

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



TESIS

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE QUIMICO
FARMACEUTICO**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro*
DE *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* FRENTE A *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli y *Pseudomonas aeruginosa*. IQUITOS, 2018.**

PRESENTADO POR:

Bach. Erick David Vásquez Mora

Bach. José Luis Paredes Paredes

ASESORES

Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong

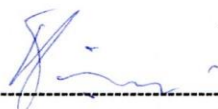
Q.F. Rosa del Carmen Miluska Vargas Rodríguez, MSc, PhD

IQUITOS – PERU

2019

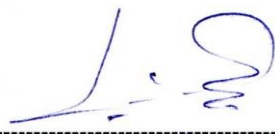
ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro*
DE *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* FRENTE A *Staphylococcus aureus*,
***Escherichia coli* , *Pseudomona aeruginosa*. IQUITOS, 2018.**

PAGINA DE APROBACION



Q.F. Luis A. Vilchez Alcalá, Dr.

PRESIDENTE



Q.F. Luis D. Nonato Ramírez, Dr.

MIEMBRO



Q.F. Brenda S. Urday Ruíz, Mgr.

MIEMBRO



Q.F. Henry V. Delgado Wong

ASESOR



Q.F. Rosa M. Vargas Rodríguez, MSc. PhD

ASESOR

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En el caserío de Nina Rumi, Distrito de San Juan Bautista, Departamento de Loreto, a los 28 días del mes de mayo del dos mil diecinueve, siendo las 12:10 Horas, los Miembros del Jurado Calificador de Tesis designado según Resolución Decanal N° 069-FFB-UNAP-2018, integrados por los señores docentes que a continuación se detalla:

- | | |
|--|------------|
| ➤ Q.F. LUIS ALBERTO VÍLchez ALCALÁ, Mgr. | PRESIDENTE |
| ➤ Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMÍREZ, Dr. | MIEMBRO |
| ➤ Q.F. BRENDA SORAYA URDAY RUIZ, Mgr. | MIEMBRO |



Se constituyeron en las instalaciones de la Facultad de Farmacia y Bioquímica sala de docentes, para proceder a dar inicio al Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis Titulada "ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In Vitro* DE *Curcuma longa* Y *Zingiber officinale* FRENTE A *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* Y *Pseudomonas aeruginosa*. IQUITOS, 2018", presentado por los Bachilleres JOSÉ LUIS PAREDES PAREDES y ERICK DAVID VÁSQUEZ MORA, para optar el TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO, que otorga la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA, de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto General de la UNAP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición de los sustentantes, y habiéndose formulado las preguntas respectivas, las cuales fueron respondidas:

Los miembros del Jurado Calificador llegaron a las siguientes conclusiones:

- 1.-La Tesis ha sido aprobada por unanimidad
- 2.-Observaciones ninguna

Siendo las 13:00 horas se dio por concluido el Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis, felicitándoles a los sustentantes por su sustentación


Q.F. LUIS ALBERTO VÍLchez ALCALÁ, Mgr.
PRESIDENTE


Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMÍREZ, Dr.
MIEMBRO


Q.F. BRENDA SORAYA URDAY RUIZ, Mgr
MIEMBRO

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro*
DE *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* FRENTE A *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli y *Pseudomonas aeruginosa*. IQUITOS, 2018.**

Bach. Erick David Vásquez Mora, Bach. José Luis Paredes Paredes

Resumen. En la presente investigación se determinó la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos metanólicos de *Curcuma longa* (Guisador), *Zingiber officinale* (Jengibre) y la combinación de *Curcuma longa* con *Zingiber officinale* (1:1), frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833, mediante el método de difusión en disco “Kirby-Bauer”. Las muestras fueron recolectadas al azar de la localidad de Indiana, ubicada a orillas del río Amazonas – Provincia de Maynas, para su posterior identificación taxonómica en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP). En la producción de extractos metanólicos se determinó que los rizomas de *Zingiber officinale* y la combinación de *Curcuma longa* con *Zingiber officinale* (1:1) tuvieron mayor rendimiento (18,90 % y 16,54 % respectivamente). Se estableció discos de gentamicina (10 µg) y ciprofloxacino (5 µg) como control positivo y discos impregnados con agua destilada como control negativo para la prueba de sensibilidad. Al determinar la actividad antibacteriana de los extractos vegetales a concentraciones de 4 mg/mL (40 %), 6 mg/mL (60 %), 8 mg/mL (80 %) y 10 mg/mL (100 %), el extracto de *Z. officinale* presentó halos de inhibición de 5.0±1.0 mm y 7.0±1.0 mm a las concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente, frente a *S. aureus*; mientras que el extracto combinado de *C. longa* con *Z. officinale* (1:1), a concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL presentó halos de inhibición de 7.0±1.0 mm y 9.0±1.0 mm, respectivamente, frente a *S. aureus*. En cuanto al extracto de *C. longa* no presentó actividad antibacteriana frente a ninguna de las tres especies bacterianas en estudio, a las concentraciones citadas. Se concluye que los extractos metanólicos de ambas especies vegetales no presentaron actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, ya que los resultados obtenidos comparados con los controles positivos no fueron significativos.

Palabras claves: Actividad antibacteriana, extractos metanólicos, técnica de Kirby-Bauer.

Comparative study of the in vitro antibacterial of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Iquitos, 2018.

Bach. Erick David Vásquez Mora, Bach. José Luis Paredes Paredes

Abstract. In the present investigation the in vitro antibacterial activity of the methanolic extracts of *Curcuma longa* (Toothpick), *Zingiber officinale* (Ginger) and the combination of *Curcuma longa* with *Zingiber officinale* (1:1), against strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833 was determined, by the disc diffusion method "Kirby-Bauer". Samples were collected at random from the locality of Indiana, located on the banks of the Amazon River - Province of Maynas, for later taxonomic identification in the Herbarium Amazonense of the National University of the Peruvian Amazon (UNAP). In the production of methanol extracts, it was determined that the rhizomes of *Zingiber officinale* and the combination of *Curcuma longa* with *Zingiber officinale* (1:1) had higher yield (18.90% and 16.54% respectively). Gentamicin and ciprofloxacin discs were established as a positive control and disks impregnated with distilled water as a negative control for the sensitivity test. When determining the antibacterial activity of plant extracts at concentrations of 4 mg / mL (40%), 6 mg / mL (60%), 8 mg / mL (80%) and 10 mg / mL (100%), it was established that the extract of *Zingiber officinale* presented halos of inhibition of 5.0 ± 1.0 mm and 7.0 ± 1.0 mm at the concentrations of 8 mg / mL and 10 mg / mL, respectively, against *Staphylococcus aureus*; while the combined extract of *Curcuma longa* with *Zingiber officinale* (1:1), at concentrations of 8 mg / mL and 10 mg / mL, presented halos of inhibition of 7.0 ± 1.0 mm and 9.0 ± 1.0 mm, respectively, compared to *Staphylococcus aureus*. As for the extract of *C. longa*, it did not present antibacterial activity against any of the three bacterial species under study, at the concentrations mentioned. It is concluded that the methanolic extracts of both plant species showed no antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, since the results obtained compared with the positive controls were not significant.

Key words: Antibacterial activity, methanolic extracts, Kirby-Bauer technique.

DEDICATORIA

*“Sí caminas solo, irás más rápido; si caminas acompañado
llegaras más lejos”*

Dedico este trabajo a Dios, ya que por su gracia y su infinito Amor tengo vida plena. Con EL todo, sin EL nada. Con mucho amor a mis padres Fernando y Lily, por su cariño, comprensión y grandes esfuerzos por sacarme adelante, A mis hermanos Claudia y Enzo y en especial a mi novia Kristina por su apoyo con cada palabra de ánimo para continuar luchando por mis sueños, por la confianza, por su compañía y su amor en los momentos que sentí desmayar. Gracias a mis abuelitos, Adith y Rafael, que, aunque estemos lejos, siento su amor y sus enseñanzas de paciencia, perseverancia y fortaleza.

José Luis Paredes Paredes

Al altísimo soberano Jehova Dios, por permitirme la vida y disfrutar de cada momento en este mundo maravillosamente hecho, a mi padre, por su apoyo incondicional y creer en mí aun cuando yo haya fallado, a mi madre (QEPD), por sus consejos que siempre los llevare presente, y porque aun en los momentos difíciles siempre estaba conmigo. A mis hermanos, Walter, Manuel, Priscilla y Oscar, que a pesar de las diferencias que podamos tener entre hermanos, siempre estamos unidos, gracias por el cariño.

Erick David Vasquez Mora

AGRADECIMIENTO

A los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, por brindarnos sus valiosos conocimientos durante mi formación profesional

A la Dra. Rosa María Vargas y al QF. Henry Delgado, docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por su tiempo y valiosa asesoría, y también por su importante colaboración en la redacción de este trabajo de investigación.

A nuestro Honorable Jurado Calificador de Tesis: Q.F. Luis Alberto Vilchez Alcalá. Mgr., Q.F. Luis Nonato Ramírez., Q.F. Brenda Soraya Urday Ruíz. Quienes con su experiencia profesional por sus valiosas observaciones, sugerencias y facilidades otorgadas para la realización de éste trabajo.

Al licenciado en Nutrición, Alexander Imán, encargado del Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias por su acompañamiento y asesoría en todo el período de pruebas microbiológicas.

A todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron a la materialización de este proyecto.

INDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4

CAPÍTULO I

I. INTRODUCCIÓN	13
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
2.1 Descripción del problema	15
2.2 Formulación del problema	17
III. OBJETIVOS	18
3.1 General	18
3.2 Específicos	18

CAPÍTULO II

I. MARCO TEÓRICO	20
1.1 Antecedentes	20
1.1.1 Estudios realizados sobre <i>Curcuma longa</i>	20
1.1.2 Estudios realizados sobre <i>Zingiber Officinale</i>	21
1.2 Familia Zingiberaceae	24
1.3 <i>Zingiber officinale</i> (Jengibre)	24
1.3.1 Clasificación taxonómica	24
1.3.2 Descripción botánica	25
1.3.3 Aspectos geográficos	25
1.3.4 Componentes químicos	26
1.3.5 Uso tradicional	27
1.4 <i>Curcuma longa</i> (Guisador)	28
1.4.1 Clasificación taxonómica	28

1.4.2 Descripción botánica	28
1.4.3 Aspectos geográficos	29
1.4.4 Componentes químicos	29
1.4.5 Uso tradicional	30
1.5 Sinergismo	32
1.5.1 Sinergia en combinación de extractos vegetales	32
1.6 Bacterias	34
1.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	35
1.7.1 Taxonomía	35
1.7.2 Caracterización morfológica y bioquímica	35
1.7.3 Factores de virulencia	36
1.7.4 Aspectos epidemiológicos y patogénicos	38
1.7.5 Aislamiento	40
1.7.6 Síndromes clínicos	41
1.8 <i>Escherichia coli</i>	43
1.8.1 Taxonomía	43
1.8.2 Caracterización morfológica y bioquímica	43
1.8.3 Factores de virulencia	44
1.8.4 Aspectos epidemiológicos y patogénicos	51
1.8.5 Aislamiento	51
1.8.6 Síndromes clínicos	52
1.9 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
1.9.1 Taxonomía	54
1.9.2 Caracterización morfológica y bioquímica	54
1.9.3 Factores de virulencia	55
1.9.4 Aspectos epidemiológicos y patogénicos	55
1.9.5 Aislamiento	57
1.9.6 Síndromes clínicos	57
II. DEFINICIONES OPERACIONALES	60
2.1 Variables	60

2.1.1 Variable Independiente	60
2.1.2 Variable Dependiente	60
2.2 Indicadores	60
2.2.1 Indicador independiente	60
2.2.2 Indicador dependiente	60
III. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	61
IV. HIPÓTESIS	63

CAPÍTULO III

I. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	65
1.1 Tipo de Estudio	65
1.2 Diseño de la Investigación	65
1.3 Método de la Investigación	65
II. POBLACIÓN Y MUESTRA	66
2.1 Población Vegetal	66
2.2 Muestra Vegetal	66
2.2.1 Criterios de inclusión	66
2.2.2 Criterios de exclusión	66
2.3 Población Bacteriana	66
2.4 Muestra Bacteriana	66
2.4.1 Criterios de inclusión	66
2.4.2 Criterios de exclusión	67
2.5 Procedimiento Experimental	67
2.5.1 Procedimiento de recolección de datos	67
2.5.1.1 Recolección y procesamiento de la muestra vegetal	67
2.5.1.2 Preparación de la molienda	67
2.5.1.3 Obtención de los extractos metanólicos	68
2.5.2 Evaluación de la actividad antibacteriana	69
2.5.2.1 Preparación de la solución stock	69
2.5.2.2 Preparación de los discos de sensibilidad	69

