yaguana, 2015, pp.15).

2.1.5. Alternativas Antibióticas

Los principales problemas de resistencia detectados en América Latina lo producen las bacterias gramnegativas, principalmente los bacilos no fermentadores como *Pseudomonas sp.* y *Acinetobacter sp.*, *Escherichia sp.* y *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* y otras enterobacterias como *Serratia sp.* y *Citrobacter sp.* (López et al., 2016, pp.195). Frente a tal problemática es importante regionalizar los estudios, analizando los efectos de potenciales plantas con propiedades antibióticas sobre patógenos aislados localmente.

Debido al incremento de casos de resistencia a antibióticos, la ciencia médica lleva a cabo nuevas maneras de combatir infecciones microbianas y sobre todo nuevos constituyentes químicos naturales. Existe una infinidad de plantas y especies con reconocidas propiedades y virtudes terapéuticas para curar o aliviar enfermedades y varios tipos de infecciones (Yaguana, 2015, pp.19).

Generalmente, la multirresistencia se ha desarrollado debido al uso indebido de antibióticos comerciales usados habitualmente para tratar las patologías infecciosas. Tal situación, así como la aparición de efectos indeseables de algunos antibióticos, ha llevado a los científicos a averiguar novedosas sustancias antimicrobianas partiendo de plantas consideradas popularmente medicinales. Los ensayos realizados hasta este momento revelan que las plantas representan una potencial fuente de nuevos agentes antimicrobianos (Mendoza et al., 2019, pp.145).

2.1.6. Plantas con propiedades antibióticas

La industria farmacéutica, por mucho tiempo ha producido antibióticos procedentes de microorganismos tipo levaduras u hongos, y se ha dejado de lado a las plantas, sin tomar en cuenta que las plantas superiores producen antimicrobianos como mecanismo de defensa contra infecciones o pueden ser sustancias constituyentes del metabolismo celular; entre las principales sustancias con actividad antibiótica tenemos alcaloides, cumarinas, fenoles simples, flavonas,

quinonas y taninos (Yaguana, 2015, pp.20). Entre las plantas con actividad antibióticas más importantes tenemos:

- ***Allium sativum*** (Ajo): Se utiliza el bulbo. Tiene actividad antiviral, así como también antibacteriana. El principio activo que le otorga tales características es un aminoácido azufrado, la alicina.
- ***Coriandrum sativum*** (Cilantro o Culantro): Se usan las hojas. Su aceite tiene propiedades antibióticas frente a bacterias Gram negativas.
- ***Cuminum cyminum*** (Comino): Su aceite esencial presenta una marcada acción antibacteriana y antifúngica. El compuesto que le otorga tal efecto es el cuminaldehído.
- ***Origanum vulgare*** (Oregano): Los extractos acuosos y alcohólicos, así como el aceite esencial poseen una poderosa actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*.
- ***Allium cepa*** (Cebolla): La actividad antimicrobiana de las especies *Allium* ha sido reconocidos, con alicina, otros tiosulfínatos y sus productos de transformación que actúan inhibiendo el crecimiento de bacterias grampositivas y gramnegativas.
- ***Zingiber officinale*** (Jengibre): Los aceites esenciales de jengibre origina un efecto antimicrobiano sobre agentes microbianos como *E. faecalis*, y *S. mutans* (Yaguana, 2015, pp.20).

2.1.7. *Allium cepa* (Cebolla)

La cebolla, *Allium cepa.*, es una planta monocotiledónea herbácea bienal que comúnmente se cultiva como planta periódica, menos para producir semilla. La cebolla pertenece a la familia *Alliaceae*. El género *Allium* es uno de los más amplios y diversos, con aproximadamente 500 especies, siendo la cebolla la más significativa de ellas. Bajo este mismo género también se hallan otras plantas cultivadas de importancia, como el cebollín, el ajo y el puerro (Rullán, 2012, pp.167).

2.1.7.1. Origen

Se especula que el origen de la cebolla se remota oeste de Asia, probablemente en la zona donde se encontraba la antigua Persia. De acuerdo con lo observado en tumbas del antiguo Egipto, su uso por el ser humano data de tiempos arcaicos, esto tan temprano como 3,200 a 2780 A.C. Su inducción al norte de Europa sucedió aproximadamente 500 D.C., al comienzo de la Edad Media. Actualmente, este cultivo se encuentra esparcido por casi todas partes del mundo (Rullán, 2012, pp.167).

2.1.7.2. Características de la planta

Morfológicamente la cebolla esta descrita como una planta herbácea, cuya parte comercial es un bulbo tunicado, que presenta variación en la forma, color, pungencia, tamaño y conservación pos-cosecha (Rullán, 2012, pp.167).

- **Hojas:** Son contrapuestas y alternas, lanceoladas, compuestas por una vaina envolvente y una lámina fistulosa hueca y ovalada. Cada hoja nueva nace por medio de un poro que se abre entre el límite de la vaina y la lámina, de modo que la lámina externa envuelve a todas las hojas agrandadas. El conjunto de las vainas circundantes compone un órgano hinchado denominado botánicamente bulbo tunicado.
- **Sistema radicular:** Es de tipo fasciculado, formado por raíces adventicias originadas en el tallo cónico durante el desarrollo vegetativo. Gran parte de las raíces están inmersas a una profundidad de 25 cm y lateralmente a 15 cm.
- **Tallo:** Tiene forma de disco, con entrenudos muy cortos, forma la base del bulbo y se ubica debajo del nivel del suelo. En el centro del disco caulinar se encuentra el meristemo apical en donde germinan las hojas.
- **Bulbo:** Se forma a partir del aumento de las hojas basales (catáfilas) donde se acumulan las sustancias de reservas. Suelen diversas formas y colores.
- **Flores:** frecuentemente son vistosas, de color blanco o lila, agrupadas en una inflorescencia del tipo umbela. Son hermafroditas, pero no son autógamias pues poseen protandria, que es la liberación del polen antes de que el estigma esté receptivo.
- **Fruto:** se presenta en forma de capsula trilocular que contiene de una a dos semillas por lóculo.
- **Semilla:** es pequeña, de superficie lisa mientras crece, de color negro, y arrugada al madurar, debido a la pérdida de agua. Luego de la cosecha muestra dormición cerca de dos semanas (Rullán, 2012, pp.167).



Ilustración 5-2: *Allium cepa*

Fuente: (Hurrell et al., 2005).

2.1.7.3. Principales componentes

Los componentes químicos vitales responsables de la acción terapéutica en las cebollas son los que a continuación se describen:

- **Componentes sulfurados:** monosulfuros, disulfuros, tiosulfinatos, tiosulfonatos, trisulfuros, cepaenos, sulfóxidos, dióxidos de azufre, zwielanos.
- **Flavonoides:** isorhamnetina, quercetina, kaempferol.
- **Aceite esencial:** alicina y disulfuros.
- **Antocianinas.**
- **Ácidos fenólicos:** protocatéquico, ácido ferúlico, ácido gálico.
- **Saponinas y/o saponinas:** gitogenina, sitosterol, ácido oleanólico,
- **Fructosanos y fructooligosacáridos:** acroleína, glucoquina, pectina, adenosina, inulina.
- **Vitaminas:** Vit. C, complejo B, Vit. E, provitamina A.
- **Minerales:** Fósforo, Azufre, Calcio, Potasio, Sodio, etc

2.1.7.4. Efecto antibiótico y mecanismo de acción

Según la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, *Allium cepa* es rica en nutrientes ya que posee dos grupos químicos que han sido útiles y favorecedores para la salud humana como son: los flavonoides y los alquilcistein sulfónicos (ACSOs). Dentro de los flavonoides se encuentran dos subgrupos de moléculas de antocianidinas, En el bulbo se encuentran presentes compuestos azufrados, como la alicina, el disulfuro de alilpropilo y el disulfuro de dialilo, le brinda su capacidad bactericida. (Mora & Ramos, 2020, pp.37).

Estudios confirmativos sobre alicina volátil y otros tiosulfinatos, que dan sensación de ardor producido por las familias *Allium*, son agentes antimicrobianos. Los tiosulfinatos se descomponen para llegar a formar compuestos azufrados adicionales, incluyendo dialil, metil alilo y dipropil mono-, di-, tri-tetra-sulfuros sin perder actividad antimicrobiana. El género *Allium* es caracterizado porque posee elementos polares de origen esteroideal y fenólico, a menudo glicosilados, que tienen actividad antimicrobiana. Algunos compuestos orgánicos nitrogenados, como alcaloides y polipéptidos, también se han aislado de estas plantas y han mostrado actividad antimicrobiana. (Salvador, 2017, pp.17)

El primordial efecto antimicrobiano de la alicina se debe a la reacción química de la misma con diversas enzimas pertenecientes al grupo thiol, En el caso de las bacterias, la alicina inhibe las

enzimas acetato quinasa y la fosfotransacetil-CoA sintetasa, fundamentales para la formación de acetil-CoA. Un estudio ha mostrado también que la alicina inhibe la síntesis de proteínas y de ADN, sin embargo, el efecto inhibitorio en la síntesis de ARN es inmediato, lo que apunta que este podría ser su blanco principal sobre el cual opera. (Yaguana, 2015, pp.22).

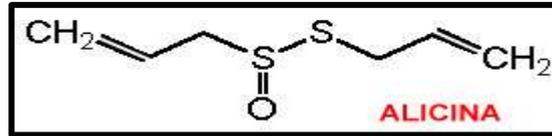


Ilustración 6-2: Molécula de Alicina

Fuente: Fitoterapia.

2.1.8. *Zingiber officinale* (Jengibre)

El jengibre, es una planta herbácea que forma parte de la familia de las zingiberáceas. La porción que se come es el rizoma. Es una especie vegetal que se usa en la elaboración de alimentos, y es apreciado por sus efectos medicinales desde tiempos antiguos (Salgado, 2011, pp.169).

2.1.8.1. Origen

Es una planta cuyo comienzo se remota en el sudeste asiático, exactamente del área de Indomalaya al sur de Asia, donde se cultiva desde hace 3.000 años. Habitada en Jamaica, en las Indias, África, México, Occidentales, y en la Florida. Su cultivo es muy añejo, especialmente en China, en Europa fue reconocido desde la antigüedad por griegos y romanos (Blas, 2017, pp.2).

2.1.8.2. Características de la planta

Morfológicamente el jengibre, está definida como una planta herbácea, cuya parte productiva es el rizoma.

- **Rizoma:** Tubérculo articulado, generalmente tiene la forma de mano, a los cuales se les denomina rizomas, es la parte fundamental de la planta, de un olor fuerte aromático; posee un sabor agrio, picante. Sus rizomas presentan un color cenizo por fuera y por dentro tiene un color blanco amarillento.
- **Hojas:** Son oblongas, lanceoladas, situadas a lo largo del tallo en dos líneas paralelas como las de maíz.

- **Flores:** Son, amarillas, sésiles y labios purpúreos, unidas en una espiga densa al extremo del tallo, muy vistosas, están colocadas en espigas cónicas y soportadas por escamas empizarradas.
- **Fruto:** Seco y valvoso.



Ilustración 7-2: *Zinger officinale*

Fuente: Fitoterapia.

2.1.8.3. Principales componentes

Los componentes químicos responsables de actividad terapéutica en el jengibre son los que a continuación se detallan:

- **Terpenos:** farneseno, felandreno, zingibereno, α -curcumeno, dextrocamfeno, pinol, linalol, geraniol, citral, borneol, β -bisaboleno, metilheptenona zingiberol
- **Aldehídos:** decílicos y nonílicos.
- **Resina:** A este compuesto se debe gran parte de su sabor picante pues posee compuestos fenólicos como el gingerol (0,6-1,4%) y shogoal o zingiberona.
- **Diarilheptanoides:** gingerenonas A y B. Ceras,
- **Vitaminas:** Vit. A.
- **Minerales:** Calcio, Azufre, Potasio, Fósforo, Sodio, Magnesio, etc (Castillo, 2018, pp.91).

2.1.8.4. Efecto antibiótico y mecanismo de acción

Sus propiedades medicinales se atribuyen a una molécula orgánica denominada gingerol. Este es un compuesto activo del jengibre fresco. Se encuentra habitualmente como un aceite de color amarillento penetrante, pero también puede poseer una forma sólida cristalina de bajo punto de fusión. Químicamente el gingerol, es un pariente de la piperina y capsaicina, los compuestos que le otorgan a los chiles y la pimienta negra sus respectivos grados de picantes (Guanoluisa, 2017, pp.25).

Por otro lado, los terpenos que son los encargados del olor fuerte aromático poseen un efecto antimicrobiano, antiviral, antitumoral y alimenticio utilizado como condimento, por eso su

importancia en el ámbito medicinal. También se ha verificado que el citronelol, geraniol, linalol actúa en contra de un gran número de bacterias perjudiciales incluso frente a aquellas antibiorresistentes, al igual que hace efecto contra hongos (*candida*) y hasta levaduras (Guanoluisa, 2017, pp.25).

De acuerdo con la biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana, el jengibre tiene característica antiinflamatorias, anticancerígenas, antiespasmódicas, cardioprotectoras, promueve el correcto funcionamiento del intestino, actúa frente a enfermedades del sistema respiratorio (asma y resfriado común) y muestra actividad antibiótica frente a *Bacillus subtilis*, *Pseudomona aeruginosa*, *E. coli*, *Proteus bulgaris*, *S. typhi*, *Serratia marscescens*, *P. fluorescens* (Ojeda & Beltrán, 2018, pp.3).

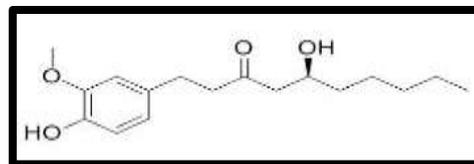


Ilustración 8-2: Molécula de Gingerol

Fuente: Fitoterápia.

2.1.9. Metodología para evaluar la actividad antibacteriana

2.1.9.1. Método de Dilución

La técnica de dilución en agar o en caldo como examen de susceptibilidad microbiana se usa para establecer la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria (MIC), misma que se define como la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el desarrollo de un microorganismo luego de incubar por 24 horas, y la (MBCs) como la concentración más baja que puede evitar el crecimiento de un organismo luego de subcultivar en un medio independiente del compuesto evaluado, estas variables son un instrumento para investigar nuevos antimicrobianos (Bucay, 2018, pp.23).

En el método de dilución en caldo, son usados tubos o microplacas (microdilución) que tienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. El organismo en análisis es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la MIC es definida luego de la incubación (Bucay, 2018, pp.23).

En este procedimiento, las cajas se siembran por profundidad con una cierta concentración de extracto vegetal, después se inoculan con el microorganismo en análisis y se incuban por 24 horas,

luego de ésta, se revisa si el microorganismo crece o no todas las cajas, la primordial desventaja de este método es la porción necesaria de muestra a evaluar (Bucay, 2018, pp.24).

Las metodologías de microdilución en caldo son una técnica eficaz para determinar MIC, en un enorme conjunto de muestras. La virtud sobre los procedimientos de difusión radica en un crecimiento de la sensibilidad para porciones pequeñas, lo que es fundamental una vez que se labora con productos naturales, además posibilita distinguir entre un efecto bactericida o bacteriostático (Bucay, 2018, pp.24).

Determinación de la MIC: La cuantificación de la acción in vitro de los antimicrobianos se valora comúnmente mediante algunas de las variantes de los procedimientos de dilución. La MIC se ha determinado como "Gold Standard" ante otros procedimientos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; asimismo de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas una vez que el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado (Ramirez, 2009, pp.3).

La potencia viene dada por:

- Concentración mínima inhibitoria (MIC): es la menor concentración de antibiótico idónea para inhibir el crecimiento de 10⁵ bacterias en 1 mL de medio de cultivo, tras 18-24 horas de incubación.
- Concentración mínima bactericida (MBC): es la menor concentración capaz de eliminar o matar 10⁵ bacterias en 1 ml de medio de cultivo, tras 18-24 horas de incubación (Ramirez, 2009, pp.3).

Para la determinación de la Concentración mínima inhibitoria (MIC) y Concentración mínima bactericida (MBC) se inoculan tubos con disoluciones conocidas del antimicrobiano. Después se establece cual inhibe el crecimiento bacteriano al cabo de 24 horas. Para calcular la MIC, se hace un subcultivo en medio independiente de antibiótico e incuba por otras 24 horas. En los tubos donde no hay desarrollo bacteriano se debe a que previamente se habían muerto todas. De esta forma se puede aludir que un fármaco bactericida es bacteriostático a menores concentraciones (Bucay, 2018, pp.24).

Una vez determinada cual es la MIC (in vitro), se contrastan con las concentraciones plasmáticas que se alcanzan in vivo a las dosis terapéuticas comúnmente prescritas para cada antimicrobiano y el resultado y se genera como: Susceptible (S), intermedio (I) y resistente (R).

Tabla 1-2: Interpretación de los resultados en el antibiograma

Susceptibilidad (S)	Cepa es inhibida a las concentraciones normales alcanzadas en tejidos
Intermedio (I)	Evitarse si existen otros antimicrobianos más efectivos
Resistente (R)	Cepa no es inhibida a las concentraciones normales en tejidos

Fuente: (Bucay, 2018).

Realizado por: Huerta, M. 2022.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Lugar de la investigación

Este estudio in vitro se realizó en los laboratorios de Productos Naturales, Tecnología Farmacéutica, Laboratorio de Bacteriología y Laboratorio de Análisis de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Riobamba- Ecuador.

3.2. Tipo y diseño de la Investigación

3.2.1. Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo experimental, pues el investigador manipula las condiciones de la investigación, de tal manera se realizó una valoración para determinar la efectividad de la actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de cebolla y jengibre, y sus resultados serán expresados de manera cuantitativa.

A su vez se aplicó un método Comparativo, pues el mismo permite contrastar los resultados del experimento, y establecer si existe diferencia significativa entre los agentes antimicrobianos (extractos de de *Allium cepa* y *Zingiber officinale* frente a enterobacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, y cocos gran positivos *Staphylococcus aureus*, utilizando el método de microdilución. Por otro lado, el estudio es prospectivo porque sus datos serán registrados conforme ocurre del proceso de experimentación.

3.2.2. Diseño de la investigación

El diseño en el que se basa esta investigación, es experimental, debido a que se dio la manipulación de la variable independiente con el propósito de evaluar la concentración mínima inhibitoria de los extractos a la cual se presenta la actividad antibacteriana.

3.2.3. Identificación de variables

- **Variable dependiente:** Evaluación de la *actividad antibacteriana en cepas bacterianas*

- **Variable independiente:** *Extractos alcohólicos de las plantas Allium cepa y Zingiber officinale*

Concentraciones de extracto alcohólico: 96%

3.3. Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo

3.3.1. Población de la variable dependiente

Para corroborar la efectividad de la actividad antibacteriana de las especies *Allium cepa* y *Zingiber officinale*, se realizó un estudio in vitro, sembrando cepas bacterianas de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*.

3.3.2. Población de la variable independiente

La población de estudio son las partes aéreas de *Allium cepa* y *Zingiber officinale*. La recolección del material vegetal se realizará en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba, mediante un muestreo aleatorio simple para obtener aproximadamente 7000g de las especies vegetales en estudio. Para la recolección del material vegetal se tomarán en cuenta los siguientes criterios:

3.3.2.1. Criterios de inclusión

Se toman en cuenta criterios como las mejores especies vegetales que presenten buen estado, cuya parte de la planta a analizar se encuentre en muy buen estado y no exista ningún factor que intervenga en el estudio.

3.3.2.2. Criterios de exclusión

Se excluyen de la investigación aquellas plantas que presenten daños por acción de animales o insectos, ejemplares que presenten deterioro por agua o viento. Plantas que se encuentren en proceso de descomposición o con contaminación microbiológica.

3.3.3. Técnica de recolección de datos

Para la determinación de la efectividad de la actividad antibacteriana de los extractos de la cebolla y el jengibre, se procedió a sembrar cultivos bacterianos y se determinó la capacidad mínima inhibitoria de los extractos mediante la técnica de microdilución. Por otro lado, para verificar la

calidad de cada uno de los extractos, se realizó ensayos organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos.

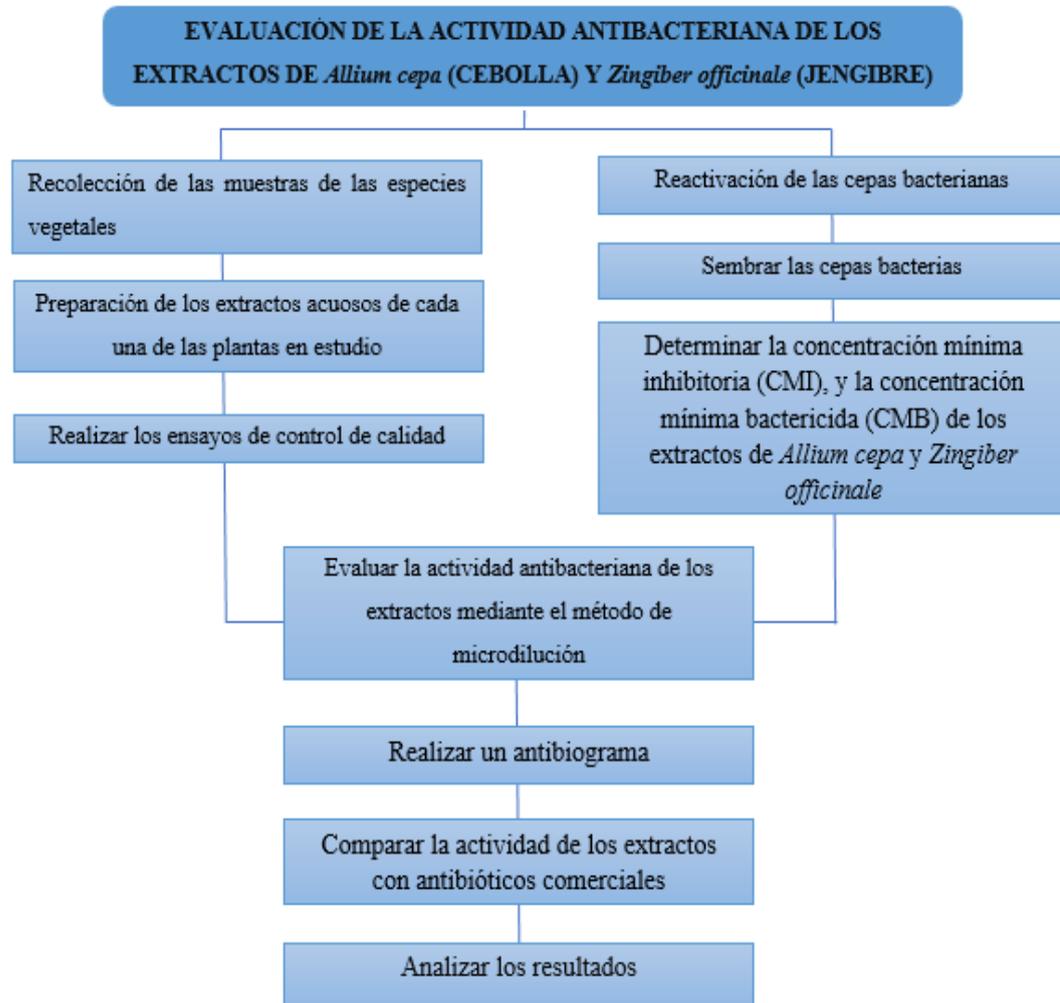


Ilustración 1-3: Procedimiento general para la evaluación de la actividad antibacteriana de la Cebolla y el Jengibre

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.4. Material, Equipos y Reactivos

3.4.1. *Materia prima vegetal*

La materia prima vegetal conocida como *Allium cepa* (Cebolla) y *Zingiber officinale* (Jengibre), fueron recolectadas en la Provincia de Chimborazo, en la ciudad de Riobamba en el Mercado Mayorista.

3.4.2. Material biológico

Para este ensayo in vitro, se empleó cuatro cepas bacterianas: enterobacterias como la *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, y cocos gran positivos como *Staphylococcus aureus*, mismas que fueron cultivadas en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Estas fueron activadas y cultivadas en agar cerebro corazón.

3.4.3. Materiales

Tabla 1-3: Materiales

Crisol de porcelana	Vaso de precipitación de 50 mL	Pipetas graduadas de 5 mL
Pinzas de crisol	Vaso de precipitación de 25 mL	Pipetas graduadas de 1 mL
Frascos ámbar	Vaso de precipitación de 100 mL	100 tubos de ensayo
Papel de filtro	Vaso de precipitación de 250 mL	Gradilla
Papel aluminio	Probeta de 50 MI	Espátula
Kitasato	Probeta de 100 mL	Pizeta
Mechero	Pipetas graduadas de 10 mL	Vidrio reloj
Pera de succión	Capilares	Espátula
Cuba	Frascos tipo splash	Guantes
Placa de silicagel	Cajas Petri	Mascarilla
Mandil		

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.4.4. Equipos

Tabla 2-3: Equipos

Mufla.	Balanza analítica	Bomba al vacío
Desecadora	Calculadora	Rotavapor
Estufa	Sorbona	Estufa de secado
Liofilizador	Cámara UV	Baño maría

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.4.5. Reactivos

Tabla 3-3: Reactivos

Ácido clorhídrico al 10 %	Hidróxido de sodio al 10%	Reactivo Wagner
Agua destilada	Ácido clorhídrico concentrado	Reactivo Dragendorff
Ácido nítrico	Hidróxido de amonio concentrado	Reactivo Fehling A
Solución de nitrato de amonio 10g/100mL	Ácido sulfúrico concentrado	Reactivo Fehling B
Peróxido de hidrógeno concentrado	Hidróxido de potasio al 5%	Solución patrón de Solasodina
Etanol	Cloroformo	Anhidrido acético
Magnesio metálico	Reactivo Mayer,	Reactivo Rosenthaler
Reactivo de gelatina	Cloruro férrico al 1%	

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.5. Técnicas y Métodos

Para estimar o evaluar las drogas vegetales, se establece ciertos métodos en los que se establece su calidad y pureza. La calidad de la droga vegetal se traduce en su valor intrínseco o lo que es lo mismo la cantidad de compuestos activos presentes en ella. Por lo que la evaluación de las drogas se ejecuta por distintos métodos como son: la percepción y el análisis físico – químico.

Los métodos utilizados para el control de calidad de las drogas crudas fueron los siguientes:

3.5.1. Ensayo botánico

3.5.1.1. Recolección de plantas e identificación botánica (Análisis macromorfológico)

Para la presente investigación se utilizó las plantas de *Allium cepa* (Cebolla) y *Zingiber officinale* (Jengibre), los cuales fueron lavados con agua purificada y secados en la estufa a 40° C y 55° C, respectivamente por 72 horas y trituradas hasta obtener pequeñas partículas a lo cual se le conoce como material vegetal seco y triturado.

Para la identificación del material vegetal, se realizó en el Herbario Politécnico Chimborazo (CHEP) de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, sin embargo, el Ing. Jorge Marcelo Caranqui Aldaz, indicó que, al ser estas plantas exóticas, no necesitan ningún permiso para poder trabajar con las mismas.

3.6. Procedimiento general

3.6.1. Características organolépticas de la planta *Allium cepa*

Para la selección de la planta, se tomó en cuenta sus características organolépticas tales como las que se describen a continuación:

- **Forma:** globosa, esférica o elipsoidal.
- **Tamaño:** su diámetro fluctúa entre los 3 y los 10 centímetros.
- **Peso:** su peso medio se encuentra entre los 100 y los 250 gramos.
- **Color:** blanco, amarillo, rojo intenso, violáceo o con o sin vetas.
- **Sabor:** usualmente picante, sin embargo, de acuerdo a la variedad también las hay dulces.

3.6.2. Características organolépticas de la planta *Zingiber officinale*

Para la selección de la planta, se tomó en cuenta sus características organolépticas tales como las que se describen a continuación:

- **Forma:** mano regordeta.
- **Color:** marrón por fuera y blanco-amarillento
- **Sabor:** tiene un sabor picoso y es de fuerte y agradable aroma
- **Tamaño:** oscila entre 50 y 100 centímetros de alto
- **Peso:** su peso medio se sitúa entre los 250 gramos.

3.6.3. Secado y Macerado de las plantas *Allium cepa* y *Zingiber officinale*

El secado es una acción de transmisión simultánea de calor y masa debido a la discrepancia de temperatura y presión parcial del vapor de agua entre el alimento húmedo y la atmósfera que lo rodea. Por su parte la maceración es un proceso de extracción sólido - líquido que utiliza disolventes orgánicos para diluir los compuestos presentes en la matriz vegetal deshidratada. Este proceso es recomendado a nivel de laboratorio debido a que forma un rendimiento duplicado ya que se elimina los componentes volátiles y no volátiles de la especie (Gomis, 2018, pp.37).

Para el secado y macerado de las plantas en estudio, se procedió de la siguiente manera:

1. Se sometió 7 Kg de cebolla y jengibre a un proceso de secado artificial, mediante el secado en estufa
2. Una vez que tenemos la cebolla cortada en capas y el jengibre pelado, se seca en la estufa a una temperatura de 50°C y 40°C respectivamente

3. Con las plantas completamente secas, procedemos a pulverizar, hasta obtener partículas muy finas y polvorientas.
4. Realizamos el macerado de la planta, que consiste en agregar alcohol al 96% a la planta triturada.
5. Se deja reposar durante 5 días, con la finalidad de que el alcohol absorba todos los compuestos de la planta.
6. Se filtra con la ayuda de un embudo y papel filtro hasta obtener la extracción alcohólica
7. Pesar el balón vacío, se procede a colocar la muestra y se pesa el total de la misma
8. Evaporación del solvente (alcohol); el matraz con la muestra filtrada se acopló a un rotavapor para extraer el etanol, dicho matraz se sumergió parcialmente en baño maría termostataada a 56.3 ° C hasta la evaporación total del solvente y obtención de la fracción deseada.
9. El solvente evaporado se condensó y recuperó en un colector.
10. Se pesa el concentrado seco que se obtuvo

3.6.4. Determinación del contenido de humedad

La presencia de abundancia de agua en las drogas vegetales, puede originar el crecimiento de hongos, insectos y la hidrólisis de constituyentes que ocasionan el deterioro de la droga. Es por ello, que los límites del contenido de agua deben ser determinado para las drogas vegetales, fundamentalmente para aquellas que absorben de manera fácil la humedad o en las cuales el deterioro puede ser originado por la presencia de un exceso de agua (Meza & Vargas, 2013, pp.9).

Los límites de agua comúnmente establecidos en las farmacopeas oscilan entre 8 y 14% con pocas excepciones. Los dos procedimientos más usados para establecer el contenido de agua en las drogas vegetales son el gravimétrico (pérdida por desecación) y el azeotrópico (destilación con tolueno). El método gravimétrico es el más factible, sin embargo, no es aplicable a drogas que tienen sustancias volátiles. El método azeotrópico demanda de un equipo especial, lo cual dificulta su uso, pero es ajustable a drogas que contengan sustancias volátiles (Meza & Vargas, 2013, pp.14).

Para la determinación del contenido de humedad de *Allium Cepa*, y *Zingiber officinale* se utiliza el equipo y el principio del método de ensayo que se describe en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3: Contenido de Humedad

Equipo	Principio del Método
Mettler Toledo (HB43-S)	El dispositivo es un analizador de humedad que usa una fuente calorífica halógena, la determinación se fundamenta en el principio termogravimétrico, que radica en medir los cambios de masa en función de la diferenciación de temperatura a la que se somete el material (Tirado, Montero y Acevedo 2015, pp.4).

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.5. Determinación del contenido de cenizas totales, solubles en agua y ácido insoluble

Se designan cenizas totales al residuo inorgánico que se consigue al carbonizar una droga, esencialmente en su determinación gravimétrica.

Las cenizas solubles en agua es aquella porción de las cenizas totales que se diluyen en agua y los ácidos insolubles, el residuo que se consigue luego de la disolución de las cenizas totales en ácido clorhídrico al 10% (Gutiérrez & Gonzáles, 2021, pp.5).

A. Determinación de cenizas totales.

Se establece la masa de no menos de 2.0g ni más de 3.0g de la porción de ensayo molida y tamizada con una desviación de 0.5mg en un crisol de porcelana o platino (de acuerdo con la sustancia analizada) preliminarmente tarado. Calentar lentamente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y luego incinere en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, si no se establece otra temperatura en la norma concreta, durante 2h. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el procedimiento hasta que dos pesadas continuas no difieran en más de 0.5mg por g (masa constante) (Gutiérrez & Gonzáles, 2021, pp.5).

Para obtener la masa constante el tiempo entre calentamiento y pesada son de 30min. Si el restante muestra trazas de carbón, se le aumentan unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta vaporizar los solventes. Cuando se enfría el crisol el restante generalmente tiene un color blanco o casi blanco (Gutiérrez & Gonzáles, 2021, pp.5).

Expresión de los resultados:

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} * 100$$

Ecuación 3-1: Cenizas totales

Fuente: (Gutiérrez & Gonzáles, 2021).

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la fracción de ensayo (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para los cálculos.

B. Determinación de cenizas solubles en agua.

A las cenizas totales obtenidas en A, se le agrega de 15 a 20 mL de agua. El crisol se cierra y se calienta lentamente a la flama del mechero durante 5min. La disolución se filtra por medio del papel filtro libre de cenizas. El filtro con el restante se traslada al crisol inicial, se carboniza en un mechero y después se incinera en un horno mufla de 700-750 °C, durante 2h. Luego se coloca en una desecadora y una vez alcanza la temperatura ambiente se pesa. Se repite el proceso hasta alcanzar peso constante (Meza & Vargas, 2013, pp.27)

Expresión de los resultados.

$$Ca = \frac{M2 - Ma}{M1 - M} * 100$$

Ecuación 3-2: Cenizas solubles en agua

Fuente: (Meza & Vargas, 2013).

Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M₂ = masa del crisol con las cenizas totales (g).

Ma = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M₁ = masa del crisol con la porción del ensayo (g)

M = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático.

C. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.

A las cenizas totales obtenidas de acuerdo con la técnica, se le añaden de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se cubre con un vidrio reloj y se calienta en un baño de agua hirviendo por aproximadamente 10min. Se lava el vidrio reloj con 5mL de agua caliente y se agrega al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido clorhídrico p.a; al cual se le agrega de una o dos gotas de nitrato de plata 0.1mol/L, hasta no evidenciar presencia de cloruros.

El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 °C, se traslada al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750 °C durante 2h (si no se indica otra temperatura).

Consecutivamente se coloca en una desecadora y cuando alcanza la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante (Meza & Vargas, 2013, pp.27)
Expresión de los resultados.

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Ecuación 3-3: Cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Fuente: (Meza & Vargas, 2013).

B= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g)

M₁= masa del crisol con la fracción de ensayo (g)

M₂= masa del crisol con la ceniza (g)

100= factor matemático para los cálculos.

3.6.6. *Cromatografía en capa fina*

En este procedimiento, la fase estacionaria permanece en una capa fina de un adsorbente (puede ser alúmina, gel de sílice, o celulosa) ubicada en una columna plana como una lámina de vidrio, de aluminio o de plástico. La CCF es un procedimiento analítico y tiene como objetivo el estudio de una mezcla de componentes (Lorenzo, Frías y Villa 2019, pp.30).

El procedimiento es equivalente a la cromatografía de papel con la ventaja de que se desarrolla más rápido, facilita mejores separaciones y se puede optar entre diferentes adsorbentes. La CCF es un método estándar en el laboratorio de química orgánica. Debido a su sencillez y velocidad, se usa a menudo para monitorizar las reacciones químicas y además para el análisis cualitativo de los productos de una reacción, pues permite conocer de manera rápida y sencilla cuántos componentes existe en una mezcla (Lorenzo, Frías y Villa 2019, pp.30).