2.5.2.3 Preparación del estándar (Mc. Farland)	70
2.5.2.4 Preparación del agar nutritivo	70
2.5.2.5 Preparación del caldo Tripticasa de soya	71
2.5.2.6 Preparación del agar Tripticasa de soya	71
2.5.2.7 Preparación del inóculo	71
2.5.2.8 Inoculación de placas y preparación del medio de cultivo	72
2.5.2.9 Aplicación y lectura de los discos	73
III. MATERIALES E INSTRUMENTOS	74
3.1 Material Vegetal	74
3.2 Material Biológico	74
3.3 Equipos	74
3.4 Medios de Cultivo y Reactivos Químicos	75
3.5 Materiales de Laboratorio	75
IV. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	76
V. PROTECCIÓN DE LOS DERECHOS HUMANOS	77

CAPÍTULO IV

I. RESULTADOS	79
II. DISCUSIÓN	98
III. CONCLUSIONES	104
IV. RECOMENDACIONES	105
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
ANEXOS	122

INDICE DE TABLAS

TABLA N° 01. Principales factores de virulencia de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Pág. 37
TABLA N° 02. Patotipos extraintestinales de <i>Escherichia coli</i> .	Pág. 45
TABLA N° 03. Patotipos intestinales de <i>Escherichia coli</i> .	Pág. 48
TABLA N° 04. Variable independiente.	Pág. 61
TABLA N° 05. Variable dependiente.	Pág. 62
TABLA N° 06. Clasificación de la actividad antimicrobiana según el porcentaje de inhibición.	Pág. 74
TABLA N° 07. Porcentaje de rendimientos de los extractos obtenidos.	Pág. 79
TABLA N° 08. Media y desviación estándar de los diámetros de halos de inhibición (mm) de los extractos metanólicos de los rizomas <i>C. longa</i> , <i>Zingiber officinale</i> y la combinación de <i>Curcuma longa</i> con <i>Zingiber officinale</i> , frente a <i>S. aureus</i> .	Pág. 80
TABLA N° 09. Media y desviación estándar de los diámetros de halos de inhibición (mm) de los extractos metanólicos de los rizomas <i>C. longa</i> , <i>Zingiber officinale</i> y la combinación de <i>Curcuma longa</i> con <i>Zingiber officinale</i> , frente a <i>E. coli</i> .	Pág. 81
TABLA N° 10. Media y desviación estándar de los diámetros de halos de inhibición (mm) de los extractos metanólicos de los rizomas <i>C. longa</i> , <i>Zingiber officinale</i> y la combinación de <i>Curcuma longa</i> con <i>Zingiber officinale</i> , frente a <i>P. aeruginosa</i> .	Pág. 82
TABLA N° 11. Actividad antibacteriana del extracto metanólico de <i>Curcuma longa</i> “Guisador”, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> según diámetro de la zona de inhibición.	Pág. 83
TABLA N° 12. Actividad antibacteriana del extracto metanólico de <i>Zingiber officinale</i> “Jengibre”, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> según diámetro de la zona de inhibición.	Pág. 88
TABLA N° 13. Actividad antibacteriana del extracto metanólico de <i>Curcuma longa</i> con <i>Zingiber officinale</i> , frente a <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> según diámetro de la zona de inhibición.	Pág. 93

INDICE DE GRAFICOS

GRÁFICO N° 01. Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Cúrcuma longa*, frente a *Staphylococcus aureus* según diámetro de la zona de inhibición. **Pág. 84**

GRÁFICO N° 02. Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Cúrcuma longa*, frente a *Escherichia coli* según diámetro de la zona de inhibición. **Pág. 85**

GRÁFICO N° 03. Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Cúrcuma longa*, frente a *Pseudomonas aeruginosa* según diámetro de la zona de inhibición. **Pág. 86**

GRÁFICO N° 04. Actividad antibacteriana del extracto metanólico de rizomas de *Cúrcuma longa* según porcentaje de inhibición. **Pág. 87**

GRÁFICO N° 05. Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Zingiber officinale*, frente a *Staphylococcus aureus* según diámetro de la zona de inhibición. **Pág. 89**

GRÁFICO N° 06. Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Zingiber officinale*, frente a *Escherichia coli* según diámetro de la zona de inhibición. **Pág. 90**

GRÁFICO N° 07. Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Zingiber officinale*, frente a *Pseudomonas aeruginosa* según diámetro de la zona de inhibición. **Pág. 91**

GRÁFICO N° 08. Actividad antibacteriana del extracto metanólico de rizomas de *Zingiber officinale* según porcentaje de inhibición. **Pág. 92**

GRÁFICO N° 09. Categorización del extracto metanólico de la combinación de *Cúrcuma longa* con *Zingiber officinale*, frente a *Staphylococcus aureus* según diámetro de inhibición. **Pág. 94**

GRÁFICO N° 10. Categorización del extracto metanólico de la combinación de *Cúrcuma longa* con *Zingiber officinale*, frente a *Escherichia coli* según diámetro de inhibición. **Pág. 95**

GRÁFICO N° 11. Categorización del extracto metanólico de la combinación de *Cúrcuma longa* con *Zingiber officinale*, frente a *Pseudomonas aeruginosa* según diámetro de inhibición. **Pág. 96**

GRÁFICO N° 12. Actividad antibacteriana del extracto metanólico de la combinación de *Cúrcuma longa* con *Zingiber officinale*, frente a *Staphylococcus aureus* según porcentaje de inhibición. **Pág. 97**

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 01. Estructuras químicas de los principales compuestos del *Zingiber officinale*. **Pág. 26**

FIGURA N° 02. Principales curcuminoides presentes en la *Curcuma longa*. **Pág. 30**

FIGURA N° 03. Morfología macroscópica y microscópica de *Staphylococcus aureus*. **Pág. 40**

FIGURA N° 04. Morfología macroscópica y microscópica de *Escherichia coli*. **Pág. 51**

FIGURA N° 05. Morfología macroscópica y microscópica de *Pseudomonas aeruginosa* **Pág. 57**

CAPITULO

I

I. INTRODUCCION

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en una preocupación mundial, y en particular, algunas cepas de especies bacterianas, como es el caso de *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, se han convertido en un gran reto para la antibioticoterapia, dado a que vienen mostrando hoy en día, un incremento acelerado de resistencia a tratamientos antibióticos, por ello, la Organización Mundial de la Salud junto a otras organizaciones internacionales, vienen proponiendo alternativas de solución frente a este problema a través de su proyecto “Salud y Medicina Tradicional”, el cual busca apostar como método alternativo para el tratamiento enfermedades infecciosas, planteando además que las medicinas tradicionales de calidad, seguridad y eficacia comprobada que contribuyen a asegurar el acceso de todas las personas a la atención de salud. ^(1,2)

Además, la medicina tradicional se constituye en la mejor estrategia para la selección de especies vegetales a estudiar y comprobar experimentalmente la actividad terapéutica de plantas medicinales, una tarea esencial para establecer su inocuidad, eficacia y correcto uso, además de generar un nuevo conocimiento para la humanidad. ⁽³⁾

En el Perú, muchos estudios en especies vegetales que tienden a la búsqueda de alternativas de tratamiento contra infecciones resistentes, utilizan como herramientas biológicas a *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, debido a su gran capacidad para desarrollar resistencia a los antibacterianos de uso frecuente, llegando a causar infecciones letales que incrementan el índice de mortalidad en diferentes regiones y establecimientos de salud. ⁽⁴⁾

Es importante resaltar que la farmacopea peruana considera muchas plantas con aplicaciones medicinales. Diversos investigadores han señalado que en nuestro país existen más de 3,000 especies vegetales con propiedades curativas, gran número de ellas, presentan principios activos o metabolitos secundarios que poseen cierta actividad frente a microorganismos, y viendo la realidad sobre el incremento de la resistencia bacteriana, esto debería convencer a los científicos del valor y alcance de la investigación etnobotánica, fitoquímica y farmacológica, a fin de lograr su validación científica y mejorar la calidad de vida de la población. ^(5, 6)

La medicina tradicional, es una práctica ancestral muy utilizada para tratar diferentes patologías en los pobladores de nuestra región, de las cuales, la especie vegetal más utilizada es el “Kion” (*C. longa*) y el “Ajengibre” (*Z. officinale*) por sus propiedades medicinales, sin embargo, y pese a ello, existen escasos estudios realizados en torno a su actividad antibacteriana,⁽⁷⁾ de allí que, cualquier tipo de investigación relacionada con la evaluación de la actividad antibacteriana de estos extractos, contribuiría al desarrollo de investigaciones de estas especies, permitiendo en un futuro la posibilidad de su validación científica y comercialización como fármaco, brindando una nueva alternativa económica en el tratamiento efectivo de infecciones bacterianas.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 DESCRIPCION DEL PROBLEMA

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en cualquier momento, más de 1,4 millones de personas de todo el mundo padecen o contraen diversas infecciones bacterianas. Además, el riesgo de contraerlas en países en vías de desarrollo es entre 2 y 20 veces superior al que tienen los países desarrollados; siendo la prevalencia de estos últimos entre 5 y 10%.⁽⁸⁾ La presencia permanente de enfermedades infecciosas causadas por microorganismos patógenos resistentes plantea una amenaza cada vez mayor para la salud pública a nivel mundial, que afecta a todos los grupos poblacionales siendo más preocupante cuando se trata de la población infantil, implica que las personas con infecciones permanezcan enfermas durante periodos más largos y corran mayor riesgo de morir.⁽⁹⁾ Esta crisis tiene diversas dimensiones, todas igualmente importantes: El consumo inapropiado de los antibióticos existentes, debido a la venta libre y la presión de la publicidad y promoción de estos medicamentos, la falta de disponibilidad de antibióticos efectivos para las poblaciones pobres y necesitadas, y la ausencia de innovación y desarrollo de nuevos antibióticos, aceleran exageradamente la resistencia, aumentando la morbilidad, mortalidad y pérdida económica.^(10, 11)

Las enfermedades infecciosas causadas por *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* afecta a millones de personas en el mundo. De un total de 34'882,652 consultas externas solicitadas a los establecimientos de prestación de servicios de salud en nuestro país, se registraron 9'458,385 de consultas por enfermedades infecciosas, cuya prevalencia son los tres microorganismos en mención, representando el 27.11% durante el año 2015, observándose un incremento de 4.7% de consultas externas con respecto al año 2014.⁽¹²⁾

E. coli, es un microorganismo enteropatógeno causante de un gran número de morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo como es el caso de nuestro país. Son los responsables en más 80% de las Infecciones del tracto urinario⁽¹³⁾. Las infecciones del tracto urinario afectan a las personas de todas las edades y de ambos sexos, pero mayormente a las del sexo femenino, con una frecuencia estimada de 0.5 a 0.7% infecciones por año, y en el 2016, según el Centro Nacional de Epidemiología, prevención y control de Enfermedades, reporto que las infecciones del tracto urinario representan el 19% de las infecciones intrahospitalarias y la segunda causa de consulta en la población

a nivel nacional. ^(14,15) En Iquitos, se cuentan con datos relativamente escasos de los alcances y la magnitud de la prevalencia de las infecciones del tracto urinario. Sin embargo, un estudio realizado en 118 pacientes con el diagnóstico de infección del tracto urinario del Hospital EsSalud III Iquitos durante el año 2016, se observó que la bacteria aislada predominante fue la *E. coli* (65,73%), del mismo modo, el estudio concluyó que los pacientes que recibieron nitrofurantoina como tratamiento antibiótico, tuvieron 3.8 veces más riesgo de presentar una ITU recurrente ⁽¹⁶⁾; además, existen otros estudios que reportan que la resistencia de *E. coli* a las cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas y aminoglucósidos, incrementándose hasta un 5.3%, confirmando así, que hoy en día existe un incremento en la prevalencia debido a la resistencia del *E. coli* al tratamiento antibiótico. ⁽¹¹⁾

Asimismo, es muy importante señalar también, que *E. coli* es causante de una gran parte de las enfermedades diarreicas, siendo la segunda causa de muerte en menores de 5 años. En el Perú, durante el 2017, se registraron un total de 1'175 967 incidencias de enfermedades diarreicas, y aunque se reporta que hay un ligero descenso (1.7%) con respecto al año 2016, es mayor en un 5.2% en incidencias y 7% en defunciones (53) con respecto al año 2015. En Loreto, en el 2016, aunque las incidencias descendieron en un 2.9%, fue reportado un incremento de 7 defunciones con respecto al 2015 (9 defunciones). En el 2017, Loreto, registró un total de 59 308 incidencias, ocupando el quinto lugar de incidencia a nivel nacional (5.04%). ^(17,18)