Procedimiento

- Una placa de CCF es una lámina de vidrio, metal o plástico revestida con una capa delgada de un sólido adsorbente (gel de sílice o alúmina).
- Colocar una pequeña cantidad de la muestra problema en disolución en un punto en la parte inferior de la placa, introducir la placa en una cubeta cromatográfica, de forma que sólo la parte inferior de la placa queda inmersa en el líquido.
- Este líquido o eluyente es la fase móvil y sube por la placa de CCF por capilaridad.
- A medida que el eluyente pasa por la zona donde está la mancha de la mezcla problema se establece un equilibrio entre las moléculas de cada una de las sustancias en la mezcla que son adsorbidas y las que se hallan en disolución.

- Los componentes se diferenciarán en solubilidad y en la eficacia de su adsorción, de forma que unos componentes se correrán más que otros.
- Una vez que el eluyente alcanza la parte superior de la placa, se retira de la cubeta, se seca, y los componentes separados de la mezcla se visualizan (Lorenzo, Frías y Villa 2019, pp.30).

3.6.6.1. Visualización de las manchas

Si los compuestos son coloreados se alcanzan a observar las manchas a simple vista. Si no es así, existen varias técnicas para visualizar las manchas correspondientes a cada componente de la mezcla.

1. Usar luz ultravioleta para observar la placa. Habitualmente se añade un colorante fluorescente al adsorbente, de forma que la placa sea fluorescente en todas partes menos donde haya una mancha correspondiente a un compuesto orgánico.
2. Utilizar reveladores, como los vapores de yodo que es un reactivo inespecífico.
3. Utilizar reactivos concretos para desarrollar coloración en las manchas. Esto se puede hacer sumergiendo la placa de CCF en una disolución que los contenga o en forma de spray (Lorenzo, Frías y Villa 2019, pp.31).

3.6.6.2. Cálculo del factor de retención R_f

Cuando son visibles, se logra determinar para cada una de las manchas el valor de R_f (factor de retención), o el recorrido que cada compuesto se desliza en la placa. Cada compuesto tiene un R_f característico que depende del disolvente empleado y del tipo de placa de CCF manipulada, pero es independiente del recorrido del disolvente. De esta manera se consigue ayudar a identificar un compuesto en una mezcla al comparar su R_f con el de un compuesto conocido (preferible cuando se hacen eludir en una placa semejante de CCF) (Lorenzo, Frías y Villa 2019, pp.31).

$$R_f = \frac{\text{distancia corrida por la muestra}}{\text{distancia corrida por el solvente}}$$

Ecuación 3-4: Cálculo del R_f

Fuente: (Lorenzo, Frías y Villa 2019.)

3.6.7. Tamizaje del extracto alcohólico de la Cebolla y Jengibre

El tamizaje fitoquímico o también conocido como screening fitoquímico es una etapa inicial de la investigación fitoquímica, que facilita establecer cualitativamente los grupos químicos importantes presentes en una planta y orientar la sustracción y separación de los extractos para el

aislamiento de los grupos de mayor interés (Balseca, 2017, pp.3). Este se sustenta en la extracción de la planta con solventes adecuados y la aplicación de reacción de color y precipitación.

El ensayo fitoquímico de los extractos alcohólicos de la cebolla colorada (*Allium Cepa*) y el jengibre (*Zingiber officinale*) se determinó mediante diferentes pruebas de acuerdo con (Aurora, 2017, pp.86).

3.6.7.1. Ensayos para el reconocimiento de Flavonoides

Tabla 5-3: Ensayo Shinoda

Reconoce	Procedimiento	Resultado
FLAVONOIDES	Realizar la prueba en la campana de extracción y sujetando el tubo de ensayo con una pinza. Disolver el extracto en 5 mL de etanol. Colocar un trozo de magnesio metálico, adicionar 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado.	Si se forma una coloración naranja a rojo, indica la presencia de flavonas Si es rojo flavonoles Si es magenta flavononas (Pujol et al. 2020, pp.2)

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 6-3: Reacción de hidróxido de sodio al 10%

Reconoce	Procedimiento	Resultado
FLAVONOIDES	Realizar la prueba en la campana de extracción y sujetando el tubo de ensayo con una pinza. Disolver el extracto en 5 mL de etanol Adicionar 0,5 mL de hidróxido de sodio	Si se forma una coloración de amarillo a rojo, revela la presencia de flavonas y xantonas. Si se forma una coloración de café a naranja indica la presencia de flavonoles. Si se forma una coloración de púrpura a rojizo indica la presencia de chalconas Si se forma una coloración azul indica la presencia de antocianinas (Pujol et al. 2020, pp.2).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.7.2. Ensayos para el reconocimiento de Cumarinas

Tabla 7-3: Reacción con hidróxido de amonio:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
CUMARINAS	Disolver una porción del extracto en 3 mL de etanol Al tubo adicionar dos gotas de hidróxido de amonio concentrado.	Se considera positiva la prueba si se presenta una fluorescencia azul-violeta bajo la luz ultravioleta (Pujol et al. 2020, pp.2).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.7.3. Ensayos para el reconocimiento de Quinonas/Antraquinonas

Tabla 8-3: Reacción con hidróxido de amonio:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
QUINONAS/ ANTRAQUINONAS	Disolver una porción del extracto en 3 mL de etanol Adicionar una gota de hidróxido de amonio concentrado al extracto.	Se considera positiva la prueba para antraquinonas al tener la presencia de una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos (Pujol et al. 2020, pp.2).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 9-3: Reacción con ácido sulfúrico:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
QUINONAS/ ANTRAQUINONAS	Disolver una porción del extracto en 3 mL de etanol. Se añade 1 gota de ácido sulfúrico concentrado a otra fracción del extracto.	La formación de una coloración roja indica la presencia de quinonas (Pujol et al. 2020, pp.2).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 10-3: Ensayo Börntrager:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
QUINONAS/ ANTRAQUINONAS	Diluir el extracto con 6 mL de agua destilada, se filtra, al líquido filtrado, se le añaden 3 mL de KOH 5%; calentando a ebullición por 3 mnt, enfriando y realizar una extracción	Un color rojo revela la presencia de benzoquinonas; si es amarillo verdoso, agregar 1 gota de peróxido de hidrógeno al 6%. Si la coloración cambia a roja, se

con 6 mL de cloroformo. La fase acuosa se elimina y a la fase clorofórmica se le añade 4 mL de KOH 5%. La fase considera positiva para derivados de antrona. (Pujol et al. 2020, pp.3).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.7.4. Ensayos para el reconocimiento de Alcaloides

Todos los ensayos deben hacerse siempre con la muestra disuelta o redisolta en HCl 10 % acuoso.

Tabla 11-3: Ensayo de Mayer, Wagner y Dragendorff

Reconoce	Procedimiento	Resultado
ALCALOIDES	Tomar una porción del extracto etanólico y adicionar entre 6 mL de ácido clorhídrico al 10 %, calentar en baño de María por cinco minutos, enfriar y filtrar. Posteriormente dividir el filtrado en 3 tubos (2,0 mL) de ensayo identificados para cada reactivo. Adicionar en el respectivo tubo el reactivo de Mayer, Wagner o Dragendorff hasta la aparición de turbidez o precipitados.	Reactivo de Mayer (precipitado blanco), Wagner (precipitado rojo pardo) Dragendorff (precipitado rojo-naranja) (Pujol et al. 2020, pp.3).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.7.5. Ensayos para el reconocimiento de Triterpenos y/o esteroides

Tabla 12-3: Ensayo de Lieberman Bouchard:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
TRITERPENOS/O ESTEROLES	En un tubo de ensayo limpio y seco, tomar una pequeña cantidad de extracto etanólico previamente llevado a sequedad, adicionar cloroformo o diclorometano en cantidad suficiente que cubra la muestra, colocar en el ultrasonic hasta	La prueba es positiva cuando surgen coloraciones verdes, violeta, o azul. Al formarse una coloración azul o verde en la interfase, hay presencia de esteroides. Si la coloración es rosa, rojo, magenta o violeta habrá presencia

disolver la muestra, añadir 0,5 mL de anhídrido acético, adicionar cuidadosamente por la pared del tubo, dos gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.7.6. Ensayos para el reconocimiento de Saponinas

Tabla 13-3: Prueba de altura y estabilidad de espuma:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
SAPONINAS	En un tubo de ensayo colocar 1 mL de solución acuosa del extracto, agitar vigorosamente durante un minuto y tomar la altura de la espuma, en caso de que se presentara.	Si se forma abundante espuma, estable aproximadamente 5 minutos es prueba presuntiva de la presencia de saponinas en la muestra (Pujol et al. 2020, pp.3).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 14-3: Ensayo Rosenthaler (Reactivo de Vainillina)

Reconoce	Procedimiento	Resultado
SAPONINAS	A una porción del extracto concentrado, adicionar dos gotas del reactivo Rosenthaler y estratificando con dos gotas de ácido sulfúrico concentrado.	Si se forma una coloración violeta se considera positiva para saponinas triterpenoidales Si se forma una coloración verde se considera positiva para saponinas esteroidales (Pujol et al. 2020, pp.3).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.7.7. Ensayos para el reconocimiento de Taninos/Compuestos fenólicos

Tabla 15-3: Reacción con gelatina:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
TANINOS/ COMPUESTOS FENÓLICOS	Disolver una porción del extracto en 3 mL de agua. Al tubo, colocar 2 gotas de reactivo de gelatina.	La formación de un precipitado blanco indica presencia de taninos (Pujol et al. 2020, pp.3).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 16-3: Reacción de cloruro férrico:

Reconoce	Procedimiento	Resultado
TANINOS/ COMPUESTOS FENÓLICOS	Disolver una porción del extracto en 3 mL de agua.	De azul a negro derivados del ácido gálico
	Adicionar al tubo una gota de cloruro férrico al 1%,	Coloraciones verdes de derivados del catecol.
		Una coloración azul identifica a taninos hidrolizables Una coloración verde identifica a los taninos (Pujol et al. 2020, pp.3).

Fuente: (Pujol et al. 2020.)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

3.6.8. Método de Microdilución

Etapa 1: Preparación del agente antimicrobiano

- Se recomienda realizar una solución inicial que sea diez veces superior a la primera y que se quiera estudiar frente al microorganismo y utilizar en el día o almacenar congelado.
- Se logran diferentes concentraciones del agente antimicrobiano efectuando sucesivas diluciones con la adición del medio de cultivo.
- A la hora de realizar las diluciones se debe examinar que éstas se diluirán a su vez tras la suma de volumen con el inóculo.

(Fernández et al. 2012, pp.743).

Etapa 2: Preparación del medio de cultivo

- El medio de cultivo será líquido, se puede utilizar caldo nutritivo
- Para prepararlo, se debe pesar en una balanza de precisión la cantidad de caldo nutritivo liofilizado especificada por el distribuidor según el volumen a utilizar, que depende de la cantidad de pruebas a realizar.
- Disolver totalmente en el volumen correspondiente de agua destilada mediante la ayuda de un agitador.
- Esterilizar mediante la autoclave.

Etapa 3: Preparación del medio del inóculo

- Tomar 500 µL de cada bacteria y colocar en tubos previamente preparados con 4,5 ml de solución salina (S.S)
- Realizar 3 diluciones (10^{-3})
- A partir de la dilución 10^{-3} tomamos 500 µL de la solución y la colocamos en 2 tubos previamente preparados con 4,5 ml de caldo nutritivo y realizar 2 diluciones más.

Etapa 4: Siembra de los inóculos en los pocillos

- Se seleccionan las placas que contienen 96 pocillos (12 mm x 8 mm)
- Se estudia en cada una de ellas, el mismo microorganismo, 8 antimicrobianos y 11 diluciones (la última columna generalmente se usa como control de crecimiento) o viceversa.
- Las láminas de microdilución tienen que taparse con adhesivo para evitar la vaporización del medio de cultivo cuando se incuben.
- Las placas inoculadas se dejan a temperatura ambiente hasta que las gotas de inóculo estén secas.
- A continuación, se incuban a 35°C por aproximadamente 16 a 20 horas y se realiza su lectura.

(Fernández et al. 2012, pp.743).

3.6.9. Kirby-Bauer (sensibilidad a los antibióticos)

En el método de Kirby Bauer, el microbio es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se ubican discos empapados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se inoculan durante 16-18 horas a 35- 37°C. Durante la incubación, el fármaco se difunde desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va reduciendo a medida que se separa del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir la bacteria en estudio (Montero et al. 2018, pp.1544).

El diámetro del área de inhibición en torno al disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) acorde a tablas publicadas por los organismos encargados del control de tales métodos, como, por ejemplo, el Comité Nacional de Estandar de Laboratorios Clínicos de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratories Standards (Montero et al. 2018, pp.1544).

Para obtener resultados confiables y veraces mediante esta técnica, es indispensable seguir fielmente las instrucciones que daremos a continuación:

- Fundir el medio de cultivo y dejarlo enfriar a una temperatura de 45-50°C.
- Verter suficiente cantidad de medio de cultivo en una caja Petri, para conseguir una capa de aproximadamente 4 mm de espesor.
- Dejar solidificar el medio de cultivo y rápidamente secar las placas durante 30 minutos antes de usarlas para la inoculación.
- Inocular la placa mediante un hisopo estéril utilizando una suspensión del microorganismo de 18 a 24 horas de incubación. Para la inoculación empapar un hisopo estéril en el cultivo y eliminar el exceso rotándolo contra la pared interna del tubo. Frotar el hisopo en la superficie del medio de cultivo.

- Repetir este procedimiento por tres veces sucesivas, rotando la placa para lograr una dispersión similar del inóculo en toda la superficie.
- Poner la tapa a la placa y esperar que esta se seque el inóculo durante 3 a 5 minutos.
- Colocar los discos con los antibióticos en el agar mediante pinzas estériles o usando un aplicador de discos. Oprimir los discos dócilmente con una pinza para aseverar un buen contacto con el medio de cultivo. Los discos deben estar separados de manera que su trayecto a la pared de la placa sea de 15 mm y entre ellos de 30 mm.
- Incubar a 35 – 37°C hasta el siguiente día (aproximadamente 18-24 horas).
- La medida del diámetro de la zona de inhibición se realiza desde el exterior de la placa, sin quitar la tapa, esto puede realizarse con una regla milimetrada, un vernier.
- El diámetro de la zona se informa en milímetros, se busca en el gráfico y el resultado se informa como sensible, resistente o intermedio (Montero et al. 2018, pp.1544).

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El presente trabajo es de tipo experimental y se muestran los resultados obtenidos durante la presente investigación. Para la ejecución de este trabajo, primero se seleccionó la materia prima, en este caso se tomó en cuenta las características organolépticas de la cebolla y el jengibre para elegir los mejores especímenes. A continuación, se realizó las pruebas de control de calidad, como la determinación de la pérdida de humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua y de cenizas insolubles en ácido clorhídrico, demostrando la calidad y pureza de nuestra materia prima.

Luego de esto se procedió con el secado y macerado de cada planta, se obtuvo el extracto alcohólico de cada droga vegetal con una concentración del 96% para realizar el tamizaje fitoquímico y determinar la presencia de metabolitos secundarios. Una vez obtenido cada extracto, se determinó la CMI y CMB mediante el método de microdilución en las diferentes cepas bacterianas. Finalmente, mediante el método de Kirby Bauer se pudo establecer la resistencia que poseen las bacterias en estudio a ciertos antibióticos comerciales y con ello se corroboró que la actividad que presentan dichas plantas es efectiva.

4.1. Análisis organolépticos de las drogas vegetales

Durante este estudio se determinó las características organolépticas de cada una de las drogas vegetales en estudio y se estableció las siguientes particularidades

Tabla 1-4: Características organolépticas de la Cebolla

Parámetro	Cebolla
Forma	Globosa, esférica o elipsoidal.
Tamaño	Entre los 3 y los 10 centímetros.
Peso	250 gramos.
Color	Blanco, rojo intenso, amarillo, violáceo.
Sabor	En general picante, sin embargo, también las hay dulces.
Olor	Olor aliáceo

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 2-4: Características organolépticas del Jengibre

Parámetro	Jengibre
Forma	Mano regordeta.
Tamaño	Entre 50 y 100 centímetros de alto
Peso	250 gramos.
Color	Marrón por fuera y blanco-amarillento
Sabor	Sabor picoso y agradable aroma
Olor	Característico aroma perfumado y refrescante

Realizado por: Huerta, M. 2022.

4.2. Control de calidad realizada en las drogas vegetales

4.2.1. Determinación de Humedad de la droga vegetal cruda

El primer control de calidad que se realizó a cada una de las muestras vegetales, fue la determinación de humedad, misma que se realizó en un equipo llamado Mettler Toledo, los resultados que se obtuvieron se muestran en la tabla 3-1

Tabla 3-4: Contenido de humedad en *Allium cepa* y *Zingiber officinale*

Muestra vegetal	Contenido de humedad %	Valor de referencia
<i>Allium cepa</i>	5,627	Hasta 9 %
<i>Zingiber officinale</i>	7,093	Hasta 12 %

Realizado por: Huerta, M. 2022.

El hecho de que los valores obtenidos se encuentren dentro del rango establecido, demuestra que las condiciones de conservación y almacenamiento de la droga vegetal seca fueron las adecuadas, debido a que, el contenido de humedad es un indicativo de la estabilidad de la materia prima frente a la degradación causada por bacterias u hongos. Según la normativa NTE INEN- ISO 2532:2010, establece que para las especies puras el contenido máximo de humedad para la cebolla es de 9%, mientras que para el jengibre es de 12%, y de acuerdo con los resultados obtenidos las especies vegetales en estudio, cumplen con los rangos establecidos por la norma.