Por otro lado, *S. aureus* es una bacteria capaz de sobrevivir en condiciones adversas, siendo el responsable del 32 al 47% de las infecciones de piel y tejido celular subcutáneo y el causante del 15% de infecciones intrahospitalarias. En el Perú, en el 2014, se reportó un total de 399 513 consultas externas a nivel nacional por este tipo de infecciones, siendo el sexo masculino el de mayor incidencia (48.1%). ^(19,20) En la Amazonía Peruana no existen estudios relacionados a infecciones adquiridas en la comunidad farmacorresistentes. Solo se describió un caso de infección por *S. aureus* metil-resistente en un paciente que vive en un área remota de la Cuenca Amazónica de Perú, en el cual, los cultivos del exudado de la herida y muestras de biopsia de piel produjeron *S. aureus* resistente a oxacilina, tetraciclina y eritromicina, por lo que su importancia radica en la extraordinaria capacidad para desarrollar resistencia a los antibacterianos y el potencial de causar infecciones que pueden llegar a ser letales. ⁽²¹⁾

En cambio, la *P. aeruginosa* sigue siendo uno de los microorganismos más temidos que causan bacteriemias, representando el 80% de las bacteriemias de origen nosocomial, llegando a superar el 50% de mortalidad, debido a su alto índice de resistencia que sobrepasa el 30%. En el Perú, en pacientes internados en un hospital universitario se reportó una resistencia elevada de *P. aeruginosa* a ceftazidima (71%), aztreonam (62%) e imipenem (47%). Meropenem fue el único de los antibióticos ensayados que presentó una resistencia menor al 30%.^(22,23)

En la actualidad, la OMS estima que el 80% de la población de países en desarrollo basa el cuidado de su salud en la medicina tradicional. A pesar, del incremento en el uso de plantas con propiedades medicinales, ser muy eficaz y tolerado, se considera una actividad empírica y un tratamiento alternativo, pero tienen una creciente demanda, sobre todo en compuestos antimicrobianos, debido al aumento de la población con inmunodepresión y a la creciente resistencia a los antibióticos, lo que constituye una amenaza mundial.⁽²⁴⁾

Además, la Amazonía Peruana posee una gran riqueza florística, en la que existen especies nativas con grandes propiedades medicinales, tal es el caso de las especies de *C. longa* y *Z. officinale*, sin embargo, existen escasos estudios realizados en torno a la actividad antibacteriana de sus extractos vegetales a nivel regional, el cual constituiría un gran aporte para la ciencia de la salud.

De acuerdo a las consideraciones planteadas anteriormente, nos llevan a plantear la siguiente interrogante:

2.2 FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Presenta actividad antibacteriana *in vitro* las especies vegetales *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, Iquitos 2018?

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

- ✓ Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos metanólicos de *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* frente a de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Iquitos 2018.

3.2 ESPECIFICOS

1. Obtener los extractos metanólicos de rizomas de *C. longa* y *Z. officinale*, y determinar su rendimiento.
2. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, mediante el método de Difusión en disco “Kirby-Bauer” frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.
3. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, mediante el método de Difusión en disco “Kirby-Bauer” frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.
4. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto metanólico combinado de rizomas de *C. longa* con *Z. officinale* mediante el método Kirby-Bauer frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

CAPITULO

II

I. MARCO TEORICO

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE *Curcuma longa*

Pajares, J. A. et al. (2017). Evaluaron el efecto antibacteriano que tienen los curcuminoides del rizoma de *C. longa* “cúrcuma” sobre el crecimiento de *P. aeruginosa* CMH-1, al aumentar su biodisponibilidad mediante su obtención a nivel de nanopartículas. Los autores concluyen, que a la concentración de 100% de nanopartículas hay efecto antibacteriano sobre el crecimiento de *P. aeruginosa* CMH-1. ⁽²⁵⁾

Méndez Álvarez, N. et al. (2016). Evaluaron la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico y el aceite esencial de *C. longa* (Zingiberaceae) contra bacterias nosocomiales (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus sp.*, *Salmonella sp.* y *Bacillus sp.*); obtuvieron como resultados que el extracto etanólico y el aceite esencial de los rizomas de *C. longa* poseen propiedades antibacterianas. El extracto etanólico fue el de mayor potencial contra las bacterias evaluadas. ⁽²⁶⁾

Gupta, A., Mahajan, S., & Sharma, R. (2015). Evaluaron la actividad antimicrobiana in vitro de diferentes fracciones obtenidas a partir de rizoma de *C. longa*, frente a la cepa estándar y aislados clínicos de *S. aureus*. Los aislados clínicos demostraron ser más sensible para diferentes fracciones, que la cepa estándar de *S. aureus*, las observaciones electrónicas de barrido microscópico revelaron que el patógeno testado frente al extracto de *C. longa* mostró deformidad morfológica, con falta parcial de la membrana citoplásmica. ⁽²⁷⁾

Chakraborty et al. (2014). Determinaron el efecto antibacteriano de *C. longa*, *Z. officinale* y *Tinospora cordifolia* frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Bacillus subtilis* y *Proteus mirabilis* de origen clínico. Los resultados de MIC y MBC encontraron que los aislados bacterianos clínicos fueron fenóticamente resistentes a múltiples fármacos contra antibióticos estándar (>500 µg/mL). En comparación con los antibióticos estándar, *C. longa*, *Z. officinale* y *T. cordifolia* fueron

más efectivos frente a dichas cepas, por otra parte *C. longa* tuvo una eficacia antibacteriana más alta en comparación a *Z. officinale* y *T. cordifolia*.⁽²⁸⁾

Torres, E. et al. (2014). Evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de rizomas de *Curcuma longa* L., el cual fue evaluado frente *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *B. subtilis*, mostrando actividad antibacteriana frente a las cuatro especies estudiadas, siendo la más promisoría su acción frente a *S. aureus* y *B. subtilis* con CBM de 32 y 8 respectivamente.⁽²⁹⁾

Rao, N., & Mittal, S. (2014). Evaluaron la actividad antibacteriana de la *Curcuma longa* contra *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* por método de difusión en disco, los resultados demuestran la eficacia del extracto metanólico contra *S. flexneri* y *C. albicans*.⁽³⁰⁾

1.1.2 ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE *Zingiber officinale*

Jami, G., & Alexandra, S. (2017). Estudiaron el efecto antimicrobiano del extracto, aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*) y el hipoclorito de sodio al 5,25% sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Los investigadores concluyeron que el extracto y aceite esencial al 4% y 5,25% tuvo un efecto nulo sobre la bacteria, el aceite esencial al 15% presento efecto sobre el microorganismo, mientras que el extracto al 15% tuvo un efecto antimicrobiano similar al hipoclorito de sodio al 5.25% sobre la cepa de *E. faecalis*.⁽³¹⁾

Ayala Almeida, D. C. (2016). Determinaron la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de Margarita (*Calendula officinalis*) y Jengibre (*Zingiber officinale*) sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Observándose la eficacia antibacteriana del aceite esencial de Margarita que obtuvo un promedio de 5mm de halo inhibitorio, Jengibre obtuvo 11.5mm de halo inhibitorio, siendo mayor el efecto antibacteriano del aceite esencial de Jengibre, pero menor al halo inhibitorio de la sustancia de control Clorhexidina al 2%, de 22mm.⁽³²⁾

Pelaez Loyola, L. M., & Zavala Obando, S. M. (2016). Determinaron el efecto del extracto etanólico de los rizomas de *Z. officinale* (jengibre) sobre el crecimiento de cepas patógenas de *Streptococcus pyogenes*. El ensayo de actividad antimicrobiana fue evaluado por el método de difusión en agar de Kirby Bauer. Concluyeron que el extracto etanólico de los rizomas de *Z. officinale* posee un efecto inhibitorio en el crecimiento bacteriano de *S. pyogenes*, debido a que obtuvieron diámetros promedios de 5,3 mm, 6,6 mm, 9,3 mm y 12 mm de concentraciones de 5, 10, 15 y 20 µl del extracto etanólico respectivamente. ⁽³³⁾

Islam, K. et al. (2014). Determinaron la actividad antimicrobiana del extracto de jengibre seco, utilizando ensayos de difusión en agar, contra 24 aislamientos (4 de 6 tipos diferentes) de patógenos alimentarios, incluyendo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiella spp.* y *Salmonella spp.* Demostraron la potente actividad antimicrobiana del extracto de jengibre contra todos los patógenos bacterianos probados, el extracto de jengibre obtuvo la zona más alta de inhibición ($11,67 \pm 1,53$ mm) contra *S. spp.* y la zona más baja de inhibición ($8,0 \pm 1,73$ mm) contra *E. coli*. ⁽³⁴⁾

Igwo-Ezikpe et al. (2013). Determinaron el efecto antimicrobiano y de inhibición del crecimiento de diferentes extractos de disolventes de *Z. officinale* (n-hexano, cloroformo, acetato de etilo, éter de petróleo, butanol, metanol y extracto acuoso) contra cinco cepas bacterianas y fúngicas patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Arenaria de Bacillus subtilis*, *Candida albicans*). Los resultados muestran la actividad antimicrobiana más destacada ya que fue eficaz contra todos los cinco microbios patógenos (*E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. putida* y *C. albicans*), pero fue más tóxico contra *B. subtilis* (14 mm). El extracto de butanol mostró toxicidad contra *B. subtilis* (10 mm) y *C. albicans* (12 mm); el extracto de cloroformo mostró actividad antimicrobiana contra *C. albicans* (10,0 mm). Este estudio ha demostrado el potencial de los rizomas de jengibre como agente antimicrobiano posible. ⁽³⁵⁾

Al-Daihan, S. et al. (2013). Evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos acuosos y metanólicos de *Zingiber officinale*, *Curcuma longa*, *Commiphora molmol* y *Pimpinella anisum*, sobre microorganismos como *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La mayor actividad antibacteriana fue con el extracto metanólico de *C. longa* y *C. molmol* contra *S. pyogenes* y *S. aureus* respectivamente, la actividad mínima fue con el extracto acuoso de *P. anisum* contra *E. coli* y *P. aeruginosa* (7 mm). Los extractos metanólicos lograron inhibir el crecimiento de las bacterias patógenas estudiadas. ⁽³⁶⁾

Callejas Vázquez, S. M. et al (2012). Evaluaron la capacidad antimicrobiana de extractos obtenidos de ajo (*Allium sativum*), cebolla (*Allium cepa*), árnica (*Arnica montana* L.), jengibre (*Zingiber officinale*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Los investigadores demostraron que, el ajo, la cebolla, el árnica, el jengibre y en el orégano tienen componentes con capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas. ⁽³⁷⁾

Singh, R. et al. (2011). Evaluaron la actividad antihelmíntica de los extractos hidroalcohólicos de *Curcuma longa*, *Zingiber officinale* y combinación de *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* rizoma extractos (1:1) frente a *Pheretima posthuma* (lombriz de la India), tres concentraciones (10, 20 y 50 mg / ml) de cada extracto. Para este estudio utilizaron extractos que incluyeron la determinación del tiempo de parálisis (vermífuga) y el tiempo de muerte (actividad vermícida) de los helmintos. Entre los dos extractos de fármacos, *C. longa* mostró máxima actividad vermífuga a la concentración de 50 mg/mL. La actividad vermícida máxima lo obtuvieron en el extracto de *Z. officinale*, cuya concentración fue de 50 mg/mL. La combinación de extractos de rizomas hidroalcohólicos de *C. longa* y *Z. officinale* demuestran significativa Actividad antihelmíntica. Concluyeron que tanto los extractos de los rizomas de *C. longa* y *Z. officinale* tienen una potencial actividad antihelmíntica. ⁽³⁸⁾

1.2. Familia *zingiberaceae*

La familia *Zingiberaceae*, es la más grande del orden Zingiberales, consiste aproximadamente de 50 géneros y 1000 especies. La distribución es pantropical, pero con mayor concentración en el sureste de Asia. El estudio taxonómico de la familia es difícil en virtud de sus flores efímeras y su clasificación aún es imperfecta. ⁽³⁹⁾

Muchas plantas pertenecientes a esta familia contienen aceites aromáticos. Son de importancia económica y medicinal, como la raíz de jengibre (*Zingiber officinale*), por ejemplo, que se ha utilizado durante muchos años como especias y en formas tradicionales de medicina para tratar una variedad de enfermedades. Recientemente, un estudio científico ha tratado de revelar los compuestos bioactivos del rizoma encontrándose que es efectivo en el tratamiento de trombosis, enfermedad del mar, migraña y reumatismo. ^(39,40)

1.3. *Zingiber officinale*. “Jengibre”

1.3.1 Clasificación taxonómica: ⁽⁴¹⁾

Nombre Científico	:	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe
Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Liliopsida
Orden	:	Zingiberales
Familia	:	Zingiberaceae
Subfamilia	:	Zingiberoideae
Género	:	<i>Zingiber</i>
Especie	:	<i>Zingiber officinale</i>
Nombres comunes	:	Jengibre, Zingiber, Ajengibre o kion.