De acuerdo con Bermúdez (2009), confirmó que la cebolla de rama posee diferentes contenidos de humedad dependiendo de sus variedades, tipo de suelo, condiciones agroecológicas del cultivo, condiciones de transporte y almacenamiento del producto en su poscosecha y a los factores

ambientales (Tonato, 2019, pp.16). Por otro lado, el porcentaje de humedad del jengibre dependerá directamente del proceso de secado al que se ha sometido la materia vegetal (Rivadeneira, 2010, pp.4)

4.2.2. Determinación de Cenizas de la droga vegetal

En la tabla 4-4 y 5-4, se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido, una vez que se ha realizado el procedimiento adecuado para su obtención, observándose que los porcentajes de cenizas totales de *Allium cepa* son 4,1478%; 2,0435%; 0,3939% respectivamente, mientras que para *Zingiber officinale*, los resultados de cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido, son 6,7671%; 3,3682%; 0,1668, respectivamente, cuyos valores se encuentran dentro de los valores de referencia de acuerdo a la NTE INEN- ISO 2532:2010 y la NMX-F-230, respectivamente.

Tabla 4-4: Determinación de cenizas en *Allium cepa*

Muestra vegetal	Muestra1 % cenizas	Muestra2 % cenizas	Promedio % cenizas	Valor de referencia
CENIZAS TOTALES				
<i>Allium cepa</i>	4,1347	4,1610	4,1478	Hasta 5 %
CENIZAS SOLUBLES EN AGUA				
<i>Allium cepa</i>	2,0514	2,0356	2,0435	Hasta 3 %
CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO				
<i>Allium cepa</i>	0,3681	0,4197	0,3939	Hasta 1%

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 5-4: Determinación de cenizas en *Zingiber officinale*

Muestra vegetal	Muestra1 % cenizas	Muestra2 % cenizas	Promedio % cenizas	Valor de referencia
CENIZAS TOTALES				
<i>Zingiber officinale</i>	6,8886	6,6456	6,7671	Hasta 7 %
CENIZAS SOLUBLES EN AGUA				
<i>Zingiber officinale</i>	3,4291	3,3074	3,3682	Hasta 5 %
CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO				
<i>Zingiber officinale</i>	0,2141	0,1196	0,1668	Hasta 2%

Realizado por: Huerta, M. 2022.

La determinación de cenizas totales es un indicativo del contenido de sales minerales que posee una planta, siendo de importante dentro del campo farmacológico y dentro de la industria alimenticia debido a que, existen materias minerales que poseen gran actividad farmacológica. En la tabla 4-4 se observan los resultados de las cenizas totales, solubles en agua e insolubles en ácido clorhídrico de *Allium cepa*, cuyos valores son 4,1478%; 2,0435%; 0,3939% respectivamente. Estos valores se encuentran dentro del valor referencial dado por las normas ISO.

En cuanto a los valores obtenidos para *Zingiber officinale*, los resultados de cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido, son 6,7671%; 3,3682%; 0,1668%, respectivamente, cumpliendo con los parámetros de calidad establecidos por la norma mexicana (NMX-F-230). De acuerdo con los resultados que se muestran, se comprobó que ambas especies vegetales cumplen con los parámetros de calidad demostrando que contienen una cantidad poco significativa de impurezas y se encuentra en condiciones adecuadas para la investigación (Ibarra, 2018, pp.2)

Si hablamos de las características para la determinación del contenido de humedad y cenizas en plantas, DANE (2015) indica que son factores que precisan de un mínimo control puesto que se encuentran influenciadas por las circunstancias climáticas y el relieve de la superficie (Tonato, 2019, pp.15)

4.3. Cromatografía en capa fina

Se realizó una cromatografía en capa fina para identificar metabolitos secundarios en el extracto alcohólico de cebolla y jengibre y los resultados se pueden apreciar en los siguientes cuadros.

Tabla 6-4: Placa cromatográfica del extracto alcohólico de *Allium cepa* y *Zingiber officinale*

CCF: 1	
Placa de sílica gel (9,5x4cm)	
Longitud de la banda	366
Solvente de corrido	Hexano y Acetato
Muestra	Extracto alcohólico de Cebolla y Jengibre
Revelador	H2SO4 vainillina al 1%

	
Cromatografía capa fina de los extractos de Cebolla y Jengibre	
Muestras	
1	Cebolla
2	Jengibre

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Tabla 7-4: Determinación de Rf para metabolitos secundarios del extracto de *Allium cepa*

Bandas observadas	Recorrido del disolvente	Recorrido de la muestra	Rf	Color
				
1	6,4	1,2	Rf = 0,1875	Azul
2	6,4	2,9	Rf = 0,4531	Verde
3	6,4	4,1	Rf = 0,4894	Amarillo

Realizado por: Huerta, M. 2022.

El cromatograma obtenido para los metabolitos secundarios de la tabla 6-4, reveló tres bandas para el extracto alcohólico de *Allium cepa* siendo y los respectivos valores del Rf se muestran en la tabla. Un estudio realizado por Guerrero Dániza y Bonilla Pablo (2015), sobre una placa de sílica gel tipo G, con indicador de fluorescencia determinó la presencia de polifenoles y flavonoides en el extracto de cebolla motrada.

Tabla 8-4: Determinación de Rf para metabolitos secundarios del extracto de *Zingiber officinale*

Bandas observadas	Recorrido del disolvente	Recorrido de la muestra	Rf	Color
				
1	6,4	3,6	Rf = 0,5625	Amarillo
2	6,4	5,0	Rf = 0,7813	Verde
3	6,4	5,7	Rf = 0,8906	Verde – café

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 8-4 nos indica 3 bandas observadas en la cromatografía para determinar metabolitos secundarios, cada uno de los resultados de los Rf se detallan de manera clara en la misma tabla. De acuerdo con Amahuayo Samantha (2013) al analizar el extracto alcoholico de jengibre, se encontró un compuesto con un Rf de 0.25 que según la bibliografía WARNER, H. 1996. Plant Drug Analysis, pertenece a los gingeroles.

4.4. Tamizaje fitoquímico de la droga vegetal cruda

El tamizaje fitoquímico como se ha venido mencionando, se fundamenta en la tipificación de los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en los extractos de productos naturales, mediante reacciones y análisis químicos explicados en la literatura. Esta técnica se ejecuta continuamente a los extractos etéreo, alcohólico y acuoso del producto natural con el objetivo de identificar y contrastar los metabolitos secundarios extraídos con los solventes de distintas polaridades (Pujol et al. 2020, pp.3)

Para el presente estudio, se utilizó únicamente el extracto alcohólico, en la tabla 3-4 y 3-5 se muestra los resultados obtenidos del tamizaje realizado en cada una de las plantas en análisis.

Tabla 9-4: Resultados tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico de *Allium cepa*.

GRUPO DE COMPUESTOS	ENSAYO	INDICADORES	EXTRACTO DE CEBOLLA
Flavonoides	Shinoda	Flavonoles (Rojo) Flavonas (Naranja a rojo) Flavononas (Magenta)	(+++) (-) (-)
	NaOH al 10%	Xantonas y Flavonas (Amarillo a rojo) Flavonoles (Café a naranja) Chalconas (Purpura a rojizo) Antocianinas (Azul)	(-) (-) (++) (-)
Cumarinas	NH ₄ OH	Azul- Violeta	(++)
Quinonas/ Antraquinonas	H ₂ SO ₄	Quinonas (Rojo)	(++)
	NH ₄ OH	Antraquinonas (Rojo)	(++)
	Börntrager	Benzoquinonas (Rojo) Derivados antrona (Amarillo verdoso a rojo)	(+++) (-)
Alcaloides	Mayer	Opalescencia (+)	(++)
	Wagner	Turbidez definida (++)	(++)
	Dragendorff	Precipitado (+++)	(++)
Triterpenos o Esteroles	Lieberman	Esteroles (Violeta, verde o azul)	(++)
	Bouchard	Esteroides (Azul o verde) Triterpenos (Rosa, rojo o magenta)	(-) (-)
Saponinas	Espuma	Presencia de espuma por más de 2 minutos.	(-)
	Vainillina	Sapogeninas triterpenoidales (Violeta) Sapogeninas esteroidales (Verde)	(-) (++)
Taninos o Compuestos fenólicos	Gelatina	Taninos (Precipitado blanco)	(+)
	FeCl ₃	Derivados del ácido galico (Azul a negro)	(-)
		Derivados del catecol (Verde)	
		Taninos hidrolizables (Azul)	(-)
		Taninos condensados (Verde)	(-) (+++)

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia

Realizado por: Huerta, M. 2022.

La tabla 9-4 indica los grupos fitoquímicos del extracto de cebolla y es así que tenemos una cantidad considerable de taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas, triterpenos y/o

esteroides y también una mínima presencia de alcaloides, saponinas. De acuerdo con Enrique Guillamón (2020), las plantas del género *Allium* son ricas en minerales, aminoácidos esenciales, fibra, vitaminas, flavonoides y otros compuestos fenólicos. La cebolla, presenta una compleja composición química y bioquímica, y es considerada como una fuente de flavonoides, compuestos sulfurados, fructooligosacáridos y fibra. Dicha planta posee en gran cantidad el flavonoide denominado quercetina. Por otro lado, los principales metabolitos secundarios de las plantas del género *Alliums* son los compuestos organosulfurados (OSCs), que establecen su olor y sabor, y son los que le otorgan en gran medida las características bioactivas que se le atribuye a su ingesta (Guillamón, 2020, pp.190).

Tabla 10-4: Resultados tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico de *Zingiber officinale*.

GRUPO DE COMPUESTOS	ENSAYO	INDICADORES	EXTRACTO DE JENGIBRE
Flavonoides	Shinoda	Flavonoles (Rojo) Flavonas (Naranja a rojo) Flavononas (Magenta)	(++) (-) (-)
	NaOH al 10%	Xantonas y Flavonas (Amarillo a rojo) Flavonoles (Café a naranja) Chalconas (Purpura a rojizo) Antocianinas (Azul)	(-) (-) (+++) (-)
Cumarinas	NH ₄ OH	Azul- Violeta	(-)
Quinonas/ Antraquinonas	H ₂ SO ₄	Quinonas (Rojo)	(++)
	NH ₄ OH	Antraquinonas (Rojo)	(+++)
	Börntrager	Benzoquinonas (Rojo) Derivados antrona (Amarillo verdoso a rojo)	(+++) (-)
Alcaloides	Mayer	Opalescencia (+)	(++)
	Wagner	Turbidez definida (++)	(++)
	Dragendorff	Precipitado (+++)	(++)
Triterpenos o Esteroles	Lieberman	Esteroles (Violeta, verde o azul)	(-)
	Bouchard	Esteroides (Azul o verde)	(-)
		Triterpenos (Rosa, rojo o magenta)	(++)
Saponinas	Espuma	Presencia de espuma por más de 2 minutos.	(-)
	Vainillina	Sapogeninas triterpenoidales (Violeta) Sapogeninas esteroidales (Verde)	(++) (-)

Taninos o Compuestos fenólicos	Gelatina	Taninos (Precipitado blanco)	(+)
	FeCl3	Derivados del ácido galico (Azul a negro)	(-)
		Derivados del catecol (Verde)	
		Taninos hidrolizables (Azul)	(-)
		Taninos condensados (Verde)	(-)
			(+++)

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia

Realizado por: Huerta, M. 2022.

La tabla 10-4 indica los grupos fitoquímicos del extracto del jengibre y es así que tenemos una cantidad considerable de taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas, triterpenos y/o esteroides y también una mínima presencia de alcaloides, saponinas. De acuerdo con un estudio realizado por Castillo Bertha (2018), concluye que en el análisis fitoquímico de *Zingiber officinale*, se revela la presencia de metabolitos secundarios relacionados con actividad antimicrobiana como flavonoides, quinonas, cumarinas, terpenos y esteroides (Castillo, 2018, pp.7)

4.5. Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos

La técnica de dilución en agar o en caldo como prueba de susceptibilidad microbiana se usa con el objetivo de establecer la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria (MIC). Para el procedimiento de dilución en caldo, se debe usar tubos o microplacas (microdilución) que poseen concentraciones progresivas del extracto de la planta. El microorganismo en análisis es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la MIC se determina luego de la incubación (Picazo, 2018, pp.23).

Para establecer la concentración mínima bactericida (CMB) se extrajeron 100 µl en los tubos en los que no se visualizó desarrollo visible de la bacteria; dicha suspensión fue inoculada en placas Petri debidamente marcadas con la concentración correspondiente y agregando agar nutritivo. Las placas se incubaron durante 18 h a 37°C (Horna et al., 2005). Para evaluar el efecto bactericida de los extractos se realizó el recuento de UFC ml⁻¹ (Picazo, 2018, pp.24).

- **Preparación de la muestra Stock**

De la muestra del extracto alcohólico tanto de cebolla como de jengibre se pesaron 50 mg de cada extracto y se le agregó 500 µL dimetilsulfóxido (DMSO) para obtener una solución homogénea. A partir de esta solución, se tomó un volumen de 64 µL y se agregó 436 µL de caldo nutritivo para obtener un volumen final de 500 µL (12800 ppm)

- **Activación de las bacterias**

Se toma las cepas bacterianas que se van a utilizar, en este caso *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *S. aureus*, se agrega 20 µL de cada cepa y se agrega en 2 ml de caldo soya-triptocaseína (TSB). Se deja incubar los tubos durante 18 h a 36°C en la estufa.

- **Preparación del preinóculo**

Una vez que tenemos activadas las bacterias, tomamos 500 µL de cada bacteria y colocamos en tubos previamente preparados con 4,5 ml de solución salina (S.S)

Realizamos 3 diluciones (10^{-3})

A partir de la dilución 10^{-3} tomamos 500 µL de la solución y la colocamos en 2 tubos previamente preparados con 4,5 ml de caldo nutritivo y realizamos 2 diluciones más

4.5.1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La CMI corresponde a la dilución con la mínima concentración de la disolución en la que no se visualiza turbidez debido a la ausencia de desarrollo bacteriano. Para el estudio se tomaron en consideración solo de 2 a 3 pozos debido puesto que estos se ubican en el rango de inhibición. Los demás pozos del total de 96 que conforman la microplaca, se consideran positivos debido a la presencia de turbidez. Mientras que se marcaron como negativos aquellos pocillos que manifestaron ausencia de turbidez.

- **Concentración Mínima Inhibitoria del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*)**

Tabla 11-4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Escherichia coli*.

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento
		Turbidez			
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
<i>E. coli</i>	A6 (800 µg/ml)	+	-	-	+
	A9 (100 µg/ml)	+	-	-	+
	A10 (50 µg/ml)	+	-	-	+

E. coli= *Escherichia coli*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 11-4 para la cepa bacteriana *Escherichia coli*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 800

µl/ml; 100 µl/ml y 50 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. Se pudo observar que para todas las concentraciones la dilución 10^{-1} presentó un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} no presentaron crecimiento bacteriano.

Tabla 12-4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Klebsiella pneumoniae*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento
		Turbidez			
<i>K. pneumoniae</i>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
	A3 (64000 µg/ml)	+	-	-	+
	A4 (3200 µg/ml)	+	-	-	+
	A10 (50 µg/ml)	+	-	-	+

K. pneumoniae= *Klebsiella pneumoniae* Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 12-4 para la cepa bacteriana *K. pneumoniae*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 6400 µl/ml; 3200 µl/ml y 50 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. En la primera dilución de 10^{-1} se observó que existe un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} no presentaron crecimiento bacteriano

Tabla 13-4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento
		Turbidez			
<i>S. aureus</i>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
	A4 (3200 µg/ml)	+	+	-	+
	A5 (1600 µg/ml)	+	+	-	+
	A8 (200 µg/ml)	+	+	-	+

S. aureus= *Staphylococcus aureus* Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 13-4 para la cepa bacteriana *S. aureus*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 3200 µl/ml; 1600 µl/ml y 200 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. Se observó que las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} presentaron un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en la dilución con una concentración de 10^{-3} no presentó crecimiento bacteriano.

Tabla 14-4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Enterobacter cloacae*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento
		Turbidez			
<i>E. cloacae</i>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
	A7 (400 µg/ml)	+	-	-	+
	A9 (100 µg/ml)	+	-	-	+
	A10 (50 µg/ml)	+	-	-	+

E. cloacae= *Enterobacter cloacae* Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 14-4 para la cepa bacteriana *E. cloacae*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 400 µl/ml; 100 µl/ml y 50 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. La dilución de 10^{-1} presentó un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} no presentaron crecimiento bacteriano.

- **Concentración Mínima Inhibitoria del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*)**

Tabla 15-4: Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Escherichia coli*.

Cepa	Pocillos / Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Jengibre			Control de crecimiento
		Turbidez			
<i>E. coli</i>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
	E8 (200 µg/ml)	+	-	-	+
	E9 (100 µg/ml)	+	-	-	+
	E10 (50 µg/ml)	+	-	-	+

E. coli= *Escherichia coli*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 15-4 para la cepa bacteriana *Escherichia coli*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 200 µl/ml; 100 µl/ml y 50 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. Se observó que en la dilución de 10^{-1} se presentó un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} no hubo crecimiento bacteriano.

Tabla 16-4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Klebsiella pneumoniae*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Jengibre			Control de crecimiento
		Turbidez			
<i>K. pneumoniae</i>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
	F6 (800 µg/ml)	+	-	-	+
	F7 (400 µg/ml)	+	-	-	+
	F10 (50 µg/ml)	+	-	-	+

K. pneumoniae= *Klebsiella pneumoniae* Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 16-4 para la cepa bacteriana *K. pneumoniae*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 800 µl/ml; 400 µl/ml y 50 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. De acuerdo con los resultados la dilución de 10^{-1} presentó un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} no hubo crecimiento bacteriano.

Tabla 17-4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Jengibre			Control de crecimiento
		Turbidez			
<i>S. aureus</i>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
	E7 (400 µg/ml)	+	+	-	+
	E9 (100 µg/ml)	+	+	-	+
	E11 (25 µg/ml)	+	+	-	+

S. aureus= *Staphylococcus aureus* Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 17-4 para la cepa bacteriana *S. aureus*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 400 µl/ml; 100 µl/ml y 25 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. Se observó que las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} presentaron un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en la dilución de 10^{-3} no hubo crecimiento bacteriano.