1.3.2 Descripción botánica

Planta herbácea perenne, reptante, perteneciente a la familia de las Zingiberáceas; formada por rizomas tuberosos, poliobulado, grueso y subterráneos de los cuales parten hijuelos aéreos cubiertos por vainas envolventes de las hojas. Presenta una altura entre 60 a 120 cm; hojas envainantes lanceoladas de 15 a 30 cm de longitud; flores verdosas con manchas púrpuras dispuestas en espigas cónicas y soportadas por escamas empizarradas. (42)

Presenta un tallo sin hojas que lleva la inflorescencia, aunque, también se encuentran tallos foliares corrientes; produce una inflorescencia en el ápice. El tallo floral es un vástago de 10 a 30 cm de diámetro, cubierto por brácteas en su parte inferior. La flor del jengibre es asimétrica, el cáliz tubular y corto, aunque rara vez el jengibre fructifica. (43)

Los rizomas son de color cenizo por fuera y blanco amarillento por dentro en un corte transversal de los rizomas muestra que consta de tres partes esenciales, corcho, región cortical y cilindro central. Las capas de corcho son producidas en la epidermis y forman de cuatro a ocho estratos de células de parénquima, alargadas en sentido tangencial, que se renuevan constantemente y le dan el aspecto seco y corchoso característico. (44, 45)

La región cortical está constituida por parénquima, de color grisáceo oscuro y contiene abundante número de células con oleorresinas, y haces vasculares. El cilindro central es amarillento y se encuentra separado del anterior por una banda más clara. (45)

1.3.3 Aspectos geográficos.

El jengibre crece espontáneo en las Indias Orientales y especialmente en los alrededores de Gingi, en Malabar, y Ambroina (China). Pero además se cultiva en Costa de Marfil, Japón, China, India, México, las Antillas y, mayormente, en Jamaica. (46)

Requiere de un clima tropical húmedo, con una temperatura superior a los 30° C, humedad de 80% a 95%, y una altitud de 0 a 1500 m.s.n.m. Así pues, el Perú con su gran riqueza natural cuenta con una serie de microclimas, aptos para el desarrollo de esta especie y se cultiva principalmente en la selva central en los departamentos de Junín y Huánuco. (47)

1.3.4 Componentes químicos

El rizoma del jengibre presenta componentes químicos que aportan beneficios a la salud de quien lo ingiere, estos se conocen como principios aromáticos (α -zingibereno, α -curcumeno, β -bisaboleno) presentes en el aceite esencial y los principios pungentes ([6]-gingerol y el [6]-shogaol), presentes en la resina. La unión del aceite esencial y la resina constituyen la oleorresina que se encuentra de un 4 a 7,5% en el rizoma. ^(44, 45)

El aceite esencial (1,5-3% de la droga) tiene una composición variable según la procedencia. Los principales componentes son: Sesquiterpenos (como el β -sesquifelandreno y el α -curcumeno, principales responsables del aroma a jengibre), monoterpenos, hidrocarburos y aldehídos alifáticos. ^(41, 48)

Las sustancias picantes presentes en la fracción resinosa (5- 8%) entre los que destacan: gingerdiones, gingeroles: (6)-gingerol, (8)- gingerol, (10)-gingerol, con una concentración del 33%, originando por desecación: zingerona, zingibereno, (6)-shogaol, (8)-shogaol y (10)-shogaol (los cuales se caracterizan por ser más picantes). Los gingeroles y los shogaoles son fenilalcanonas no volátiles con cadenas de diferentes longitudes, siendo los más importantes el (6)- gingerol y el (6)-shogaol. El rizoma de jengibre también contiene diarilheptanoides: difenilheptenonas, difenilheptanonoles, difenilheptanodiones y sus acetatos. ^(45, 48)

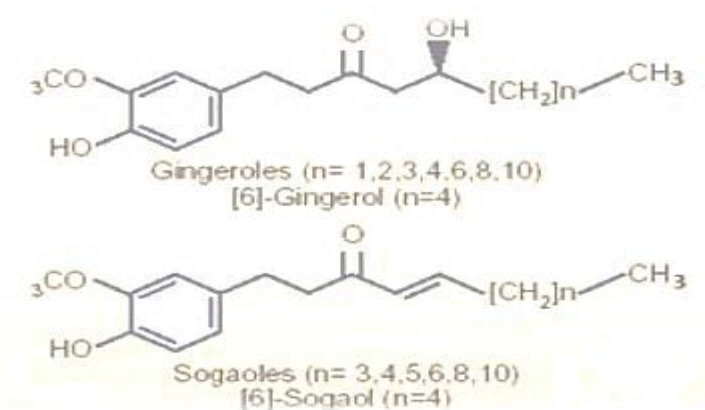


Figura 1. Estructuras químicas de los principales compuestos del *Zingiber officinale*.

Fuente: Cañigüeral, S. (2003) *Farmacia Práctica, Plantas Medicinales y Drogas Vegetales*.

El jengibre contiene grasas, ceras, hidratos de carbono, vitaminas y minerales. Así mismo, los rizomas del jengibre también contienen una enzima proteolítica potente llamada zingibain. ⁽⁴⁹⁾

1.3.5 Uso tradicional

En medicina tradicional se utilizan los rizomas de *Z. officinale* para favorecer la digestión, para aliviar el dolor en afecciones muscoesqueleticas, como el dolor en las articulaciones en la artritis reumatoide, y en caso de fiebre e infecciones del tracto respiratorio superior. ⁽⁵⁰⁾

En los últimos años ha visto incrementado su interés en terapéutica debido, principalmente, a su actividad antiemética, frente a náuseas y vómitos de origen diverso: quimioterapia, embarazo, mareo del viajero y en algunos casos, post-operatorio. ⁽⁵¹⁾

Formas de uso de la *Z. officinale* ^(52, 63)

- **Reumatismo:** Hervir en agua tres kg de rizomas, pelados y machacados. Añadir tres kg de azúcar que espese y dejar reposar durante un par de semanas. Tomar tres veces al día.
- **Amigdalitis:** Hacer unas 3-5 gárgaras al día con una taza del cocimiento. Se puede agregar sal y unas gotas de sangre de grado.
- **Cólicos:** Se puede masticar directamente un pedazo de raíz para calmar dolor producido por úlcera estomacal, cólicos biliares u otras inflamaciones agudas.
- **Tos seca:** Masticar el rizoma crudo alivia la tos y escozor de la garganta. También se puede preparar el rizoma machacado y hervir con azúcar y aguardiente. Otro preparado utilizado en la zona consiste en rallar un rizoma y una cebolla medianos, diluirlos en una taza de agua y agregar una cucharada de azúcar. Estos preparados se toman de tres a cuatro veces al día durante tres días.
- **Problemas digestivos (diarrea):** Machacar el rizoma y cocinarlo. Dejar reposar y dar de beber.

1.4. *Curcuma longa* L. “Guisador”

1.4.1 Clasificación taxonómica: ⁽⁵³⁾

Nombre Científico	:	<i>Curcuma longa</i> L.
Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Liliopsida
Orden	:	Zingiberales
Familia	:	Zingiberaceae
Subfamilia	:	Zingiberoideae
Género	:	<i>Curcuma</i>
Especie	:	<i>Curcuma longa</i>

NOMBRE VULGAR: Se conoce también como: azafrán de la India, rizoma de cúrcuma, raíz de cúrcuma, turmeric, azafrán cimarrón; yuquilla (Cuba), turmérico, jengibrillo (Puerto Rico), palillo cholón, palillo chuncho, guisador, azafrán (Perú). ⁽⁵⁴⁾

1.4.2 Descripción botánica

Especie herbácea, vivaz, rizomatosa, de 0.60 a 1 m de altura, hojas anchas de 30 a 40 cm, largamente pecioladas, ovales o lanceoladas, color verde claro. Las flores pueden tener distintos colores según las variedades, amarillo, púrpura, etc. y se disponen en espigas cilíndricas 10 a 20 cm, cóncavas, por lo general de color verde y de cuyas axilas nacen las flores, cáliz tubular, ovario veloso, tallo subterráneo. Se producen durante el verano y posteriormente las hojas se marchitan. El rizoma principal es carnoso, ovalado, periforme, anaranjado por dentro, y de él salen otros rizomas secundarios, alargados, algo cilíndricos y tiernos llamados dedos de unos 4 a 7 cm de largo, que son los que desde hace siglos se emplean como condimento, tinte y estimulante medicinal. ⁽⁵⁵⁾

1.4.3 Aspectos geográficos.

El origen de la cúrcuma es el sudeste asiático, más concretamente La India y zona meridional de Vietnam. ⁽⁵⁶⁾

Se puede encontrar desde Polinesia y Micronesia hasta el sudeste asiático, pero también se ha naturalizado en la Amazonia, desarrollándose bien en zonas de selva alta y selva baja. La temperatura media óptima está en el orden de 24 a 28°C, con mínimas alrededor de 18°C y una considerable pluviosidad para prosperar. La precipitación idónea está en 2,000 mm para los siete a diez meses de cultivo. La sequía reduce el desarrollo, con el resultado de rizomas pequeños. Produce mejor en suelos francos, fértiles y bien drenados con pH ligeramente ácido (5 a 6). Las arcillas pesadas y los suelos arenosos no son adecuados para la formación de rizomas grandes. El cultivo responde a la adición de cantidades altas de materia orgánica. ⁽⁵⁷⁾

1.4.4 Componentes químicos

El rizoma de cúrcuma contiene cúrcumina (ácido turmérico), una materia colorante amarilla, insoluble en agua, soluble en alcohol y éter; aceite esencial, almidón (entre un 30 y 40%), resina, goma, aceite graso, oxalato de calcio. Con un rango establecido del 3 - 5% de curcumina. La curcumina es el principal constituyente activo (diferuloilmetano), acompañada de monodemetoxicurcumina, bisdemetoxicurcumina y dihidrocurcumina (Figura 1). La curcumina es inestable a pH básico, también ocurre una degradación extremadamente lenta a pH entre 1 y 7. El aceite esencial es de color amarillo-anaranjado, se haya en el parénquima cortical y entre sus componentes figuran: felandreno, sabineno, cineo, turmerol. ⁽⁵⁸⁾

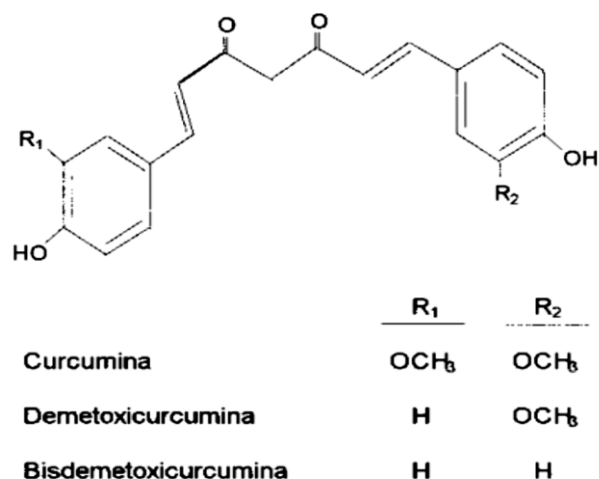


Figura 2. Principales curcuminoides presentes en la *Curcuma longa*.

1.4.5 Uso Tradicional

La cúrcuma es conocida en la industria alimentaria como E-100, su resina se utiliza como agente saborizante y colorante alimenticio de color anaranjado siendo el responsable de éste la curcumina, compuesto fenólico que sirve para aromatizar y dar color a mantequillas, quesos, diversas conservas, mostaza, palomitas de maíz de colores, cereales, sopas, caldos, productos cárnicos y lácteos. ⁽⁵⁶⁾

Debido a sus propiedades cicatrizantes y antioxidantes, la cúrcuma se utiliza en forma de pasta como remedio casero para las quemaduras solares y como ayuda en la remodelación de la piel dañada y envejecida. ⁽⁴⁵⁾ También se puede encontrar en cremas por sus propiedades astringentes, o como aceite esencial aromatizante. ⁽⁶⁰⁾

En la Amazonía peruana, existen distintas preparaciones de esta planta. El rizoma en polvo o triturado en infusión es usado para aliviar problemas digestivos, como un antiinflamatorio y en uso tópico, por su gran capacidad de cicatrización, se realizan tinturas utilizando como disolvente etanol al 70%. ⁽⁶¹⁾

La curcumina, constituyente activo de la *C. longa*, tiene una poderosa acción antimicrobiana, inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas, virus y hongos (incluyendo *Cándida albicans*, *Cándida kruseii* y *Cándida parasilosis*). Además, la curcumina tiene una función primordial en la protección gastrointestinal: se ha visto que

inhibe la activación de varios factores de transcripción que juegan un papel clave en la inflamación de los intestinos, como son el factor nuclear Kappa- β (NF-k β) o las β -catequinas. Ha sido utilizada desde tiempos ancestrales frente a gastritis o acidez ya que ayuda a aumentar la producción de mucosa y protege las paredes del estómago. También estimula el flujo biliar hacia el intestino, lo cual mejora la digestión de las grasas de la dieta. ⁽⁶¹⁾

En la actualidad esta planta es empleada para ayudar a la función hepática y para tratar la ictericia. La cúrcuma aumenta el contenido de glutatión y su actividad glutatión – s – transferasa en el hígado. Estas sustancias son protectores clave frente a los efectos dañinos de las toxinas y los radicales libres. El principal constituyente activo de la *C. longa*, la curcumina, es un poderoso antioxidante que influye sobre la expresión de las enzimas glutatión-sintasa (GTS) y el citocromo P450 oxidasa (CYP-450), capaces de neutralizar las especies reactivas de oxígeno. También, la curcumina es capaz de aliviar problemas inflamatorios relacionados con esclerosis múltiple, artritis reumatoide y psoriasis al modular la señal de las citoquinas, un tipo de moléculas proinflamatorias. Esta capacidad antiinflamatoria en parte es debida a su capacidad de inhibir la síntesis de prostaglandinas inflamatorias. La curcumina también posee efectos anticancerígenos, es capaz de reducir el crecimiento de tumores y modular los problemas secundarios asociados al cáncer como fatiga, depresión o insomnio. Se ha demostrado también que la curcumina puede prevenir la acumulación de placas beta-amiloide, que se correlaciona con la enfermedad de Alzheimer. Otra capacidad de la curcumina es reducir el estrés, mejorar la irritabilidad y la ansiedad, modular la depresión y los mecanismos de neurotransmisión modificando la señal celular. ⁽⁶²⁾

Formas de uso de la *C. longa* ⁽⁶³⁾

- **Malaria o Paludismo:** Se ralla 1 kg de rizomas, se exprime el jugo en un recipiente, se deja serenar durante la noche. Tomar dos cucharadas mañana y tarde durante 15 días.
- **Hepatitis o complicaciones hepáticas:** El cocimiento de los rizomas se toma como agua de tiempo. También se puede rallar, exprimir y tomar el jugo del tubérculo.

- **Abscesos (Chupos):** Además de la decocción, puede aplicar un emplasto del rizoma rallado o en polvo mezclado con harina.
- **Reumatismo y herpes (riwi):** Aplicar los rizomas rallados en forma de emplastos.

1.5 SINERGISMO

De acuerdo con *Eid et al.*, el término sinergia proviene de la palabra griega *segos*, que significa *trabajar en conjunto*.⁽⁶⁴⁾

Farmacológicamente, existe sinergismo cuando el efecto de dos drogas usadas en forma combinada es mayor que la suma de las respuestas causadas por cada una de ellas. Es habitual el uso clínico de dos drogas para obtener sinergismo.⁽⁶⁵⁾

1.5.1 Sinergia en combinaciones de extractos vegetales

Generalmente, los estudios biológicos y fitoquímicos de plantas medicinales se reportan en forma individual, pero muy poco sobre sus mezclas. Además, se sabe que los curanderos folclóricos utilizan muchas recetas y formulaciones basadas en mezclas de extractos de plantas medicinales, como remedios efectivos para curar o aliviar una determinada enfermedad, lo que conlleva a imaginar las innumerables mezclas que se pueden investigar.^(70,71)

La mezcla de extractos de plantas medicinales es usada para curar males, debido a que los efectos medicinales son mayores que cuando se usa el extracto de la planta individual. La explicación de este incremento en el potencial del efecto medicinal se ha sustentado en el sinergismo de los metabolitos secundarios presentes (*Nascimento y otros, 2000; Arnason y otros, 2004; Elmanama y otros, 2011*).⁽⁷¹⁾

Se considera que los compuestos se complementan entre sí para dar una potencia mayor a la suma de cada uno de los componentes de las mezclas de plantas medicinales. Sin embargo, no debe descartarse la posibilidad de la formación de un nuevo componente responsable de tal efecto, como consecuencia de las condiciones en que se preparan las mezclas (calentamiento en baño María por cierto tiempo) y la estructura lábil de algunos componentes.⁽⁷¹⁾

Un ejemplo clásico es el fitoterápico Iberogast, que consiste en una combinación fija de extractos de nueve especies medicinales: *Iberis amara* L. (Brassicaceae), *Angelica archangelica* L. (Apiaceae), *Matricaria recutita* L. (Asteraceae), *Carum carvi* L. (Apiaceae), *Silybum marianum* (Asteraceae), *Chelidonium majus* L (Papaveraceae), *Glycyrrhiza glabra* L (Fabaceae), *Melissa officinalis* L (Lamiaceae), *Mentha piperita* L (Lamiaceae), para el tratamiento de trastornos gastrointestinales. Se cree que estos efectos se derivan de la acción sinérgica de múltiples componentes sobre diferentes blancos. Se identificaron en esos extractos 350 sustancias, entre las cuales 200 presentan actividad farmacológica conocida. Las principales clases de metabolitos secundarios presentes son terpenos, cumarinas, flavonoides y ácidos fenólicos. Estas sustancias contribuyen, presumiblemente, a la acción de Iberogast® por tres mecanismos: modulación de la motilidad intestinal, acción antiinflamatoria y actividad antioxidante. (68)

Otro estudio realizado en China, donde observaron que las raíces de las especies medicinales *Astragalus membranaceus* (Fabaceae) y *Rehmannia glutinosa* (Scrophulariaceae), conocidas como *Astragali Radix* y *Rehmanniae Radix*, constituyentes de una preparación de la medicina tradicional china para la cicatrización de las heridas, no presentan actividad cicatrizante *in vivo* cuando se administran por separado, pero son activas cuando se combinan. (68)

1.6. BACTERIAS.

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. La mayoría son de vida libre, a excepción de algunas que son de vida intracelular obligada (Chlamydias y Rickettsias). Tiene los mecanismos productores de energía y el material genético necesarios para su desarrollo y crecimiento. ⁽⁷²⁾

Las bacterias integran el reino procariota (pro de primitivo y cariota de núcleo). El tamaño de las bacterias oscila entre 0.5 y 3 μm , pudiendo llegar en algunos tipos a 10 μm y básicamente, se diferencian según su forma en cocos (esféricas u ovaladas), bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos) y espirilos (espiral). ⁽⁷²⁾

Aunque el efecto protector del sistema inmune hace que la gran mayoría de las bacterias sea inofensiva o hasta beneficiosa para el organismo humano, existen bacterias patógenas con la capacidad de producir infecciones mortales tanto en comunidad, como nosocomiales. ⁽⁷³⁾

DESCRIPCION DE MICROORGANISMOS EN ESTUDIO

1.7 *Staphylococcus aureus*

1.7.1 Taxonomía: ⁽⁷⁴⁾

Reino	:	Bacteria
Filo	:	Firmicutes
Clase	:	Bacilli
Orden	:	Bacillales
Familia	:	Staphylococcaceae
Género	:	Staphylococcus
Especie	:	<i>Staphylococcus aureus</i> .

1.7.2 Caracterización morfológica y bioquímica

Colonias opacas, circulares, lisas y enteras, su consistencia es mantecosa, Gram positivas; crece en TSA o Agar nutritivo, en Agar sangre desarrollan colonias de 2-3 μm de diámetro en 24 horas; no forman esporas, sus diámetros varían entre 0,7 y 1,2 μm , crecen en cultivos con altas concentraciones de cloruro de sodio y bilis. *S. aureus* es un coco inmóvil, capaz de presentarse aislado, en pares, en cadenas cortas o en racimos irregulares, siendo la última disposición la más característica, redondas, convexas, cuando están bien aisladas tienen 1 a 3 mm de diámetro y de color amarillo dorado debido a un pigmento compuesto de dos carotenoides, d-caroteno y sarcinaxantina. ⁽⁷⁵⁾

Su forma de obtener energía es a través de la respiración y la fermentación; tal es así, que para su identificación se realizan ensayos característicos para cada grupo, estos son: coagulasa positiva, fermentación de glucosa positiva, fermentación de manitol positivo, fosfatasa positiva, endonucleasas resistentes al calor positivo. Sus requerimientos de cultivo no son exigentes desde el punto de vista nutricional, creciendo en medios pobres y simples. En relación con el oxígeno son aerobios – anaerobios facultativos. ^(76, 77)

La pared celular está compuesta por una gruesa capa de peptidoglicano. Se trata de un polímero polisacárido compuesto por cadenas con uniones de tipo β (1-4) no ramificadas, que contienen subunidades alternantes de ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamina. El polímero polisacárido básico se halla también en muchos otros microorganismos, mientras la cadena de unión cruzada de pentaglicina parece ser específica de *S. aureus*. Las cadenas laterales de pentapéptidos se hallan conectadas al residuo de ácido murámico y tienen unión cruzada por un puente pentaglicina fijado a la L-lisina de una cadena y la Dalanina de la otra cadena. Tiene como función mantener la rigidez de la pared bacteriana y su resistencia osmótica. El otro componente mayor de la pared son los ácidos teicoicos, que constituyen alrededor del 40% del peso de la pared. Estos ácidos son polímeros de glicerol o ribitol fosfato, azúcares y algunas veces, D-alanina. Están unidos en forma covalente al peptidoglicano. Cuando están unidos a la membrana citoplasmática se les llama ácidos lipoteicoicos. El *S. aureus* posee predominantemente ácidos de ribitol fosfato. ^(78, 79, 80)

La pared celular de *S. aureus* posee una proteína característica llamada proteína A. Esta tiene la habilidad de unirse a la porción Fc de las moléculas de inmunoglobulina G (IgG), y por tanto funciona como factor de virulencia, ya que interfiere con la opsonización y la ingestión de los microorganismos por los PMN (Leucocitos Polimorfonucleares), activando el complemento y dando lugar a reacciones de hipersensibilidad inmediata y tardía. Esta proteína es inmunogénica y se hallan anticuerpos contra ella en sujetos con infecciones graves por *S. aureus*. La presencia de cápsula es variable, pero es importante a nivel patogénico, ya que tiene propiedades antifagocíticas. ^(79, 80)

1.7.3 Factores de virulencia

S. aureus produce una gran variedad de proteínas que contribuyen a su capacidad para colonizar y causar enfermedades en el ser humano, dentro de estas, hay cuatro hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta), nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y colagenasa, su función principal es ayudar a degradar los tejidos locales del huésped para convertirlos en nutrientes para las bacterias. ⁽⁸¹⁾

Los factores de virulencia de *S. aureus* participan en la adhesión y adquisición de nutrientes para el microorganismo y sirven también para evadir la respuesta inmune del huésped. En base a esto, los factores se han clasificado en tres categorías: 1) los involucrados en la adherencia a la célula huésped o matriz extracelular, como las proteínas de unión a fibrinógeno, fibronectina, colágeno y coagulasa; 2) aquellos que están involucrados en la evasión de las defensas del huésped, como las enterotoxinas estafilocócicas; la TSST-1, la leucocidina de Panton-Valentine (PVL), proteína A, lipasas, y polisacáridos capsulares; 3) los involucrados en la invasión de la célula huésped y penetración de los tejidos, como la toxina α , hemolisinas β , γ y δ . ⁽⁷⁴⁾

Entre los más importantes se encuentran: 1) Coagulasa producida por *S. aureus* unida a la pared celular se une a la protrombina, este complejo trasforma el fibrinógeno en fibrina insoluble y esto provoca su aglomeración, se lo utiliza como marcador de la virulencia y permite diferenciar a *S. aureus* (coagulasa positivo) de otras especies estafilocócicas (coagulasa negativas); 2) Hemolisinas son proteínas, de las cuales hemolisina α es termolábil, pero produce lisis de eritrocitos y toxicidad para otras líneas celulares; bloquea la repolarización de la membrana plasmática, por lo cual genera contracción de la

musculatura lisa y vasoconstricción, hemolisina β tiene actividad de fosfolipasa, la cual es específica para la esfingomielina y liso-fosfatidilcolina. La diferencia en la susceptibilidad de los eritrocitos a la hemolisina β se debe al diferente contenido de esfingomielina en los eritrocitos. La hemolisina γ afecta a neutrófilos, macrófagos y a una gran variedad de eritrocitos de mamíferos; 3) Leucocidina, proteína que ayuda al microorganismo a sobrevivir dentro de los fagosomas leucocitarios; 4) Hialuronidasa, enzima que degrada el tejido conectivo, permitiendo el avance del microorganismo hacia zonas más profundas. 5) Estafiloquinasa, enzima que disuelve los coágulos de fibrina; 6) Lipasas, enzima que degradan los ácidos grasos presentes en los tejidos cutáneos sanos; 7) Toxina exfoliativa, genera la separación del tejido intraepidérmico, produciendo el síndrome de la piel escaldada. ⁽⁷⁴⁾