Tabla 18-4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Enterobacter cloacae*.

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Jengibre			Control de crecimiento
		Turbidez			
<i>E. cloacae</i>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
	E7 (400 µg/ml)	+	-	-	+
	E9 (100 µg/ml)	+	-	-	+
	E11 (25 µg/ml)	+	-	-	+

E. cloacae= *Enterobacter cloacae* Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 18-4 para la cepa bacteriana *E. cloacae*, se partió de la solución con menor concentración en la que no se observó turbidez, en este caso partimos de las concentraciones 200 µl/ml; 100 µl/ml y 50 µl/ml y a partir de estas se tomó 100 ml de cada concentración y se realizó 3 diluciones más agregando en cada un 900 ml de solución salina para determinar la concentración mínima inhibitoria. De acuerdo con los resultados la dilución de 10^{-1} presentó un crecimiento bacteriano positivo, mientras que en las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} no presentaron crecimiento bacteriano.

4.5.2. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Se tomó como referencia el procedimiento realizado por (Sadiki et al. 2014. p.122) para establecer la CMB de las bacterias en estudio se tomaron los tubos con las distintas concentraciones y se procedió a la siembra en el agar Mueller Hinton dejando incubar a 37°C por 18 horas, posteriormente se procedió a la lectura de resultados.

- **Concentración Mínima Bactericida del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*)**

Tabla 19-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Escherichia coli*.

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
<i>E. coli</i>		UFC				
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
	A6 (800 µg/ml)	21	5	-	+	-
	A9 (100 µg/ml)	10	4	-	+	-
	A10 (50 µg/ml)	6	1	-	+	-

E. coli= *Escherichia coli* Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En lo que concierne a la Concentración mínima bactericida para la cepa *E. coli*, en la tabla 19-4, se puede apreciar que para los tubos 1, 2 y 3, no se encontró crecimiento de colonias en el medio sólido agar nutritivo en la dilución de 10^{-3} es decir que a dicha concentración no se permitió el desarrollo bacteriano, mientras que en las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} del extracto alcohólico de cebolla, presentó un crecimiento bacteriano, sin embargo, se puede apreciar que a la concentración de 10^{-2} el crecimiento de bacterias fue mínimo.

Tabla 20-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Klebsiella pneumoniae*.

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
<i>K. pneumoniae</i>		UFC				
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
	A3 (6400 µg/ml)	19	6	-	+	-
	A4 (3200 µg/ml)	70	7	5	+	-
	A10 (50 µg/ml)	4	2	-	+	-

K. pneumoniae. = *Klebsiella pneumoniae*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Se puede apreciar que para los tubos 1, 2 y 3 la CMB para la cepa *K. pneumoniae* hubo crecimiento bacteriano en el medio de agar nutritivo, excepto para la dilución 10^{-3} de los pocillos A3 y A10,

es decir que ha dicha concentración no se permitió el desarrollo bacteriano, mientras que las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} del extracto alcohólico de cebolla, presentó un crecimiento bacteriano, sin embargo se puede apreciar que a la concentración de 10^{-2} el crecimiento de bacterias fue mínimo.

Tabla 21-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
<i>S. aureus</i>		UFC				
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
	A4 (3200 µg/ml)	70	27	-	+	--
	A5 (1600 µg/ml)	2	1	-	+	-
	A8 (200 µg/ml)	incontable	22	5	+	-

S. aureus= *Staphylococcus aureus*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 21-4, se puede observar que para los tubos 1, 2 y 3 la CMB para la cepa *S. aureus* mostro un crecimiento bacteriano en el medio de agar nutritivo, excepto para la dilución 10^{-3} de los pocillos A4 y A5, es decir que ha dicha concentración no se permitió el desarrollo bacteriano, mientras que las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} del extracto alcohólico de cebolla, presentó un crecimiento bacteriano.

Tabla 22-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de cebolla (*Allium cepa*) sobre la cepa bacteriana *Enterobacter cloacae*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
<i>E. cloacae</i>		UFC				
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
	A7 (400 µg/ml)	5	3	-	+	-
	A9 (100 µg/ml)	7	1	-	+	-
	A10 (50 µg/ml)	10	7	-	+	-

E. cloacae. = *Enterobacter cloacae*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Para la cepa de *E. cloacae*, se puede observar que la CMB para los tubos 1, 2 y 3, únicamente no existió crecimiento bacteriano en la dilución con una concentración de 10^{-3} , es decir que a dicha concentración, no se permitió el desarrollo de dicha bacteria, mientras que para las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} del extracto alcohólico de cebolla, presentó un crecimiento bacteriano, sin embargo a dichas concentraciones se puede observar que el crecimiento bacteriano fue mínimo, es decir que no presenta significancia alguna.

- **Concentración Mínima Bactericida del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*)**

Tabla 23-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Escherichia coli*.

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Jengibre			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
<i>E. coli</i>		UFC				
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
	E8 (200 µg/ml)	12	3	-	+	-
	E9 (100 µg/ml)	9	1	-	+	-
	E10 (50 µg/ml)	6	3	-	+	-

E. coli. = *Escherichia coli*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En lo que respecta a la Concentración mínima bactericida para la cepa *E. coli*, se puede apreciar que no se encontró crecimiento de colonias en el medio solido agar nutritivo en la dilución de 10^{-3} es decir que a dicha concentración no se permitió el desarrollo bacteriano, mientras que en las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} del extracto alcohólico de jengibre, presentó un crecimiento bacteriano, sin embargo, se puede apreciar que a dichas concentraciones el crecimiento de bacterias fue mínimo.

Tabla 24-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Klebsiella pneumoniae*.

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Jengibre			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
		UFC				
<i>K. pneumoniae</i>		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		
	F6 (800 µg/ml)	5	-	-	+	-
	F7 (400 µg/ml)	2	-	-	+	-
	F10 (50 µg/ml)	15	-	-	+	-

K. pneumoniae. = *Klebsiella pneumoniae*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Se puede apreciar que para los tubos 1, 2 y 3 la CMB para la cepa *K. pneumoniae* hubo crecimiento bacteriano en el medio de agar nutritivo, excepto para las diluciones de 10⁻³ y 10⁻², es decir que ha dicha concentración no se permitió el desarrollo bacteriano, mientras que en la dilución de 10⁻¹ del extracto alcohólico de jengibre, presentó un crecimiento bacteriano, sin embargo, se puede apreciar que el crecimiento bacteriano fue mínimo.

Tabla 25-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Jengibre			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
		UFC				
<i>S. aureus</i>		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		
	E7 (400 µg/ml)	Incontable	70	5	+	-
	E9 (100 µg/ml)	Incontable	10	-	+	-
	E11 (25µg/ml)	Incontable	25	-	+	-

S. aureus Staphylococcus aureus. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

En la tabla 25-4, se puede observar que para los tubos 1, 2 y 3 la CMB para la cepa *S. aureus* mostro un crecimiento bacteriano en el medio de agar nutritivo, excepto para la dilución de 10⁻³ de los pocillos E9 y E11, es decir que ha dicha concentración no se permitió el desarrollo

bacteriano, mientras que en las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} del extracto alcohólico de jengibre presentó un crecimiento bacteriano. También se puede apreciar que el crecimiento bacteriano en esta cepa, fue mucho mayor, es decir que no hubo un efecto bactericida.

Tabla 26-4: Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto alcohólico de jengibre (*Zingiber officinale*) sobre la cepa bacteriana *Enterobacter cloacae*

Cepa	Pocillos/ Concentración	Diluciones del extracto alcohólico de Cebolla			Control de crecimiento positivo	Control de crecimiento negativo
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
<i>E. cloacae</i>		UFC				
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
	E7 (400 µg/ml)	17	7	-	+	-
	E9 (100 µg/ml)	4	2	-	+	-
	E11 (25 µg/ml)	10	6	-	+	-

E. cloacae= *Enterobacter cloacae*. Positivo (+), Negativo (-)

Realizado por: Huerta, M. 2022.

Para la cepa de *E. cloacae*, se puede observar que la CMB para los tubos 1, 2 y 3, únicamente no existió crecimiento bacteriano a la dilución con una concentración de 10^{-3} , es decir que a dicha concentración, no se permitió el desarrollo de dicha bacteria, mientras que para las diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} del extracto alcohólico de jengibre, presentó un crecimiento bacteriano, sin embargo a dichas concentraciones se puede observar que el crecimiento bacteriano fue mínimo, es decir que no presenta significancia alguna.

Como se detalla en las tablas, se observó que para las bacterias *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* la concentración mínima inhibitoria en el extracto alcohólico tanto de cebolla como de jengibre se dio en el micropocillo de la concentración de 10^{-3} y 10^{-2} donde no se presentó turbidez. Mientras que para *S. aureus*, la concentración mínima inhibitoria, para ambos extractos, se dio únicamente a la concentración del de 10^{-3} . Por otro lado, si analizamos la concentración mínima bactericida para ambos extractos, se observa que para todas bacterias únicamente en la concentración 10^{-3} no hubo crecimiento bacteriano.

De acuerdo con las investigaciones de (María, 2017) y (Leonardo Nieto, 2010) los resultados coinciden con los estudios de quienes realizaron extractos de *Allium cepa*, aplicando el método de dilución en caldo, obteniendo como resultado para *Staphylococcus aureus* una concentración del 15%, realizando otro método similar empleando “concentración mínima letal” (CML) en un 30%, donde se demuestra la efectividad de la cebolla colorada en altas concentraciones. En esta

investigación dichos resultados son similares a los de diferentes estudios que se han realizado, por lo que se puede manifestar que la cepa de *Staphylococcus aureus* en un extracto alcohólico en una concentración de 10^{-3} ejerce un efecto antimicrobiano (Mora & Ramos, 2020, pp.56).

Otro estudio realizado por (García y Herrera 2007. p. 73) se demostró que *Allium cepa* en las concentraciones bacterianas de 10^4 y 10^6 UFC/placa, presentaron resultados consistentes contra las bacterias *E. coli* y *K. pneumoniae*. Con ello se afirma que el extracto de *Allium cepa* posee un potencial poder inhibitorio del crecimiento, presentando una buena actividad antibacteriana contra las cepas mencionadas anteriormente. Por otro lado, el autor menciona que acerca de los compuestos responsables de este tipo de efectos inhibitorios sobre el crecimiento bacteriano o fúngico, se conoce muy poco de modo general se conoce que algunos de los compuestos que parecen poseer actividad antimicrobiana en esta especie vegetal son esencias alílicas, de butilo, de croton y feniletil mostaza.

Finalmente, no existe estudios publicados en donde se estudie la actividad antibacteriana de la cebolla sobre cepas de *E. cloacae*, sin embargo, en el presente estudio, se comprobó que *Allium cepa* ejerce un potencial poder inhibitorio del crecimiento frente a dicha bacteria a una concentración de 10^{-2} y 10^{-3} presentando una buena actividad antibacteriana.

Si hablamos de la acción bacteriana que ejerce el jengibre sobre algunas bacterias, se menciona un estudio realizado por (Cevallos, 2015. p. 1) acerca de la acción antimicrobiana del extracto hidroalcohólico del jengibre frente algunos microorganismos de interés sanitario, se demostró que existió una inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* al utilizar tanto el extracto hidroalcohólico como la solución formadora de recubrimiento comestible preparada a base de extracto hidroalcohólico de jengibre más quitosano.

De igual manera otro estudio realizado por (Ángeles et al. 2008. p. 17) indica que la cepa bacteriana más sensible a la mayoría de los aceites ensayados ha sido *Klebsiella pneumoniae*, especialmente frente al jengibre, comprobando la capacidad inhibitoria del mismo y de forma selectiva de ser útiles en el tratamiento de procesos de etiología bacteriana y fúngica.

4.6. Antibiograma (Método de Kirby Bauer)

Finalmente, la última prueba que se realizó es un antibiograma sobre cada una de las bacterias en estudio con la finalidad de comparar el efecto inhibitorio que tuvieron los extractos de cebolla y jengibre frente a antibióticos comerciales. |

Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 27-4: Tamaño del halo de inhibición (mm) de los antibióticos comerciales

Antibióticos	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klesbsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
	Diluciones			
Azitomicina (AZM)	10⁻¹ : 22 mm	10⁻¹ : 22 mm	10⁻¹ : 15 mm	10⁻¹ : 26 mm
	10⁻² : 26 mm	10⁻² : 22 mm	10⁻² : 24 mm	10⁻² : 30 mm
	10⁻³ : 28 mm	10⁻³ : 24 mm	10⁻³ : 24 mm	10⁻³ : 32 mm
Penicilina (P)	10⁻¹ : -	10⁻¹ : 26 mm	10⁻¹ : 11 mm	10⁻¹ : -
	10⁻² : -	10⁻² : 26 mm	10⁻² : 12 mm	10⁻² : -
	10⁻³ : -	10⁻³ : 28 mm	10⁻³ : 14 mm	10⁻³ : -

Realizado por: Huerta, M. 2022.

De acuerdo con la tabla 27-4, se muestra los resultados del antibiograma de cada una de las bacterias, se observa los respectivos halos de inhibición para cada antibiótico. Se puede apreciar que, para cada una de las bacterias en estudio, el halo de inhibición del crecimiento es mayor a medida que disminuye la concentración bacteriana.

Según con los datos del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), (Picazo, 2018, p. 15) *S. aureus* es sensible frente azitromicina cuando se presenta un halo de inhibición ≥ 18 mm y es resistente cuando el halo de inhibición es ≤ 13 mm, de acuerdo con los resultados obtenidos, el halo de inhibición es de 22 mm, es decir que esta bacteria es sensible frente a este antibiótico. Por otro lado *S. aureus* es sensible frente penicilina cuando se presenta un halo de inhibición ≥ 28 mm y es resistente cuando el halo de inhibición es ≤ 29 mm, de acuerdo con los resultados, no se presentó ningún halo de inhibición, es decir que la bacteria es sensible y por tanto el antibiótico no presentó ninguna acción bactericida.

De acuerdo con los resultados, *S. aureus* es una bacteria que ha demostrado un gran poder de adaptación a los agentes antimicrobianos, adquiriendo resistencia a muchos antibióticos disponibles para el tratamiento de las infecciones que ocasiona. De hecho, como lo señala (Castellano González y Perozo-Mena 2010, p. 18), existen tres mecanismos de resistencia a los antibióticos β -lactámicos en *S. aureus*: resistencia dada por enzimas como las penicilinasas o β -lactamasas, mismas que se encargan de desactivar al antibiótico; resistencia intrínseca, esta no se debe a la inactivación de drogas y es responsable de la resistencia a meticilina; y la transformación de las proteínas de unión a penicilinas (PBPs).

Por otro lado, en los estafilococos, la resistencia a los macrólidos (eritromicina, claritromicina, azitromicina, midecamicina) puede asociarse a diferentes fenotipos de sensibilidad o de resistencia a las lincosamidas (clindamicina). (Ardanuy et al. 2011, pp.7).

El antibiograma para las Enterobacterias frente a penicilina, de acuerdo con el Instituto Nacional de Salud de Lima, es sensible cuando el halo de inhibición es ≥ 17 mm, y es resistente cuando el halo de inhibición es ≤ 13 mm, de acuerdo con los resultados obtenidos, *Escherichia coli*, es sensible frente a este antibiótico, pues en todas las diluciones el diámetro de inhibición es ≥ 17 mm. De igual manera, si hablamos de *Enterobacter cloacae*, esta es sensible frente a penicilina, pues de acuerdo con los resultados, no se presentó ningún halo de inhibición. Finalmente, la bacteria *Klesbsiella pneumoniae* de acuerdo con los resultados presentó resistencia frente al antibiótico en estudio, pues los halos de inhibición en todas las diluciones son ≤ 13 mm, lo que quiere decir que esta bacteria inhibe el efecto bactericida de este medicamento.

Si hablamos de la sensibilidad de las Enterobacterias frente a la Azitromicina, las bacterias que se encuentran dentro de esta familia son sensibles cuando presentan un halo de inhibición ≥ 18 mm, y son resistentes cuando su halo de inhibición es ≤ 13 mm, de acuerdo con los resultados obtenidos *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, y *Klesbsiella pneumoniae* son sensibles frente a este antibiótico, pues en todas las diluciones el diámetro de inhibición es ≥ 18 mm, lo que quiere decir que dichas bacterias son capaces de inhibir el efecto de este medicamento.

Desde el descubrimiento de la penicilina ha surgido la aparición progresiva de nuevas moléculas sintetizadas con la finalidad, de incrementar el espectro de acción y la actividad frente a bacterias que van adquiriendo resistencia. Si bien la resistencia a los betalactámicos se encuentra determinada por diferentes mecanismos como por ejemplo la elaboración de enzimas, variaciones de la permeabilidad, modificación de la diana y, posiblemente, expresión de bombas de expulsión activa, el mecanismo vital de resistencia a betalactámicos en enterobacterias es el enzimático, debido a la fabricación de las betalactamasas. (Navarro, Miro y Mirelis 2010, pp.639).

Asimismo, la resistencia que presentan las enterobacterias frente a los macrólidos como la azitromicina, eritromicina y las lincosamidas como la clindamicina por lo general se debe a la presencia del gene erm. Dichos genes erm conservan el código para la elaboración de una enzima ARN metilasa que altera la zona ribosómica de unión de los estreptograminas B, macrólidos y lincosamidas. (Cavalieri et al. 2005, pp.115).

CONCLUSIONES

El tamizaje fitoquímico de los extractos de Jengibre y Cebolla arroja la presencia de compuestos como flavonoides, compuestos fenólicos, Triterpenos y Esteroides, saponinas y alcaloides en su composición lo que justifican las propiedades antibacterianas que registran estas especies. Además de acuerdo con los parámetros físicos y químicos se pudo establecer que la materia prima está en condiciones óptimas para su utilización, puesto que el porcentaje de humedad de cada especie se encuentra dentro de lo establecido por la normativa NTE INEN- ISO 2532:2010, por lo hay una buena conservación, los valores de las cenizas totales, solubles en agua e insolubles en ácido se encuentran dentro de los valores establecidos de cada especie vegetal.