Estructurales	Enzimas	Toxinas
Peptidoglucano	Catalasa	Toxina α (Hemolisina α)
Proteína A	hialuronidasa	Hemolisina β
Factores de adhesión	Lipasas	Hemolisina γ
Ácidos teicoicos	Coagulasa	Hemolisina δ
Polisacáridos capsulares	Nucleasas Proteasas Estafilocinasa Colagenasa	Leucocidina de Pantone-Valentine (PVL) Enterotoxinas estafilocócicas(SE) Toxina 1 del síndrome del shock tóxico Toxinas exfoliativas (ETAyETB)

1.7.4 Aspectos epidemiológicos y patogénicos

Forma parte de la flora normal del ser humano. El sitio más frecuente de colonización es la zona anterior de las vías nasales, aunque también puede colonizar la piel (en particular si está lesionada), la vagina, las axilas, el perineo y la bucofaringe. La frecuencia de colonización es mayor en pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos (los diabéticos insulino-dependientes, pacientes infectados por el VIH, los usuarios de drogas

inyectables, los pacientes sometidos a hemodiálisis y los individuos con lesiones cutáneas). Los sitios de colonización actúan como reservorios de cepas para futuras infecciones por *S. aureus* y las personas colonizadas están expuestas a un mayor riesgo de nuevas infecciones (por la especie colonizadora) que las no colonizadas. Entre las principales patologías causadas por este microorganismo están la neumonía estafilocócica, sialadenitis, sepsis con o sin metástasis (osteítis, artritis, endocarditis, abscesos localizados), enfermedades por toxinas (síndrome de piel escaldada por estafilococo, síndrome del shock tóxico y gastroenteritis estafilocócica), infecciones pleuropulmonares y genitourinarias. ^(81, 82)

En general, *S. aureus* es una causa importante de infecciones nosocomiales. Es la causa más frecuente de infección en las incisiones quirúrgicas y ocupa el segundo lugar, como causa de bacteriemia primaria. Produce infecciones de dos maneras: ^(78, 83)

- **En forma directa, por invasión:** Este tipo de infecciones puede estar producido tanto por cepas de *S. aureus* residentes como no residentes. El primer paso de la infección es la adherencia y colonización de las células del huésped. Se describen tres tipos de adherencia. Por un lado, la adherencia a las células de la mucosa nasal mediada por los ácidos teicoicos y también es importante la adherencia a la mucina de la mucosa nasofaríngea. Por otro, la adherencia a piel traumatizada o pequeñas disrupciones de piel, así como también a objetos extraños y estructuras subendoteliales. Esta adherencia envuelve muchas proteínas de la matriz extracelular como fibronectina, fibrinógeno, elastina, colágeno y otras. Estas proteínas interaccionan con diferentes receptores de *S. aureus*. Por último, la adherencia de *S. aureus* a las células endoteliales durante los eventos de sepsis es un proceso complejo donde están involucradas la fibronectina, el fibrinógeno y la laminina. ^(78, 83)

Una vez los microorganismos atravesaron la barrera cutaneomucosa, llegan al tejido subcutáneo o submucoso y se diseminan rápidamente, a este nivel se desencadena la respuesta inflamatoria del huésped que contribuye a la formación de los abscesos. Algunas veces el germen puede seguir invadiendo, buscando áreas más profundas y avasculares. Una vez se encuentran alrededor o dentro de los huesos, o protegidos dentro de coágulos, los microorganismos se hacen

bastante resistentes al ataque y erradicación por los mecanismos defensivos del huésped. ^(78, 83)

Sólo la mayor intensidad de los factores bacterianos junto al fracaso de los mecanismos defensivos del huésped puede llevar a que las bacterias puedan llegar a la corriente sanguínea, diseminarse y producir focos de infección a distancia llamados abscesos metastásicos. Además de infecciones de piel y partes blandas, *S. aureus* puede producir infecciones invasivas como neumonía, osteomielitis, bursitis, artritis y otras. ^(78, 83)

- **Por acción de toxinas:** Causadas por la liberación al medio de sustancias tóxicas, que pueden ejercer su acción a cierta distancia del foco infeccioso. ^(78, 83)
 - ***Síndrome de piel escaldada:*** se debe a la producción de la toxina exfoliativa en un foco, que luego pasa al torrente sanguíneo, pudiendo diseminarse hasta regiones alejadas del foco donde no es posible aislar ningún germen. Esta toxina produce la formación de ampollas y la subsiguiente descamación de láminas epidérmicas, que puede estar localizada en una región o estar diseminada por todo el cuerpo. ^(78, 83)
 - ***Síndrome del shock tóxico:*** es un cuadro grave asociado a la utilización de tampones vaginales por parte de mujeres jóvenes. El microorganismo prolifera en el tampón contaminado y produce la toxina del shock tóxico. El cuadro clínico está caracterizado por fiebre, hipotensión, exantema cutáneo en manos y pies, grados variables de vómitos, diarrea, falla renal, cefalea y conjuntivitis. Evoluciona al shock grave en 48 horas. También se asocia a heridas traumáticas o quirúrgicas. ^(78, 83)
 - ***Intoxicaciones alimentarias:*** se producen por la contaminación de alimentos, que suelen ser de elevado contenido en proteínas e hidratos de carbono como pasteles, helados y salsas, y con pH superior a 5, que permitirán un rápido crecimiento bacteriano. La mala refrigeración y conservación hacen que el microorganismo prolifere, y si es una cepa productora de enterotoxina termoestable, la libera en cantidad suficiente como para producir intoxicación. El tiempo de incubación es corto (1 a 6 horas) y los síntomas son vómitos y diarrea de hasta 2 días de duración, en general sin fiebre, siendo normalmente de rápida recuperación. ^(78, 83)

1.7.5 Aislamiento.

S. aureus es de más fácil cultivo *in-vitro* en agar o caldo nutritivo, desarrollándose en un rango de temperatura entre 12 y 46°C en aerobiosis o anaerobiosis, en caldo su crecimiento se traduce en un enturbiamiento homogéneo después de 24 horas, apareciendo a menudo en la superficie un collar a lo largo de la pared del tubo o incluso una película, un “velo”, en medio líquido no se observa pigmento, es posible hallar colonias mucoides, de contornos netos y de superficie lisa y brillante, de 1-2 mm de diámetro; casi todas las cepas de *S. aureus* muestran rápida hemólisis, pero algunas no la producen o esta es débil. ⁽⁷⁷⁾

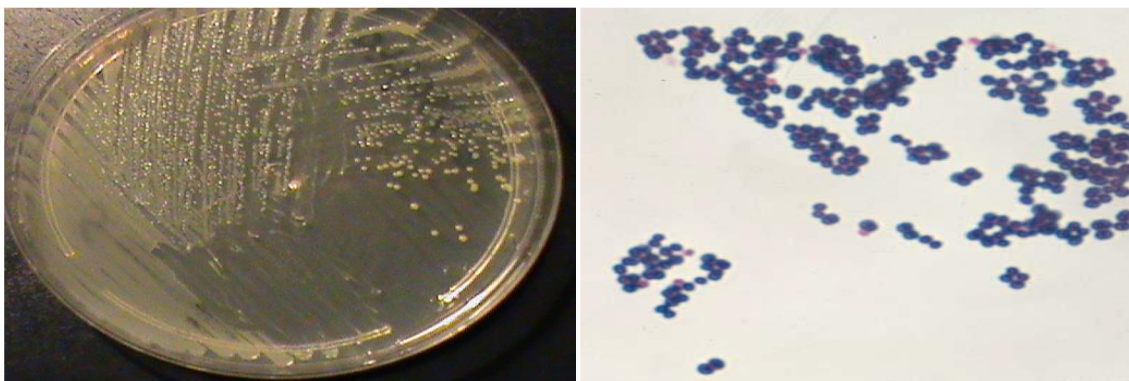


Figura 3. Morfología macroscópica y microscópica de *Staphylococcus aureus*

Fuente: <http://www.compendiomicrobiologia.wordpress.com>

1.7.6 Síndromes clínicos:

- **Infecciones de piel y partes blandas:** Se caracterizan por la formación de vesículas pustulosas que suelen comenzar en los folículos pilosos y se propagan a los tejidos vecinos. La foliculitis es la inflamación aguda de causa infecciosa del sector distal (más superficial) del folículo piloso y de las glándulas apócrinas asociadas. Las lesiones son de tipo papular con un punto central sobreelevado y purulento. Los forúnculos son lesiones más extensas y dolorosas que comprometen la grasa subcutánea y la glándula sebácea asociada. Se manifiesta como un nódulo rojo y doloroso, que luego se hace fluctuante y purulento. Otras infecciones cutáneas por *S. aureus* son el impétigo, la celulitis y la hidradenitis supurada (infecciones foliculares repetitivas en regiones como la axila). ^(84, 85, 86)

- **Infecciones de tejidos músculo esqueléticos:** En los niños, la osteomielitis hematógena afecta muy a menudo a los huesos largos. El cuadro inicial incluye fiebre y dolor óseo o aversión del pequeño a soportar pesos. En los adultos, uno de los cuadros clínicos iniciales más comunes es la osteomielitis vertebral. Este trastorno suele observarse en personas con endocarditis, en las sometidas a hemodiálisis, en los diabéticos y en los adictos a drogas inyectables. Las infecciones de las vértebras pueden debutar con dorsalgia y fiebre intensas. El *S. aureus* es la causa más frecuente de artritis séptica en los niños. La piomiositis es una infección poco común de los músculos de fibra estriada. El cuadro inicial incluye fiebre, hinchazón y dolor sobre el músculo afectado. La aspiración de líquido del tejido lesionado indica la presencia de pus, que contiene innumerables leucocitos y bacterias grampositivas en cúmulos. ⁽⁸⁴⁾
- **Infecciones de vías respiratorias:** Las infecciones de vías respiratorias por *S. aureus* suelen surgir después de cuadros víricos o por efecto de émbolos pulmonares sépticos, son graves en neonatos y lactantes. La influenza es la causa más común del primer tipo de cuadro inicial. Las manifestaciones iniciales son la fiebre, la generación de esputo sanguinolento y la presencia de neumatoceles en 50% de los campos pulmonares o de múltiples infiltrados pulmonares irregulares. El neumotórax y el empiema son complicaciones conocidas de este tipo de infección. ⁽⁸⁴⁾
- **Bacteriemia, sepsis y endocarditis infecciosa:** La bacteriemia por *S. aureus* se considera y se maneja como una infección del torrente sanguíneo por el alto riesgo de metástasis infecciosas. La endocarditis infecciosa es la complicación más común. Otras de las complicaciones incluyen infección metastásica (aparición de acumulaciones de pus o supuración en tejidos), como osteomielitis, abscesos profundos, sepsis grave y muerte. Entre los tejidos afectados con mayor frecuencia están los huesos, válvulas cardíacas, las articulaciones, los riñones y los pulmones. El cuadro inicial de la sepsis comienza con alcalosis respiratoria y manifestaciones clínicas como hipotensión y fiebre. El cuadro clínico de la endocarditis, al comienzo de la enfermedad, puede mostrar solo fiebre, sin signos cardiovasculares, pero puede complicarse a insuficiencia valvular cardíaca, los

émbolos periféricos, la siembra metastásica y la afección del sistema nervioso central. ^(84, 87, 88)

- **Infecciones de vías urinarias:** A diferencia de muchos otros patógenos en esas vías, la presencia de *S. aureus* en la orina sugiere diseminación hematógena. Las infecciones ascendentes por ese microorganismo suelen ser consecuencia de la manipulación instrumental de las vías genitourinarias. ⁽⁸⁴⁾
- **Intoxicación alimentaria:** La enfermedad comienza en forma rápida, y sus manifestaciones surgen en el plazo de 1 a 6 h después de la ingestión del alimento contaminado. El cuadro se caracteriza por náusea y vómito, aunque también pueden surgir diarrea, hipotensión y deshidratación. ⁽⁸⁴⁾

1.8 *Escherichia coli*

1.8.1 Taxonomía: ⁽⁸⁹⁾

Reino	:	Bacteria
Filo	:	Proteobacteria
Clase	:	Gammaproteobacteria
Orden	:	Enterobacteriales
Familia	:	Enterobacteriaceae
Género	:	<i>Escherichia</i>
Especie	:	<i>Escherichia coli</i> .