Los extractos alcohólicos de las plantas evaluadas presentaron actividad antibacteriana en los cuatro microorganismos estudiados. La mayor actividad antimicrobiana se encontró en el extracto alcohólico de *Zingibre officinale* para las bacterias *klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* con una CMI de 25 µg/ml; mientras que el extracto alcohólico *Allium cepa* presentó mayor actividad antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* con una CMI de 50 µg/ml. En conclusión, las plantas como alimento convencional representan un potencial antibacteriano inexplorado, razón por la cual es suma importancia realizar estudios sobre dichos especímenes para descubrir posibles compuestos antimicrobianos naturales que ayuden a combatir diversas infecciones.

Finalmente se comparó la actividad antibacteriana de los extractos frente antibióticos comerciales, mediante el test de discos y se pudo evidenciar la resistencia que presentaron todas las cuatro bacterias estudiadas frente a antibióticos comerciales como Azitromicina y Penincilina, mientras que por el método de CMI se pudo observar que tanto la Cebolla como el Jengibre poseen una actividad antibacteriana frente a estas cepas.

RECOMENDACIONES

Cuando se realice el secado y macerado de estas especies, controlar la temperatura para que la materia vegetal no se calcine.

Al momento de triturar la cebolla, se debe tener cuidado de que esta no se vaya a secar, pues la materia vegetal puede llegar a caramelizarse por la cantidad de azúcar que posee esta especie.

Una vez la materia primaria se encuentre triturada, colocar alcohol al 96% y almacenar en frascos ámbar en la oscuridad para evitar que esta se evapore.

Cuando se realice el tamizaje de cada especie vegetal, realizar de 2 a 3 repeticiones con la intención de obtener resultados precisos y reales.

Cuando se realice la cromatografía en capa fina seleccionar los solventes de acuerdo a la polaridad de cada especie vegetal.

Para realizar las pruebas de control de calidad de las especies, realizar al menos 2 repeticiones para obtener mayor certeza en los resultados.

Cuando se realice la determinación de CMI Y CMB limpiar y esterilizar muy bien la zona donde se va a trabajar, para evitar contaminaciones.

Al momento de anotar los resultados del crecimiento bacteriano, hacerlo a las 18 horas de sembradas, pues es el tiempo en donde se da el máximo crecimiento bacteriano.

Cuando se realice al antibiograma, emplear muy bien la técnica para evitar posibles errores y contaminaciones.

GLOSARIO

Agente terapéutico profiláctico: Uso de un agente antimicrobiano antes de que un microorganismo patógeno tome contacto con el individuo, durante ese contacto o muy poco después (Noriega 2001, pp.1).

Bacterostático: Agente que inhibe el desarrollo de las bacterias y se basa en los mecanismos de defensa del huésped para la erradicación final de la infección (Pérez 2020, pp.5).

Bacteriófagos: son parásitos intracelulares obligados que se multiplican al interior de las bacterias, haciendo uso de algunas o todas sus maquinarias biosintéticas (p. ej., los virus que infectan bacterias) (Mayer 2019, pp.1).

Bioensayos: También conocido como ensayo biológico es un tipo de experimento científico que investiga los efectos de una sustancia en un órgano aislado o en un organismo vivo (García 2013, pp.34).

Criterios quimiotaxonomicos: También llamada Quimiosistemática, es el intento de clasificar e identificar organismos (originalmente plantas), de acuerdo a las diferencias demostrables y similitudes en sus composiciones bioquímicas(Saldaña, 2018, pp.56).

Etnofarmacológica: Estudio de las acciones y propiedades de los medicamentos, generalmente derivados de plantas, autóctonas para poblaciones o etnicidad (Contreras 2019, pp.67)..

Fasciculado: Que está formado por elementos agrupados en pequeños haces (García 2013, pp.34).

Fitoconstituyentes: Son sustancias presentes en los vegetales, que no cumplen funciones nutricionales (son anutrientes), pero que ayudan a prevenir numerosas enfermedades, especialmente las de tipo degenerativo. Proceden de plantas donde ya de por sí están cumpliendo esta función defensiva (Contreras 2019, pp.67).

Fitofármacos: Son medicamentos cuya sustancia activa contiene el extracto de una determinada planta, a diferencia de un fármaco químico que proviene de una molécula químicamente sintetizada (Saldaña, 2018, pp.5).

Fitofarmacológica: Es la rama de la farmacología que se orienta al estudio de los extractos estandarizados de plantas medicinales. Sostiene que la acción médica de una planta viene determinada de forma exclusiva por sus contribuyentes activos (García 2013, pp.21).

Fitoquímica: Es una disciplina científica que tiene como objeto el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales (Hernández et al. 2015, pp.116)

Flagelos peritricos: Bacterias que poseen muchos flagelos rodeando su contorno (Gavín 2019, pp.87).

Hidrolizar: Es una reacción química entre una molécula de agua y otra macromolécula, en la cual la molécula de agua se divide y rompe uno o más enlaces químicos y sus átomos pasan a formar unión de otra especie química (Contreras 2019, pp.67).

Integrones: Son unas piezas genéticas que han despertado gran interés porque algunos de ellos vehiculan genes de resistencia a los antimicrobianos (Saldaña, 2018, pp.56).

Oblongas: Que es más largo que ancho o que es más largo de lo que es habitual entre las cosas de su mismo género (Saldaña, 2018, pp.68).

Procedimientos bioluminiscentes: Es un proceso que se da en algunos organismos vivos, en donde se crea una reacción química que produce luz (Meighen 202, pp. 1020).

Sésiles: (En el sentido de movimiento posicional o motilidad) se refiere a la característica de ciertos organismos, sésiles, que no poseen algún medio de auto-locomoción y son normalmente inmóviles o sedentarios (García 2013, pp.21).

Trasposones: O genes “saltarines” son secuencias de ADN que sólo llevan información genética para poder moverse dentro de los genomas de los seres vivos (Feschotte y Pritham 2021, pp.335).

BIBLIOGRAFÍA

ÁNGELES, C.M., MOHAMAD, Z., CARLES, A. & MARÍA, R., *Anales de la Real Academia de Doctores de España*. Actividad antimicrobiana de productos naturales de origen sirio. [en línea], vol. 12, pp. 9-19. [Consulta: 9 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.radoctores.es/doc/1V12N1-calvo-actividadmicrobianaproductossirios.pdf>.

ARDANUY, C., CERCENADO, E., MOROSINI, I. & TORRES, C., *Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. [en línea]. S.l.: [Consulta: 21 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia39.pdf>.

ARÉS ÁLVAREZ, F., MARTÍNEZ DE LA OSSA SÁENZ LÓPEZ, R. & ALFAYATE MIGUÉLEZ, S., *Quinolonas en Pediatría*. Pediatría Atención Primaria [en línea], vol. 19, no. 74, pp. e83-e92. [Consulta: 13 enero 2022]. ISSN 1139-7632. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322017000200018&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

AYALA ALMEIDA, D.C., “Efecto antibacteriano del aceite esencial de margarita (*Calendula officinalis*) y Jengibre (*zingiber officinale*) vs. clorhexidina al 2% sobre cepas de *porphyromona gingivalis*: estudio in vitro”. Quito-Ecuador [en línea], pp. 1-112. [Consulta: 27 diciembre 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8253/1/T-UCE-0015-431.pdf>.

AZUERO, A., JARAMILLO, C.J., MARTIN, D.S. & REGNAULT, H.D., *Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador / Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador*. *CIENCIA UNEMI* [en línea], vol. 9, no. 20, pp. 11-18. [Consulta: 3 diciembre 2021]. ISSN 1390-4272. DOI 10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp11-18p. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342>.

BALSECA, R., Screening fitoquímico y evaluación de la actividad antimicrobiana de: *Catharanthus Roseus* (L.) G. Don, *Justicia Pectoralis* Jacq. y *Scoparia Dulcis* L. *FIGEMPA: Investigación y Desarrollo*, vol. 1, no. 2, pp. 1-11.

BAPTISTA, A.M., LÓPEZ, J.F., MORENO, M.A. & RINCÓN, L.J., *Prevalencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente y determinación de antibiótipo, en un periodo de tiempo comprendido entre Enero de 2010 y Octubre de 2017 en una institución pública de alta complejidad* [en línea]. Bogota: Universidad Aplicada de Ciencias Ambientales. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/815/FINAL%20UNIVERSIDAD.pdf;jsessionid=120EAE348A1DD75D9FA9E4AD9A2F5BA2?sequence=1>.

BLAS, S.Y., *Acción reductora del extracto etanólico de Zingiber officinale Roscoe (jengibre) sobre el ión férrico* [en línea]. Trujillo-Perú: Universidad Nacional de Trujillo. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9344/Blas%20Vasquez%20Silvia.pdf?sequence=1>.

BUCAJ, L.C., *Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de la mentha frente a Candida albicans* [en línea]. Ambato-Ecuador: Universidad Autónoma de los Andes UNIANDES. [Consulta: 14 enero 2022]. Disponible en: <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8795/1/PIUAMFCH027-2018.pdf>.

CALACHUA, O.Fernando., *Efecto Antibacteriano in vitro de extractos de Ruta graveolens EN Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli y Staphylococcus aureus* [en línea]. Arequipa-Perú: Universidad Nacional De San Agustín de Arequipa. [Consulta: 17 enero 2022]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/10433/Bicaoyof.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

CAMARENA, J.J. & SÁNCHEZ, R., *[Infección por Staphylococcus aureus Resistente a meticilina.* [en línea]. S.l.: [Consulta: 9 enero 2022]. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>.

CASTELLANO GONZÁLEZ, M.J. & PEROZO-MENA, A.J., *Kasmera. Mecanismos de resistencia a antibióticos β-lactámicos en Staphylococcus aureus.* [en línea], vol. 38, no. 1, pp. 18-35. [Consulta: 21 septiembre 2022]. ISSN 0075-5222. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222010000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

CASTILLO, Martha., *Efecto in vitro antimicrobiano de aceite esencial y extracto etanólico de jengibre (Zingiber officinale) FRENTE A STREPTOCOCCUS MUTANS* [en línea]. Ambato-Ecuador: Universidad Regional Autónoma De Los Andes “UNIANDES”. [Consulta: 22 agosto 2022]. Disponible en: <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8789/1/PIUAMFCH021-2018.pdf>.

CASTILLO ROSERO, B.Narcisa., *Efecto in vitro antimicrobiano de aceite esencial y extracto etanólico de Jengibre (Zingiber officinale) frente a Streptococcus mutans* [en línea]. Ambato-Ecuador: Universidad Regional Autónoma de Lo Andes «UNIANDES». [Consulta: 31 diciembre 2021]. Disponible en: <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8789/1/PIUAMFCH021-2018.pdf>.

CAVALIERI, Stephen., HARBECK, Ronald., MCCARTER, Yvette. & ORTEZ, J., *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana.* [en línea]. S.l.: [Consulta: 23 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>.

CEVALLOS JESIKA, *Acción antimicrobiana de soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de quitosano y extracto hidroalcohólico de jengibre (zingiber officinale) frente algunos microorganismos de interés sanitario.* [en línea]. Guayaquil-Ecuador: Universidad De Guayaquil. [Consulta: 31 agosto 2022]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8954/1/BCIEQ-T-0118%20Cevallos%20Wong%20Jesika%20Ivonne.pdf>.

CONTRERAS, S., *Reacciones Químicas Vi Escuela Venezolana para la Enseñanza de la Química.* [en línea], pp. 1-91. [Consulta: 18 octubre 2022]. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16710/reacciones.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

CRUZ, A.J.F., BRITO, I.P., SOBRAL, M.A.F., et. al. Evaluación de la actividad antibacteriana y moduladora de los extractos metanol y hexano de la hoja de Allium cepa. *Revista Ciencias de la Salud* [en línea], vol. 14, no. 2, pp. 191-200. [Consulta: 27 diciembre 2021]. ISSN 1692-7273. DOI 10.12804/REVSALUD14.02.2016.04. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-72732016000200005&lng=en&nrm=iso&tlng=pt.

DÁVILA BLACK, E.M., “Efecto antibacteriano«in vitro» del extracto alcohólico y aceite esencial del *Zingiber officinale* «Jengibre» sobre el *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175”. *Riobamba – Ecuador* [en línea]. [Consulta: 27 diciembre 2021]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/4701/1/UNACH-EC-FCS-ODT-2018-0004.pdf>.

FERNÁNDEZ, Nagore., AITOR, Magdalena., GARCÍA, Jesús. & AROCA, J., *Estudio de Sensibilidad a los agentes antimicrobianos* [en línea]. AEBM. S.l.: s.n. [Consulta: 14 enero 2022]. Disponible en: <https://www.aebm.org/formacion%20distancia/distancia%202011-2012/Actualizaciones/monografias%202011/5.-%20ANTIMICROBIANOS.pdf>.

FESCHOTTE, Clecuteldric. & PRITHAM, E.J., *Annual Review of Genetics* DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. [en línea], vol. 41, pp. 331-368. [Consulta: 17 octubre 2022]. ISSN 00664197. DOI 10.1146/ANNUREV.GENET.40.110405.090448. Disponible en: <https://www.investigacionyciencia.es/noticias/los-cientificos-pillan-a-los-genes-saltarines-en-su-papel-de-transformadores-del-funcionamiento-del-genoma-19888>.

GARCÍA, L., *El diccionario de términos médicos de la real academia médicos de la real academia nacional de medicina nacional de medicina*. [en línea], pp. 1-55. [Consulta: 17 octubre 2022]. Disponible en: https://www.uv.es/ramcv/2013/107_VII_XIII_Dr_Garcia-Sancho.pdf.

GARCÍA, M. & DÍAZ, G., *Efectividad de la fitoterapia en pacientes con asma bronquial*. [en línea]. [Consulta: 5 mayo 2022]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000100014.

GARCÍA, R. & HERRERA, A., *Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de Allium sativum, Allium fistulosum y Allium cepa: estudio preliminar in vitro*. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas* [en línea], vol. 5, no. 2, pp. 68-79. [Consulta: 30 agosto 2022]. ISSN 0120-4211. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90350207>.

GAVÍN, Rosa., «*Caracterización genética y fenotípica del flagelo de Aeromonas*» [en línea]. Barcelona: Universitat De Barcelona . [Consulta: 17 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/2382/TESIGAVIN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

GOMEZ, A.D. & PINARGOTE, K.S., *Infecciones intra hospitalarias del tracto urinario y resistencia microbiana en pacientes de la Unidad de cuidados intensivos Hospital IESS Portoviejo* [en línea]. Manabí - Ecuador: Universidad Estatal del Sur de Manabí. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <http://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/2194/1/GOMEZ%20SANCHEZ-PINARGOTE%20BARREZUETA.pdf>.

GOMIS, A.Marcilla., *Introducción A Las Operaciones De Separación Cálculo por etapas de equilibrio.* [en línea]. [Consulta: 26 agosto 2022]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/16358082.pdf>.

GUANOLUISA, S.Alexandra., *Efecto antimicrobiano del extracto, aceite esencial de Jengibre (zingiber officinale) y el hipoclorito de Sodio al 5,25% sobre cepas de Enterococcus faecalis. Estudio comparativo in vitro.* [en línea]. Quito-Ecuador: Universidad Central del Ecuador . [Consulta: 31 diciembre 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9420/1/T-UCE-0015-545.pdf>.

GUILLAMÓN, E., Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars Pharmaceutica (Internet)* [en línea], vol. 59, no. 3, pp. 185-196. [Consulta: 22 agosto 2022]. ISSN 2340-9894. DOI 10.30827/ARS.V59I3.7479. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942018000300185&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

GUTIÉRREZ, M. del Pilar. & GONZÁLES, Eduardo., *Área de Farmacología, Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas “Luis Enrique Terrazas Siles”, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.* Estudio de los parámetros de calidad de la especie vegetal *Urtica urens* L. recolectada en la provincia Ingavi del Departamento de La Paz. [en línea]. [Consulta: 26 agosto 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.bo/pdf/rcfb/v9n2/2310-0265-rcfb-9-02-33.pdf>.

HERNÁNDEZ, L., *Enfermedades Infecciosas - Southwick 2ed* [en línea]. S.l.: s.n. [Consulta: 3 enero 2022]. Disponible en: https://www.academia.edu/39980665/Enfermedades_Infecciosas_Southwick_2ed.

HERNÁNDEZ, T., GARCÍA-BORES, A.M., SERRANO, R., et, al, *Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del valle de tehuacán-cuicatlán.*

Tip. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas [en línea], vol. 18, no. 2, pp. 116-121. [Consulta: 18 octubre 2022]. ISSN 1405-888X. DOI 10.1016/J.RECQB.2015.09.003. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-tip-revista-especializada-ciencias-quimico-biologicas-93-articulo-fitoquimica-y-actividades-biologicas-de-S1405888X15000169>.

IBAÑEZ, L.Milena. & NAVARRO, Juveth., *Impacto del seguimiento farmacoterapéutico a pacientes con infecciones del tracto urinario en la ESE Hospital Universitario del Caribe en el periodo 2019 I* [en línea]. Cartagena de Indias: Universidad de Cartagena. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <https://1library.co/document/yng5nkpz-impacto-seguimiento-farmacoterapeutico-pacientes-infecciones-urinario-hospital-universitario.html>.

IBARRA, Ernesto., *nmx-f-453-1983. Alimentos para humanos. Especies y condimentos. Jengibre. Foods for humans. Spices and condiments. Ginger. Normas mexicanas. Dirección general de normas. NOM-60-M (140 U.S.)* [en línea]. [Consulta: 21 agosto 2022]. Disponible en: <https://media.gotomexico.today/reglament/nmx-f-453-1983.pdf>.

ICAZA FREIRE, Andrea., *Perfil de resistencia bacteriana en el Hospital de los Valles en el periodo 2017-2018* [en línea]. Quito-Ecuador : Universidad San Francisco de Quito USFQ. [Consulta: 1 enero 2022]. Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/7690/1/140284.pdf>.