1.8.2 Caracterización morfológica y bioquímica

E. coli pertenece un grupo conformado de bacterias formado por bacilos rectos Gram negativas, generalmente flagelados peritricos móviles, pueden multiplicarse tanto en condiciones aerobias como anaerobias (anaerobio facultativo) son capaces de emplear como fuente de carbono y energía azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos que le da la capacidad de fermentar glucosa y lactosa. Son fácilmente cultivables en medios nutritivos sencillos, las cepas de estructura antigénica suelen ser más bien tóxicas y resistentes a la fagocitosis, sus colonias suelen tener un aspecto mucoso. Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se le considera un microorganismo indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos. ^(89, 90)

Para la identificación de *E. coli* se realizan ensayos característicos para cada grupo, estos son: Catabolizan glucosa, lactosa y otros azúcares, mientras que no pueden utilizar urea ni citratos. indol positivo, voges-proskauer negativo, sulfuro de hidrogeno negativo, motilidad positiva. ⁽⁹¹⁾

Como todas las bacterias Gram negativas, la cubierta de *E. coli* consta de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptido-glucano. Esta última estructura confiere a la bacteria su forma y rigidez, y le permite resistir presiones osmóticas ambientales relativamente elevadas. ⁽⁹²⁾

1.8.3 Factores de virulencia

La *E. coli* produce distintos tipos enfermedades intestinales y extraintestinales debido a la adquisición de genes que codifican la expresión de múltiples factores de virulencia incluyendo adhesinas, toxinas, sideroforos y sistemas de secreción, entre otros. Esos factores contribuyen al aumento de eficacia en la colonización de superficies específicas del hospedador, evasión de las defensas inmunológicas, o daño directo a sus células y tejidos lo que resulta en el establecimiento de la enfermedad. ^(93, 94)

Entre las cepas de *E. coli* patógenas extraintestinales (ExPEC) están incluidas las cepas de *E. coli* asociadas a meningitis (MAEC) y las uropatogenas (UPEC). Esas cepas comparten muchos factores de virulencia, además algunos clones pueden causar ambos tipos de infección. Las cepas ExPEC que son caracterizadas por la diversidad de factores de virulencia que poseen, pueden causar infecciones en una diversidad de sitios extraintestinales, tales como el tracto urinario, corriente sanguínea, meninges, cavidad peritoneal y pulmones. ^(95,96)

El principal factor de virulencia de las cepas uropatogenas de *E. coli* es la fimbria P que permite a la bacteria fijarse a los receptores celulares y colonizar el epitelio urinario. Este tipo de cepa está presente en pacientes con pielonefritis y urosepsis. Otra adhesina importante es la fimbria S que se ha asociado especialmente con cepas asociadas a meningitis (MAEC), causantes de septicemias y meningitis. ⁽⁹³⁾

Los factores de virulencia que son exportados desempeñan varios papeles biológicos en la etiología de las infecciones por UPEC. Sus actividades incluyen el aumento en la disponibilidad y captación de hierro (α -hemosilina, y sideróforos), invasión celular por medio de la lisis y ruptura de la capa de mucina y del epitelio, así como la modulación e inducción del ciclo celular (toxina secretada autotransportadora), reacciones inflamatorias y apoptosis (Factor citotóxico necrotizantes 1; CNF1 y citolisina A). ^(93, 95.)

Tabla 2. Patotipos Extraintestinales de <i>Escherichia coli</i>		
Patotipo, Modo de acción	Principales factores de virulencia	Serotipos más frecuentes
<p>UPEC <i>Escherichia coli</i> uropatógenicas.</p> <p>Coloniza la mucosa uretral, asciende desde la uretra hasta vejiga, ataca e invade las células epiteliales, y puede ascender hasta el riñón.</p> <p>Cistitis y pielonefritis</p>	<p>Adhesinas (typ 1, F1C, S, M, Dr)</p> <p>Fimbria P (Pap)</p> <p>Factor necrotizante citotóxico (CNF-1)</p> <p>Hemolisina A (Hly A)</p> <p>Proteasa autotransportadora (Sat)</p>	<p>O1:H7, O4:H5; O4:H1; O6:H1; O16:H6; O18ac:HNM</p>
<p>MAEC <i>Escherichia coli</i> de causantes de meningitis/septicemias</p> <p>Se dispersa hematógicamente, utilizando la sangre como medio de transporte para alcanzar el SNC y no causar daño en la barrera hematoencefálica.</p> <p>Meningitis neonatal y Septicemias.</p>	<p>Proteínas de membrana externa (OmpA, IbA, IbeB, IbeC, AsIA)</p> <p>Factor necrotizante citotóxico (CNF-1)</p> <p>Antígeno capsular K1</p>	<p>O18ac:H7; O7:H1; O2:H6; O16:H16; O83:H4; O6:H1</p>

Fuente: Smith J.L., Fratamico P.M., Gunther N.W. *Patogenos extraintestinales Escherichia coli*.2007.

Entre los patógenos intestinales hay seis categorías de *E. coli* bien descritas: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* con adherencia difusa (DAEC).⁽⁹⁵⁾

E. coli enteropatógena (EPEC) es el patotipo más asociado a diarrea en lactantes y niños menores de dos años y algunas veces se asocia a vómito y fiebre. Causa frecuentemente brotes epidémicos en lugares cerrados como guarderías y hospitales. La enfermedad

puede ser moderada a grave y se asocia a alta mortalidad (10 – 40%). El principal factor de virulencia que portan cepas EPEC se encuentra la adherencia a células intestinales; dicha adherencia está codificada en un plásmido de 50 - 70 mDa, llamado factor adherente EPEC (EAF), produciendo cambios en el citoesqueleto de la célula del hospedero, con proliferación de filamentos de actina por debajo del sitio de pegamiento de las bacterias, se dañan las microvellosidades y estas pierden su función. ^(97, 98)

E. coli enterohemorrágica (EHEC), se relaciona con brotes causados por alimentos en países desarrollados. Están implicados más de 400 serotipos, siendo clínicamente el más importante, el serotipo O157:H7. Son las causantes de dolor abdominal, diarrea sanguinolenta y poca fiebre. Es el principal agente etiológico asociado a colitis hemorrágica y al síndrome hemolítico urémico (SHU), caracterizado por daño renal, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia, en los casos más graves. La colitis hemorrágica esta mediada por las toxinas Stx, la que puede progresar a colitis gangrenosa, perforaciones del intestino, peritonitis o sepsis. Los principales factores de virulencia de esta cepa son mediante la segregación de citotoxinas (Stx1 y Stx2, también son llamados verotoxinas o toxinas semejantes a shiga). Otra propiedad virulenta en este grupo de microorganismos es la lesión celular “Adhesión y borrado” (A/E), capaces de adherirse a las células epiteliales (La interacción está mediada por la unión de la intimina con su receptor tir y a la nucleolina), borrar el microvello intestinal, provocando la condensación de la actina del citoesqueleto lo que ocasiona la aparición de un pedestal en forma de copa sobre el que descansa la bacteria. ^(97, 98)

E. coli enterotoxigenica (ETEC), es uno de los agentes más frecuentemente identificados en diarrea aguda. Se conoce como diarrea del viajero y tiene amplia distribución en países en vías de desarrollo. Es asintomática, en algunos casos la diarrea por ETEC puede ser leve, sin presencia de moco o sangre; en otros casos puede ser profusa causando deshidratación grave. Los factores de virulencia que posee esta cepa, es la de adhesión, mediante los factores de colonización (CFs) y la segregación de enterotoxinas termoestables (ST) y enterotoxinas termolábiles (LT). ^(97, 98)

E. coli enteroagregativa (EAEC), Causa diarrea aguda o persistente, tanto en niños como en adultos, se identifica con frecuencia en cuadros diarreicos de personas de países industrializados y en pacientes infectados por VIH. Se adhiere a la mucosa intestinal, la coloniza y produce un efecto citotóxico que causa diarrea de tipo acuosa sin fiebre, con

secreción de moco. Esta cepa presenta plásmidos pAA, que codifican varios factores de virulencia, en los que se incluye un regulador AggR. Algunos genes regulados por AggR son los factores necesarios para la adhesión a células epiteliales HEP-2 y HeLa con una apariencia de “ladrillos apilados” (A/A: Adherencia de tipo agregativo) que implica las fimbrias AAF. ^(97, 98)

E. coli enteroinvasiva (EIEC), causa diarrea acuosa, con sangre, moco y dolor abdominal. Las cepas de EIEC se transmiten de persona a persona, por ingestión de alimentos y agua contaminada. En los individuos infectados, *E. coli* enteroinvasiva evade la respuesta inmune por que entra fácilmente a las células epiteliales del colon por medio de adhesinas, moviéndose lateralmente para invadir otras células. Posee un plásmido de virulencia (pINV) que codifica para el T3SS (sistema de secreción tipo 3, mediante el cual diversas proteínas efectoras ingresan al enterocito), 25 proteínas y los antígenos de invasión de plásmidos (Ipa A, Ipa B, Ipa C, entre otros). ⁽⁹⁷⁾

E. coli con adherencia difusa (DAEC), Estas cepas se han asociado más a procesos diarreicos de tipo agudo y persistente. Los adultos, al igual que los niños, pueden ser portadores asintomáticos. Los principales factores de virulencia de esta cepa son mediante la adherencia difusa (células HEP-2) y la expresión de adhesinas afimbrales (Afa) y adhesinas fimbrales (Dr), que se encuentran en la superficie de la membrana externa de la bacteria. ⁽⁹⁷⁾

Tabla 3. Patotipos Intestinales de *Escherichia coli*

Patotipo, Modo de acción	Principales factores de virulencia	Serotipos más frecuentes
<p>EPEC <i>Escherichia coli</i> enteropatogénica Se adhiere a los enterocitos del intestino delgado, destruye las microvellosidades, produce lesiones de “adherencia y borramiento” (A/E, de sus siglas en inglés), respuesta inflamatoria, se incrementa la permeabilidad intestinal, secreción activa de iones.</p> <p>Diarrea acuosa sanguinolenta.</p>	<p><u>Isla de patogenicidad Locus de eliminación del enterocito (LEE)</u> -Sistema de secreción tipo III, intimina (adhesina bacteriana), Tir (Receptor de la intimina), EspA, EspB, EspD, EspF (proteínas translocadoras y efectoras). <u>Plásmido Factor de adherencia de EPEC (EAF) de 50-70 MDa</u> -Pili formadores de penachos (BFP) No produce toxinas Adherencia localizada (células HEp-2) Las cepas EPEC atípicas carecen del plásmido EAF</p>	<p>O55:H6,HNM; O86:H34,HNM; O111:H2,H12,HNM; O119:H6,HNM; O125ac:H21; O126:H27,HNM; O128:H2,H12; O142:H6</p>
<p>ETEC <i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica Se adhiere a los enterocitos del intestino delgado, secreta enterotoxinas, AMPc, GMPc, estimulación de la secreción de cloro e inhibición de la absorción de sodio.</p> <p>Diarrea acuosa .</p>	<p>Factores de colonización (CFA) Enterotoxinas -Toxina termolábil (LT) -Toxina termoestable (ST)</p>	<p>O6:H16; O8:H9; O11:H27; O15:H11; O20:HHNM; O25:H42,HNM; O27: H7; O78:H11,H12; O128:H7; O148:H28; O149:H10; O159:H20; O173:HNM.</p>

<p>EHEC <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica</p> <p>Se adhiere a los enterocitos del intestino grueso, destruye las microvellosidades, produce lesiones de “adherencia y borramiento”, causa apoptosis, muerte celular y respuesta inflamatoria.</p> <p>Diarrea acuosa sanguinolenta</p>	<p><u>Isla de patogenicidad Locus de eliminación del enterocito (LEE)</u></p> <p>- Sistema de secreción tipo III, intimina, Tir, EspA, EspB, EspD, EspF.</p> <p><u>Plásmido pO157</u></p> <p>-Enterohemolisina (Hly-EHEC)</p> <p>-Serin proteasa (EspP)</p> <p><u>Citotoxinas STX1 y STX2</u></p>	<p>O26:H11, H32,HNM; O55:H7; O111ab:H8,HNM; O113:H21; O117:H14; O157:H7</p>
<p>EIEC <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva</p> <p>Invade las células epiteliales del colon, lisa los fagosomas, se multiplica, se mueve a través de las células, migra a las células adyacentes, y causa colitis invasiva inflamatoria.</p> <p>Diarrea acuosa sanguinolenta</p>	<p>Invasividad</p> <p>Plásmido de invasión (pINV) del cual es parte el gen <i>ial</i></p> <p>-IpA, IpB, IpC, IpD (Proteínas que participan en la invasividad)</p> <p>-IscA</p>	<p>O28ac:HNM; O29:HNM; O112ac:HNM, O124:H30,HNM; O136:HNM; O143:HNM; O144:HNM; O152:HNM; O159:H2, HNM;O164:HNM; O167:H4, H5, HNM</p>

<p>EAEC/EaggEC <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa.</p> <p>Se adhiere al epitelio del intestino delgado y grueso en un biofilm “denso”, causa incremento en la producción de mucus, produce enterotoxinas secretorias y citotoxinas.</p> <p>Diarrea acuosa mucoide (puede ser persistente)</p>	<p>Adherencia agregativa (células HEp-2)</p> <p>Fimbrias de adherencia agregativa (AAFs I y II)</p> <p>Flagelina EAEC</p> <p>Toxinas (Pic, ShET1, EAST, Pet)</p> <p>Proteína de membrana externa (OMP)</p>	<p>O3:H2; O15:H18; O44:H18; O86:HNM; O77:H18; O111:H21; O127:H2;ONT:H10</p>
<p>DAEC <i>Escherichia coli</i> de adherencia difusa</p> <p>Se adhiere e induce efectos citopáticos que hacen que los enterocitos del intestino delgado crezcan alargados, produce proyecciones alrededor de la bacteria similar a dedos.</p>	<p>Adherencia difusa (células HEp-2)</p> <p>Familia de adhesinas manosa resistente (Dr)</p> <p>Adhesina fimbrial F1845</p> <p>Proteína de membrana externa (OMP)</p>	<p>O126:H27</p>

Fuente: **Rodríguez-Angeles G.** Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. 2002.