JIMÉNEZ, Gemma., JIMÉNEZ, Jaime., GUTIÉRREZ, Blanca., et. al. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* Susceptibility evolution to antibiotics of *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Klebsiella aerogenes* and *Citrobacter freundii* involved in urinary tract infections: an 11-year epidemiological surveillance study. [en línea], vol. 38, no. 4, pp. 166-169. [Consulta: 26 agosto 2022]. ISSN 15781852. DOI 10.1016/J.EIMC.2019.07.010. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X19302216>.

LARA, A., *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan* Actividad inhibitoria de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* . [en línea], pp. 1045-1052. [Consulta: 29 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.uv.mx/veracruz/uvca366-agronegocios-sustentables/files/2013/12/Ajo-enterobacterias.pdf>.

LÓPEZ, D.P., CAYCEDO, M.I. & PRADA, C.F., Resistance genes in gram negative bacilli: Impact on public health in Colombia. *Rev Univ. Salud.* [en línea], vol. 18, no. 1, pp. 190-202.

[Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v18n1/v18n1a18.pdf>.

LÓPEZ, Edwin Andrés., *Efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) sobre cepas certificadas de Escherichia coli Y Staphylococcus aureus* [en línea]. Cevallos - Ecuador: Universidad Técnica de Ambato. [Consulta: 9 enero 2022]. Disponible en:<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27546/1/Tesis%20130%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20568.pdf>.

LOPEZ, Edwin., “Efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de orégano (origanum vulgare) sobre cepas certificadas de Escherichia coli Y Staphylococcus aureus.” [en línea]. Cevallos-Ecuador: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. [Consulta: 28 agosto 2022]. Disponible en:<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27546/1/Tesis%20130%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20568.pdf>.

LÓPEZ, Kendy., *Perfil de sensibilidad a antibióticos de Klebsiella pneumoniae aislada en cultivos de pacientes de neonatología del hospital pediátrico de Sinaloa de Septiembre del 2010 a Noviembre del 2015*. Sinaloa : Universidad Autónoma de Sinaloa.

LORENZO, Magdalena., FRÍAS, Alina. & VILLA, Pilar., *Detección en cromatografía de capa fina*. ICIDCA [en línea], pp. 26-31. [Consulta: 26 agosto 2022]. ISSN 0138-6204. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223121549004>.

MAYER, G., 2019. BACTERIÓFAGOS - BACTERIOLOGÍA – CAPÍTULO SIETE. [en línea]. [Consulta: 16 octubre 2022]. Disponible en:
<http://www.microbiologybook.org/Spanish/chapter7.htm>.

MEIGHEN, E.A., Bacterial bioluminescence: organization, regulation, and application of the lux genes . *The FASEB Journal* [en línea], vol. 7, no. 11, pp. 1016-1022. [Consulta: 17 octubre 2022]. ISSN 0892-6638. DOI 10.1096/FASEBJ.7.11.8370470. Disponible en:
<https://microbacterium.es/la-bioluminiscencia-pueden-los-seres-vivos-producir-luz>.

MENDOZA, J.G., VARGAS, C.M. & GONZÁLEZ, F. de M., *Acta Médica Peruana* La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. [en línea], vol. 36, no. 2, pp. 145-151. [Consulta: 13 enero 2022]. ISSN 1728-5917. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

MESA VANEGAS, A.María., Una visión histórica en el desarrollo de fármacos a partir de productos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* [en línea], vol. 48, no. 3, pp. 16-27. [Consulta: 13 enero 2022]. ISSN 1870-0195. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956616003>.

MEZA, Katherine. & VARGAS, Gabriela., *Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Hierba luisa (Cymbopogon citratus (DC) STAPF) Poaceae en una formulación cosmética con finalidad antiacnéica* [en línea]. Quito-Ecuador: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO. [Consulta: 26 agosto 2022]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6005/1/UPS-QT03735.pdf>.

MONTERO, Mayra., VAYAS, Lorena., AVILES, Diana., PAZMIÑO, Pilar. & ERAZO, Vinicio., Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Rev Inv Vet Perú* 2 [en línea], vol. 4, no. 29, pp. 1543-1547. [Consulta: 26 agosto 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a52v29n4.pdf>.

MONTERO RECALDE, M., VAYAS, L., AVILÉS ESQUIVEL, D., et. al. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* [en línea], vol. 29, no. 4, pp. 1543-1547. [Consulta: 13 enero 2022]. ISSN 1609-9117. DOI 10.15381/RIVEP.V29I4.15185. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000400052&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

MORA QUIROZ, M.S. & RAMOS CASTRO, S.Y., “Evaluación de la actividad actimicrobiana del extracto de cebolla colorada (*Allium cepa*) frente a microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*”. Guayaquil-Ecuador [en línea]. [Consulta: 27 diciembre 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/49302/1/BCIEQ-T-0517%20Mora%20Quiroz%20Maoly%20Stephania%3b%20Ramos%20Castro%20Stefan%3b%20Yuricoth.pdf>.

MUNITA, J.M. & ARIAS, C.A., *Mechanisms of Antibiotic Resistance*. *Microbiology Spectrum* [en línea], vol. 23, no. 5, pp. 464-472. [Consulta: 3 enero 2022]. ISSN 01931903. DOI 10.1128/MICROBIOLSPEC.VMBF-0016-2015. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>.

MUNZÓN QUINTANA, M. & BARRETO PAZ, J., *Desarrollo Local y Economía Social*, Respuesta del cultivo de cebolla perla (*Allium cepa* L.) a la fertilización orgánica, cantón cumandá, provincia de Chimborazo. *oidles*. pp. 24-38. ISSN 1988-2483. DOI 10.51896/OIDLES/JZDC5632.

NAVARRO, Ferran., MIRO, Elisenda. & MIRELIS, B., *Enferm Infecc Microbiol clinic Sci-Hub* | Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(9), 638–645 | 10.1016/j.eimc.2010.05.002. [en línea], vol. 28, no. 9, pp. 638-646. [Consulta: 16 septiembre 2022]. Disponible en: <https://sci-hub.se/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0213005X10002193>.

NORIEGA, L.M., Profilaxis antibiótica médica. *Medwave* [en línea], vol. 1, no. 05, pp. 1-7. [Consulta: 16 octubre 2022]. DOI 10.5867/MEDWAVE.2001.05.3088. Disponible en: <https://www.medwave.cl/puestadia/cursos/3088.html>.

OJEDA PEREDA, M.Clara. BELT & RÁN ORBEGOSO, R. Antonio., *Efecto antimicrobiano in vitro de los extractos de Allium sativum y Zingiber officinale frente a Staphylococcus aureus.*, vol. 10, no. 2, pp. 1-8.

PASACHOVA GARZÓN, J., RAMIREZ MARTINEZ, S. & MUÑOZ MOLINA, L., *Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular.* NOVA [en línea], vol. 17, no. 32, pp. 25-38. [Consulta: 4 enero 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-25.pdf>.

PÉREZ, Julián., *Definición de bacteriostático - Qué es, Significado y Concepto.* [en línea]. [Consulta: 16 octubre 2022]. Disponible en: <https://definicion.de/bacteriostatico/>.

PICAZO, Juan., *Procedimientos en Microbiología Clínica. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos.* [en línea], pp. 1-54. [Consulta: 31 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.

PUENAYÁN, E.F., *Caracterización molecular del gen mgrB en Klebsiella pneumoniae productora de carbapenemasas tipo KPC resistente a la colistina en aislamientos clínicos.* [en línea]. Quito-Ecuador: Universidad Central del Ecuador. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14579/1/T-UCE-0008-BC015-2018.pdf>.

PUJOL GARCIA, A., TAMARGO, B., SALAS, E., CALZADILLA, C., ACEVEDO, R. y SIERRA, G., *Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Cuba* Phytochemical screening of extracts obtained from the *Sapindus saponaria* L plant that grows in Cuba. [en línea], vol. 5, no. 3, pp. 1-6. [Consulta: 22 agosto 2022]. DOI 10.21931/RB/2020.05.03.7. Disponible en: <http://www.revistabionatura.com>.

RAMIREZ, L., *Universidad Tecnológica de Pereira*, Methodologies for evaluating the In vitro antibacterial activity of natural compounds of plant origin. no. 42, pp. 1-6.

RIVADENEIRA, Rosa., *Espicias y Condimentos. Requisitos.* [en línea]. [Consulta: 21 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2532.pdf>.

RODRÍGUEZ NAVARRO, J., *Diversidad plasmídica en cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae: Comparación entre aislados comensales y clínicos* [en línea]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/671304/jrn1de1.pdf;jsessionid=A77BE492122E4B9888291E9AB25132C2?sequence=1>.

RULLÁN FORNARIS, G.J., *Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla .* [en línea], [Consulta: 31 diciembre 2021]. Disponible en: <https://www.uprm.edu/eea/wp-content/uploads/sites/177/2016/04/2.-CEBOLLA-CARACTERISTICAS-DE-LA-PLANTA-G.-Fornaris-v2012.pdf>.

SADIKI, Moulay., BARKAI, Mounyr., MAATAQUI, Hajar. & IBNSOUND, Saad., *Article in International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Synergistic antibacterial effect of *Myrtus communis* and *Thymus vulgaris* essential oils fractional inhibitory concentration index. [en línea], vol. 6, no. 6, pp. 121-124. [Consulta: 31 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/262067985>.

SALDAÑA, E., *manual de terminología médica.* [en línea], vol. 1, pp. 1-91. [Consulta: 17 octubre 2022]. Disponible en: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7e/Manual_de_terminologia_medica_N%C2%B02.pdf.

SALGADO, F., *Revista Internacional de Acupuntura*, El jengibre (*Zingiber officinale*). vol. 5, no. 4, pp. 167-173. ISSN 1887-8369. DOI 10.1016/S1887-8369(11)70041-2.

SALVADOR FRANCÉS, M.Pilar., *Escuela Politécnica Superior de Huesca* Caracterización físico – química de familias seleccionadas para baja pungencia en la Cebolla Fuentes de Ebro. [en línea]. [Consulta: 31 diciembre 2021]. Disponible en: <https://zaguan.unizar.es/record/65580/files/TAZ-PFC-2017-122.pdf>.

SAMURIA, M.A., *Uso racional de antibióticos en procesos infecciosos frecuentes en pacientes atendidos en el Hospital Roberto Calderón Gutiérrez de Managua en el período de enero a diciembre de 2019*. [en línea]. Managua-Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua UNAN. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/13712/1/Samuria%20Mayorga%2C%20Mauricio%20Antonio.pdf>.

SÁNCHEZ VÁSQUEZ, J., *Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso del fruto de Allium cepa (cebolla) y Allium sativum (ajo) en Staphylococcus aureus. Trujillo-Perú* [en línea]. [Consulta: 27 diciembre 2021]. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/13743/CEPA_EFECTO_SANCHEZ_VASQUEZ_JOB.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

SCHMIDBERGER, Marcelo. & MARÍN, Hector., *Revista de la Facultad de Medicina* Circulación de Klebsiella spp. multirresistente en un sanatorio privado de la ciudad de Resistencia, Chaco. [en línea], vol. 3, pp. 28-34. [Consulta: 13 enero 2022]. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/03/1150791/circulacion-de-klebsiella.pdf>.

SERRA, Miguel, 2017a. *Rev haban cienc méd* La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. [en línea], vol. 16, no. 3. [Consulta: 24 mayo 2022]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011.

SERRA, Miguel, 2017b. *Resistencia microbiana*. Un problema de salud a nivel mundial. [en línea]. [Consulta: 5 mayo 2022]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300001.

SERRA, Miguel Ángel, *Rev haban cienc méd* [La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. en línea], vol. 16, no. 34, pp. 91-100. [Consulta: 17 enero 2022]. ISSN 01204157. DOI

10.7705/BIOMEDICA.V34I0.1667. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011.

SILVA, F. & MARTÍNEZ, P., *Revista chilena de infectología*. Complejo Enterobacter cloacae. [en línea], vol. 35, no. 3, pp. 297-298. [Consulta: 26 agosto 2022]. ISSN 0716-1018. DOI 10.4067/S0716-10182018000300297. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000300297&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

TIRADO, D.F., MONTERO, P.M. & ACEVEDO, D., *Información Tecnológica*, Estudio Comparativo de Métodos Empleados para la Determinación de Humedad Estudio Comparativo de Métodos Empleados para la Determinación de Humedad de Varias Matrices Alimentarias Comparative Study of Methods for Moisture Determination of Several Food Matrices. vol. 26, no. 2, pp. 3-10. DOI 10.4067/S0718-07642015000200002.

TONATO, Evelyn., “*Determinación de metales en cebolla de rama (Allium fistulosum L.), cultivada en suelos agrícolas cercanos al volcán Tungurahua*”. [en línea]. Ambato – Ecuador: Universidad Técnica De Ambato. [Consulta: 21 agosto 2022]. Disponible en:
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30178/1/AL%20710.pdf>.

TRONCOSO, C., PAVEZ, M., SANTOS, A., SALAZAR, R., BARRIENTOS, L., et. al. *International Journal of Morphology*. Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia Antibiótica. [en línea], vol. 35, no. 4, pp. 1214-1223. [Consulta: 13 enero 2022]. ISSN 0717-9502. DOI 10.4067/S0717-95022017000401214. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022017000401214&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

VERA CASTRO, J.M., *Evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Jengibre (Zingiber officinale) y Cúrcuma (Curcuma longa) frente a la bacteria Staphylococcus aureus ATCC: 12600*. Cuenca-Ecuador [en línea]. [Consulta: 27 diciembre 2021]. Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15045/1/UPS-CT007429.pdf>.

VIVOT, E.P., SÁNCHEZ, C., CACIK, F. & SEQUIN, C., *Ciencia, docencia y tecnología* [Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). en línea], no. 45, pp. 131-146. [Consulta: 29 agosto 2022]. ISSN 1851-1716. Disponible en:
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-17162012000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

YAGUANA JIMÉNEZ, C.S., *Pontificia Universidad Católica del Ecuador* “Evaluación del efecto antibiótico de los extractos acuosos de *Allium sativum* (ajo) y de *Coriandrum sativum* (culantro) mediante el método de sensibilidad por difusión en agar Bauer-Kirby, sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* entérica serovar typhi y *Salmonella* entérica serovar choleraesuis; en comparación con los antibióticos gentamicina y ampicilina. [en línea], [Consulta: 3 diciembre 2021]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec:80/xmlui/handle/22000/10160>.



DIRECCION DE BIBLIOTECAS
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Y LA INVESTIGACION
 Ing. Jonathan Parroño Ugullas MBA
D.B.I. ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

ANEXOS

ANEXO A: OFICIO AUTORIZACIÓN USO DE LABORATORIOS



Escuela
Superior Politécnica
de Chimborazo

Facultad de
Ciencias

Oficio Nro. ESPOCH-FC-2022-2537-O

Riobamba, 01 de junio de 2022

Asunto: AUTORIZACIÓN USO DE LABORATORIOS SRTA. MINERVA HUERTA MORÁN

Señora Ingeniera

Erika Elizabeth Cazorla García, MSc.

Técnico de Laboratorio

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Señora Bioquímica Farmacéutica

Yolanda Verónica Buzzaño Suarez

Técnico de Laboratorio

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Señor Bioquímico Farmacéutico

Benjamin Andrés Román Santos

Técnico de Laboratorio

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

En su Despacho

De mi consideración:

Luego de expresarles un cordial saludo y en base al Oficio Nro. ESPOCH-FC.DOC-2022-2990-O, suscrito por la Dra. Verónica Cando, docente de la Facultad, me permito informar que se autoriza el uso de los Laboratorios de Productos Naturales, Tecnología Farmacéutica y Bioanálisis-Microbiología, así como el uso de los siguientes reactivos:



Escuela
Superior Politécnica
de Chimborazo
ESPOCH

Facultad de
Ciencias

Oficio Nro. ESPOCH-FC-2022-2537-O

Riobamba, 01 de junio de 2022

CANTIDAD	REACTIVOS
50 mL	Etanol
	Magnesio metálico
15 mL gotas	Ácido clorhídrico
50 mL	Hidróxido de sodio al 10%
30 mL	Reactivo Erlich
30 mL	Ácido clorhídrico concentrado
30 mL	Hidróxido de amonio concentrado
30 mL	Ácido sulfúrico concentrado
40 mL	Hidróxido de potasio al 5%
35 mL	Cloroformo
20 mL	Pentóxido de hidrógeno al 6%
50 mL	Ácido clorhídrico al 10%
	Reactivo Mirver, Wagner o Dragendorff
30 mL	Solución patrón de Solasodina
30 mL	Anhidrido acético
30 mL	Solución patrón de Amirina
20 mL	Reactivo Rosenthaler
20 mL	Reactivo de gelatina
20 mL	Cloruro férrico al 1%

Con la finalidad de que la Sra. MINERVA HUERTA MORÁN, estudiante de la carrera de Bioquímica y Farmacia, realice la parte práctica del trabajo de Integración Curricular denominado "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS DE ALLIUM CEPA (CEBOLLA) Y ZINGIBER OFFICINALE (JENGIBRE)" bajo la dirección de la docente arriba mencionada.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,
SABER PARA SER

Documento firmado electrónicamente

Dr. Celso Guillermo Recalde Moreno
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

Referencias:
- ESPOCH-FC.DOC-2022-2537-O



Escuela
Superior Politécnica
de Chimborazo
ESPOCH

Facultad de
Ciencias

Oficio Nro. ESPOCH-FC-2022-2537-O

Riobamba, 01 de junio de 2022

Asunto:
- Oficio_solicitud_reactivos-ajgaed.pdf

Copia:
Señora Doctora
Verónica Mercedes Cando Brito, Mg.
Decana Occasional Tiempo Completo

mg

ANEXO B: OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA EN EL MERCADO MAYORISTA DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA-ECUADOR



ANEXO C: PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL PROCESO DE SECADO



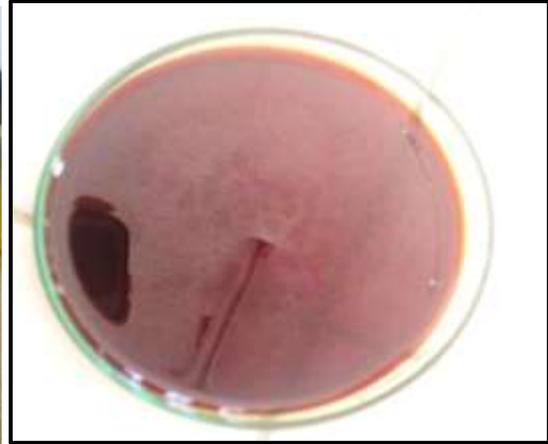
ANEXO D: PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL PROCESO DE PULVERIZACIÓN



ANEXO E: PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL PROCESO DE MACERACIÓN



ANEXO F: Y OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE CEBOLLA Y JENGIBRE



**ANEXO G: RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL,
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD Y CENIZAS**

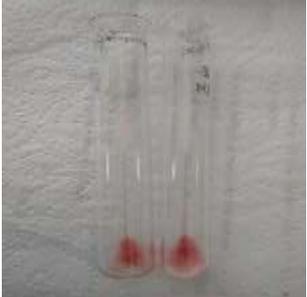




ANEXO H: RESULTADOS DE LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DE LA CEBOLLA Y EL JENGIBRE



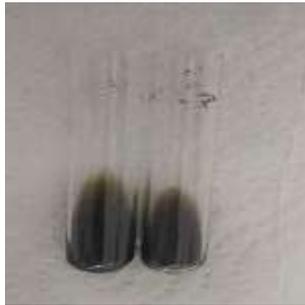
ANEXO I: RESULTADOS DEL TAMIZAJE DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE CEBOLLA Y JENGIBRE

TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA CEBOLLA		
PRUEBAS QUÍMICAS		
IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES		
<p align="center">Reacción Shinoda</p>  <p>[1] Positivo para presencia de flavonoles</p>	<p align="center">Reacción de hidróxido de sodio al 10%</p>  <p>Positivo para presencia de chalconas</p>	
IDENTIFICACIÓN DE CUMARINAS		
<p align="center">Reacción con hidróxido de amonio</p> 		
IDENTIFICACIÓN DE QUINONAS/ANTRAQUINONAS		
<p align="center">Reacción con hidróxido de amonio</p> 	<p align="center">Reacción con ácido sulfúrico</p> 	<p align="center">Reacción de Börntrager</p> 
IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES		
<p align="center">Reacción de Mayer</p>	<p align="center">Reacción de Wagner</p>	<p align="center">Reacción de Dragendorff</p>



IDENTIFICACIÓN DE TRITERPENOS Y/O ESTEROLES

Reacción de Lieberman Bouchard



IDENTIFICACIÓN DE SAPONINAS

Prueba de altura y estabilidad de espuma



Reacción de Rosenthaler (Reactivo de Vainillina)



Positivo para presencia de saponinas triterpenoidales

IDENTIFICACIÓN DE TANINOS/COMPUESTOS FENÓLICOS

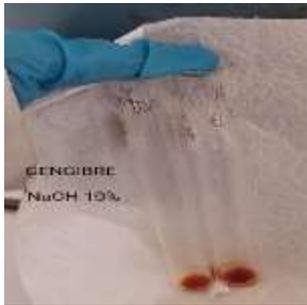
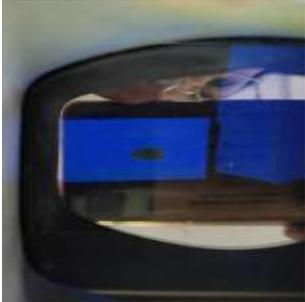
Reacción con gelatina



Reacción de cloruro férrico



Positivo para presencia de taninos condensados

TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL JENGIBRE		
PRUEBAS QUÍMICAS		
IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES		
<p>Reacción Shinoda</p>  <p>Positivo para presencia de flavonoles</p>	<p>Reacción de hidróxido de sodio al 10%</p>  <p>Positivo para presencia de chalconas</p>	
IDENTIFICACIÓN DE CUMARINAS		
<p>Reacción con hidróxido de amonio</p> 		
IDENTIFICACIÓN DE QUINONAS/ANTRAQUINONAS		
<p>Reacción con hidróxido de amonio</p> 	<p>Reacción con ácido sulfúrico</p> 	<p>Reacción de Börntrager</p> 
IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES		
<p>Reacción de Mayer</p> 	<p>Reacción de Wagner</p> 	<p>Reacción de Dragendorff</p> 

IDENTIFICACIÓN DE TRITERPENOS Y/O ESTEROLES

Reacción de Lieberman Bouchard



IDENTIFICACIÓN DE SAPONINAS

Prueba de altura y estabilidad de espuma



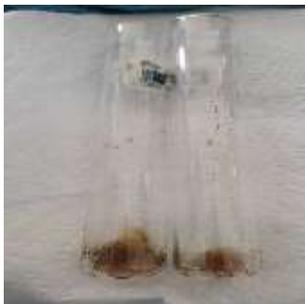
Reacción de Rosenthaler (Reactivo de Vainillina)



Positivo para presencia de saponinas esteroidales

IDENTIFICACIÓN DE TANINOS/COMPUESTOS FENÓLICOS

Reacción con gelatina

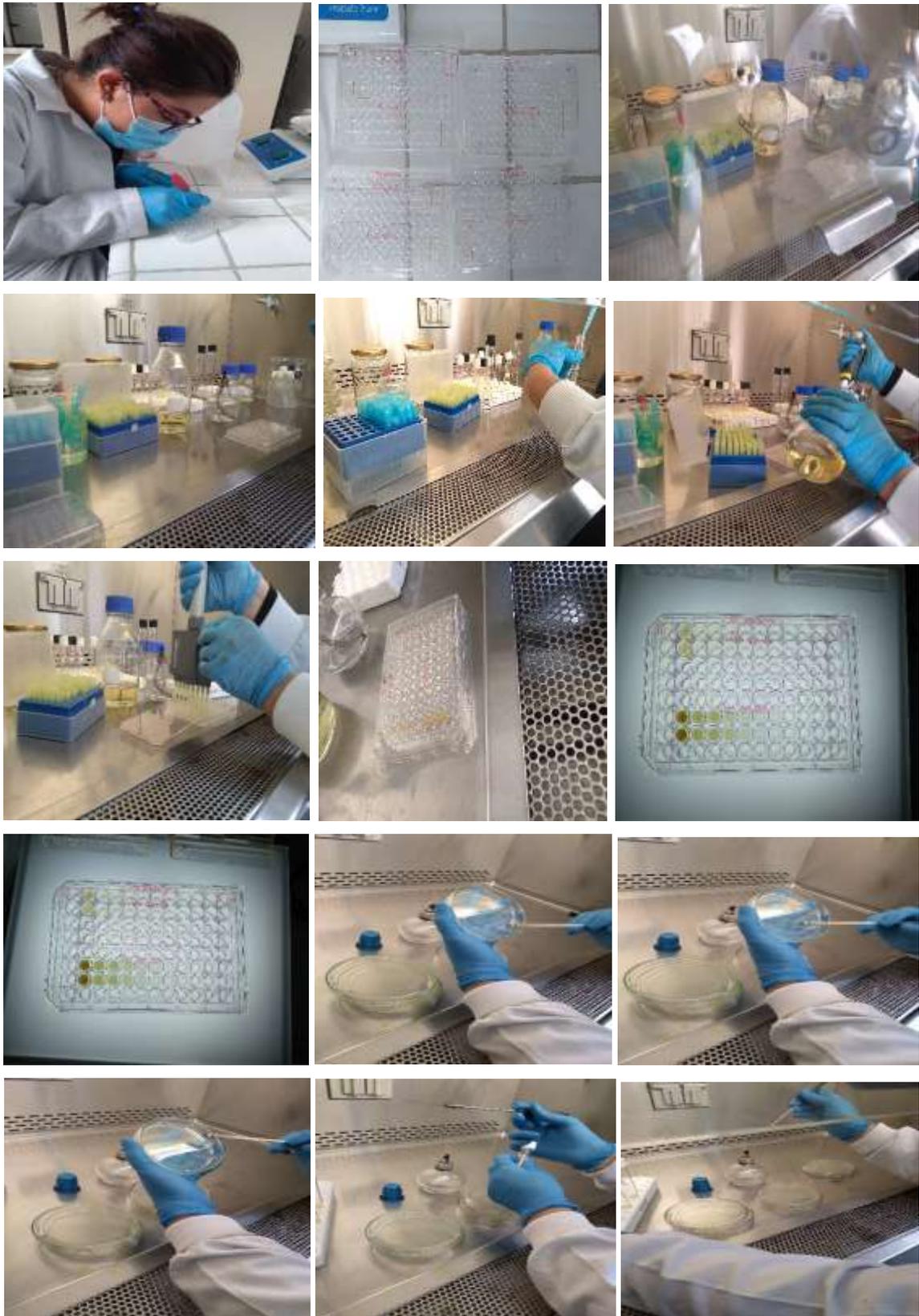


Reacción de cloruro férrico



Positivo para presencia de taninos condensados

ANEXO J: RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA Y LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE CEBOLLA Y JENGIBRE



Controles positivos de cada bacteria en estudio

➤ *Klebsiella pneumoniae*

10^{-1} → 480

10^{-2} → 53

10^{-3} → 4

➤ *Staphylococcus aureus*

10^{-1} → Incontable

10^{-2} → 5

10^{-3} → 1



➤ *Escherichia coli*

10^{-1} → Incontable

10^{-2} → 5

10^{-3} → 1



➤ *Enterobacter cloacae*

10^{-1} → Incontable

10^{-2} → 143

10^{-3} → 11



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE CEBOLLA

Klebsiella pneumoniae

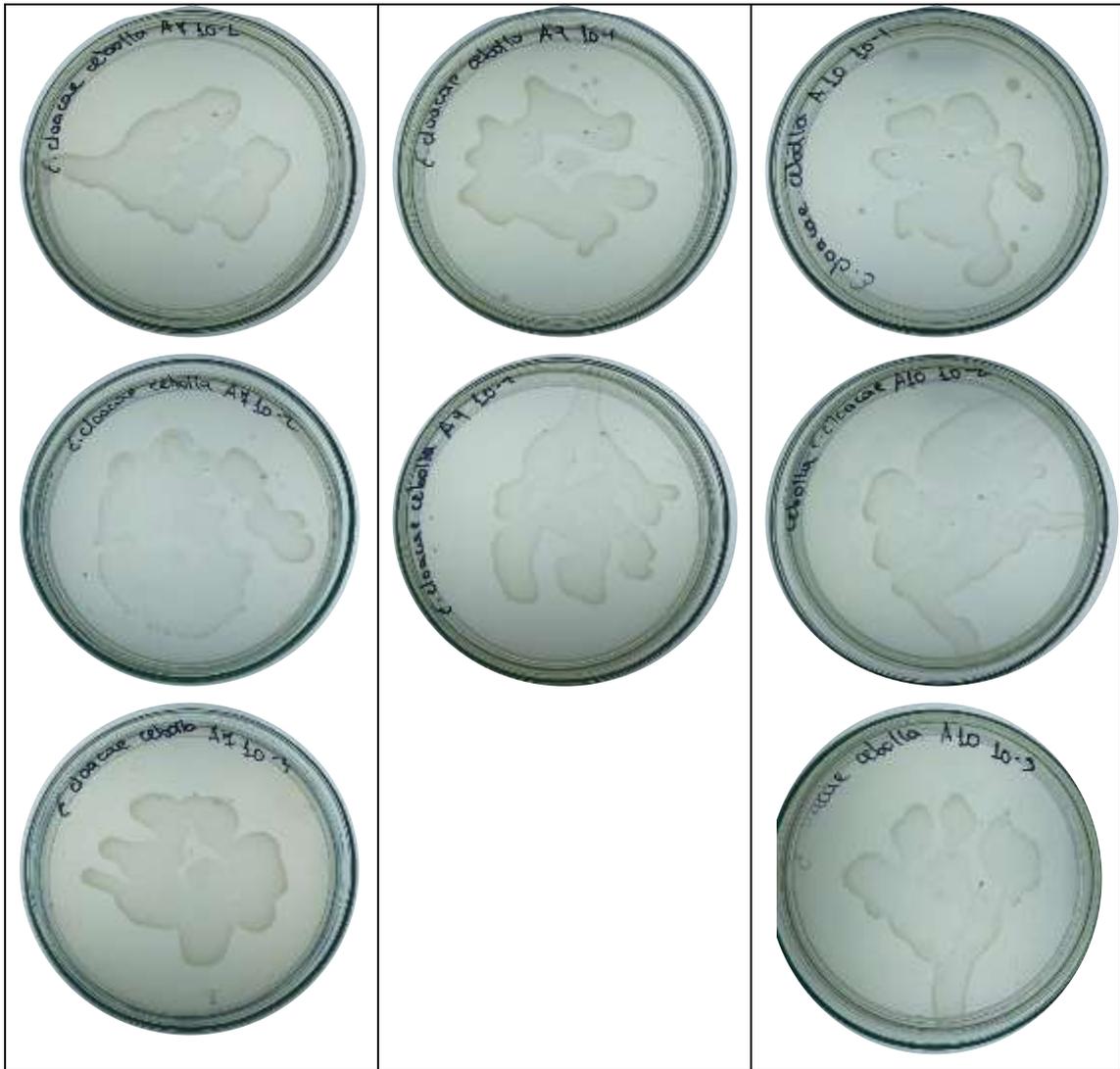
A3	A4	A10
<p>10^{-1}: 19</p> <p>10^{-2}: 6</p>	<p>10^{-1}: 70</p> <p>10^{-2}: 7</p> <p>10^{-3}: 5</p>	<p>10^{-1}: 4</p> <p>10^{-2}: 2</p> <p>10^{-3}: 1</p>



Staphylococcus aureus

A4	A5	A8
<p>10⁻¹: 70 10⁻²: 27 10⁻³: 2</p>	<p>10⁻¹: 2 10⁻²: 1 10⁻³: -</p>	<p>10⁻¹: incontable 10⁻²: 22 10⁻³: 5</p>
		
		
		

<i>Escherichia coli</i>		
A6	A9	A10
10^{-1} : 21 10^{-2} : 5 10^{-3} : -	10^{-1} : 10 10^{-2} : 4 10^{-3} : -	10^{-1} : 6 10^{-2} : 1 10^{-3} : -
		
<i>Enterobacter cloacae</i>		
A7	A9	A10
10^{-1} : 5 10^{-2} : 3 10^{-3} : 1	10^{-1} : 7 10^{-2} : 1 10^{-3} : -	10^{-1} : 10 10^{-2} : 7 10^{-3} : 1



10⁻¹ → 425
 10⁻² → 69
 10⁻³ → 40

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DEL JENGIBRE		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
F6	F7	F10
10 ⁻¹ : 5	10 ⁻¹ : 2	10 ⁻¹ : 15
10 ⁻² : -	10 ⁻² : -	10 ⁻² : 5
		10 ⁻³ : -



Staphylococcus aureus

E7	E9	E11
<p>10⁻¹: incontable 10⁻²: 70 10⁻³: 5</p>	<p>10⁻¹: incontable 10⁻²: 10 10⁻³: -</p>	<p>10⁻¹: incontable 10⁻²: 25 10⁻³: -</p>
		



Escherichia coli

E8	E9	E10
<p>10^{-1}: 12</p> <p>10^{-2}: 3</p> <p>10^{-3}: -</p>	<p>10^{-1}: 9</p> <p>10^{-2}: 1</p> <p>10^{-3}: -</p>	<p>10^{-1}: 6</p> <p>10^{-2}: 3</p> <p>10^{-3}: -</p>



Enterobacter cloacae

E7	E9	E11
----	----	-----

10^{-1} : 17

10^{-2} : 7

10^{-3} : 1

10^{-1} : 4

10^{-2} : 2

10^{-3} : 1

10^{-1} : 10

10^{-2} : 6

10^{-3} : 1



**ANEXO K: RESULTADOS DEL ANTIBIOGRAMA DE AZITROMICINA Y PENINCILINA
EN CADA UNA DE LAS BACTERIAS EN ESTUDIO**



COLOCACIÓN DEL ANTIBIOTICO

Klebsiella pneumoniae

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}



Escherichia coli

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}



Staphylococcus aureus

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}



Enterobacter cloacae

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}



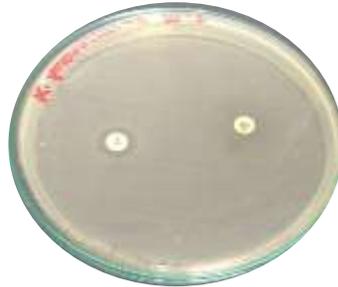
RESULTADOS DEL ANTIBIOGRAMA

Klebsiella pneumoniae

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}

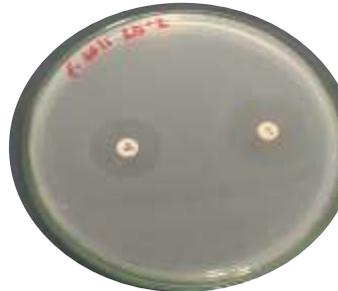


Escherichia coli

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}



Staphylococcus aureus

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}

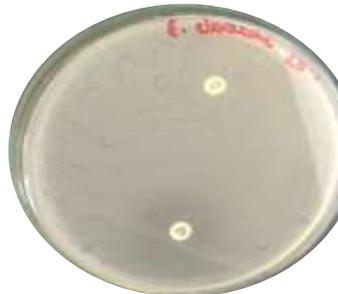


Enterobacter cloacae

10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}





epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 19 / 01 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: MINERVA HUERTA MORAN
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: CIENCIAS
Carrera: BIOQUÍMICA Y FARMACIA
Título a optar: BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. CPA. Jhonatan Rodrigo Parreño Uquillas. MBA.


DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Y LA INVESTIGACIÓN
 Ing. Jhonatan Parreño Uquillas MBA
DBRA - ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

2456-DBRA-UPT-2022