1.8.4 Aspectos Epidemiológicos y Patogénicos

E. coli es un huésped habitual del tracto intestinal del hombre, de considerable importancia científica, económica y médica. Están incluidas en esta especie cepas no patógenas y otras que son capaces de causar enfermedades entéricas y diversos tipos de infecciones extraintestinales en humanos y animales. Utilizan múltiples mecanismos de patogenicidad que involucran las etapas de adhesión y colonización de la mucosa, evasión de los mecanismos de defensa, multiplicación y daño tisular ^(95,99)

Es el patógeno oportunista más frecuente asociado a infecciones extraintestinales (infecciones urinarias, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, abscesos, mastitis, infecciones pulmonares y de heridas). También pueden producir infecciones entéricas, como diarrea, disentería, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Provocan en los seres humanos un aproximado de 630 millones de casos de diarrea en el mundo y 775.000 muertes al año, afectando fundamentalmente a población infantil. ⁽⁹⁸⁾

1.8.5 Aislamiento.

En caldo simple crece abundantemente enturbiando homogéneamente el líquido formándose en la superficie un anillo, presentando un fuerte olor fecaloideo. Las colonias en agar son circulares de 3 a 5 mm, convexas, de borde continuo o ligeramente ondulado, brillantes, de color blanco o ligeramente amarillento a una temperatura de 37°C y 7 de pH. ⁽⁹¹⁾



Figura 4. Morfología macroscópica y microscópica de *Escherichia coli*

Fuente: Sonia Calle Espinoza. Atlas de bacteriología

1.8.6 Síndromes clínicos.

- **Infecciones Urinarias:** Las infecciones del tracto urinario son las más frecuentes en el hombre, siendo los bacilos gram- negativos el grupo taxonómico más frecuentemente aislado, predominando *E. coli* como agente causal. *E. coli* accede al sistema genitourinario a través del periné desde el tubo digestivo, fundamentalmente en las mujeres por presentar una uretra más corta. La vía urinaria es el origen de la mayoría de las bacteriemias y su posterior diseminación a otros tejidos. En lactantes menores de 3 meses predomina en varones y posteriormente es más frecuente en niñas. En la edad adulta, existe una mayor prevalencia en la mujer coincidiendo con el inicio de las relaciones sexuales. Las infecciones del tracto urinario se dividen en infecciones de vías altas y bajas. Describiéndose cuatro síndromes principalmente: uretritis, cistitis, prostatitis y pielonefritis. ⁽¹⁰⁰⁾
- **Infección Abdominal y pélvica:** Los síndromes clínicos, como peritonitis aguda por contaminación fecal, peritonitis bacteriana espontánea, peritonitis por diálisis, diverticulitis, apendicitis, abscesos intraperitoneales o viscerales, pseudoquistes pancreáticos infectados y colangitis séptica o colecistitis, tiene como agente etiológico al *E. coli*, pudiendo aislarlo solo o acompañado de otros microorganismos. ⁽⁸⁴⁾
- **Enteritis/Diarreas:** La diseminación de las *E. coli* diarregénicas es por contaminación fecal de agua o alimentos. La ETEC y EAEC no solo están no solo están asociados a diarrea en niños, sino que también son los principales agentes etiológicos de la diarrea del viajero. La EAEC es responsable del 10 al 40% de la diarrea aguda y del 40 al 80% de la diarrea persistente en pacientes con VIH. ⁽¹⁰¹⁾
 - **Diarrea por ETEC.** La diarrea se caracteriza por ser acuosa, sin sangre, con dolor abdominal, náuseas, vómitos y escasa fiebre. La enfermedad usualmente se autolimita en 3 a 5 días, pero puede durar más de una semana.
 - **Diarrea por EIEC.** La mayoría de pacientes presentan diarrea acuosa y sólo algunos tienen disentería clásica con deposiciones con sangre, moco, dolor abdominal, pujo, tenesmo, fiebre elevada y toxicidad sistémica.
 - **Diarrea por EPEC.** Produce una diarrea acuosa, sin sangre, acompañada de vómitos y fiebre leve. Por lo general la diarrea es aguda, pero puede ser persistente (> de 14 días) o crónica. La relevancia clínica de la diarrea crónica es mayor en niños de países en vías de desarrollo porque agrava su estado nutricional y ensombrece su pronóstico.
 - **Diarrea por EHEC.** se caracteriza por una diarrea acuosa con intenso dolor abdominal seguida en unos días por deposiciones con rasgos de sangre o colitis

francamente hemorrágica. Típicamente estos pacientes no presentan fiebre. Aproximadamente el 5% a 10% de los niños desarrollan complicaciones sistémicas como síndrome urémico hemolítico (SUH) caracterizado por insuficiencia renal aguda, trombocitopenia y anemia hemolítica.

- **Diarrea por EAEC.** La diarrea es aguda, acuosa, con fiebre leve y vómitos. Algunos pacientes presentan sangre en las heces. La diarrea también puede ser persistente y estar asociada a desnutrición.
- **Diarrea por DAEC.** La excreción asintomática es alta, por lo que es controversial su etiología en diarrea. Sin embargo, en base a estudios realizados en el Brasil, parece estar mayormente asociado a diarrea acuosa aguda en niños mayores de un año. ⁽⁹⁹⁾
- **Sepsis/Meningitis:** El *E. coli* es uno de los agentes etiológicos más frecuentes (16%). En el neonato, la sépsis neonatal y la meningitis son clínicamente indistinguibles ya que se caracterizan por inestabilidad de la temperatura, irritabilidad o letargo, rechazo a la alimentación, vómito, dificultad respiratoria o apnea. Los factores de riesgo para el desarrollo de meningitis son bajo peso al nacer (BPN <2,500 g), parto pretérmino (gestación de menos de 37 semanas), ruptura prematura de membranas (antes del inicio del trabajo de parto o contracciones uterinas regulares), parto séptico o traumático, hipoxia fetal, infección periparto materna, galactosemia y anomalías del tracto urinario. La tasa de mortalidad que ha disminuido desde 50% en la década de los años 70 a 10-15% en la actualidad. ⁽¹⁰²⁾

En adultos, la meningitis por *E. coli* es una rara complicación de la bacteriemia y una entidad de mal pronóstico con una mortalidad que, según distintas series, llega hasta el 38%. Las cepas de *E. coli* que contienen el antígeno capsular K1 son especialmente virulentas, siendo este un elemento crítico en el desarrollo de meningitis. Estudios recientes muestran que *E. coli* K1, pasa de la sangre al sistema nervioso central sin alterar la integridad de la barrera hematoencefálica (BHE). El desarrollo de meningitis por *E. coli* requiere un alto nivel de bacteriemia, la invasión de las células del endotelio microvascular cerebral, la reordenación de este endotelio y de la BHE, además de la presencia de otros antígenos capsulares como OmpA, AslA, TraJ y CNF1, que contribuyen a la invasión del endotelio. ⁽¹⁰²⁾

1.9 *Pseudomonas aeruginosa*.

1.9.1 Taxonomía: ⁽¹⁰³⁾

Reino	:	Bacteria
Filo	:	Proteobacteria
Clase	:	Gamma Proteobacteria
Orden	:	Pseudomonadales
Familia	:	Pseudomonadaceae
Género	:	<i>Pseudomonas</i>
Especie	:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

1.9.2 Caracterización Morfológica y Bioquímica

Es un bacilo Gram negativo, se encuentra en pares o formando cadenas cortas, aeróbico obligado, mide aproximadamente 0,5 a 1 µm de ancho por 3 a 4 µm de largo, posee un solo flagelo, algunas especies pueden tener hasta 2 a 3. Etiológicamente, “*Pseudomonas*” significa “falsa unidad”, del griego “*pseudo*”, que significa “falso”, y “*monas*”, que significa “unidad simple”. El nombre fue usado inicialmente en la historia de la microbiología como sinónimo de gérmenes; *aeruginosa* que significa “el color del cobre oxidado”, reflejando el color azul verdoso característico que presentan las colonias en los cultivos. Producen dos pigmentos de importancia clínica: piocianina (azul) y pioverdina (verde fluorescente), algunas cepas pueden producir además los pigmentos piorrubina (rojo oscuro), piomelanina (negro), crece bien a temperaturas entre 37 a 42 ° C y en diferentes medios de cultivo formando colonias lisas o mucosas de color verde o azul, rojo o negro. La mayoría de las cepas presentan también un olor característico similar a la uva o una fruta madura. ^(103, 104)

En relación a la morfología, la *P. aeruginosa* produce un flagelo polar único, aunque en algunas ocasiones se han aislado con dos o tres flagelos y muchas fimbrias o pili en la superficie celular. Presentan genes para la producción de un polisacárido extracelular (capsula exopolisacarida). Posee además una compleja membrana externa que contiene una gran selección de proteínas (OMP) con funciones esenciales para el crecimiento y metabolismo celular. Esta estructura limita enormemente el paso de nutrientes y otros componentes (como los antimicrobianos). ⁽¹⁰³⁾

1.9.3 Factores de Virulencia

La capacidad para causar una amplia variedad de infecciones de la *P. aeruginosa* es generada por un gran número de factores de virulencia **estructurales** (capsula exopolisacarida, adhesinas, pili, pigmentos difusibles, endotoxinas) que permiten a la bacteria adherirse a la superficie de las células y formar biopelículas, que a su vez, protegen a la bacteria de los antibióticos y del sistema inmune del huésped, **toxigénicos** (exotoxinas A, que provoca destrucción tisular, inhibición proteica, exotoxina S que inhibe la síntesis proteica y exotoxina T, que causa síndrome de sepsis) y **enzimáticos** como la elastasa (enciende las inmunoglobulinas y los componentes del complemento, interrumpe la actividad de los neutrófilos), proteasa alcalina, ramnolipido y fosfolipasa C (destruye la membrana citoplasmática; desnaturaliza la sustancia tensoactiva pulmonar). Estos factores de virulencia bacteriana que contribuyen en el proceso patológico asociado a la infección por *P. aeruginosa* son variados tanto en forma como en función. ⁽¹⁰⁵⁾

El determinante primario del potencial patogénico de los factores de virulencia de la *P. aeruginosa* es el estado de salud del huésped humano. La función inmunitaria innata y adquirida, el lugar de infección y situaciones de comorbilidad, son algunos factores que determinan si un factor de virulencia bacteriana desempeña un papel mayor o menor en la patogenia. ⁽¹⁰⁵⁾

1.9.4 Aspectos Epidemiológicos y Patogénicos

El género *Pseudomonas* es bien conocido por su versatilidad metabólica y plasticidad genética. Es un microorganismo muy ubicuo que se puede encontrar en el suelo, materia orgánica en descomposición, vegetación y agua. Se encuentran también en el ambiente hospitalario en reservorios húmedos como en los equipos de terapia respiratoria, en los equipos de diálisis, alimentos e incluso en las soluciones desinfectantes. La amplia distribución ambiental de esta bacteria esta favorecida por sus escasos requerimientos nutricionales para su desarrollo, incluso con capacidad de crecer en el agua destilada, ya que es capaz de utilizar muchos compuestos orgánicos como fuentes de carbono y de nitrógeno. Por tanto, tienen capacidad de crecer prácticamente en cualquier medio y de resistir la mayoría de los antimicrobianos empleados habitualmente. ⁽¹⁰⁶⁾

P. aeruginosa se presenta a veces como parte de la flora microbiana normal de los seres humanos. La prevalencia de colonización en personas sanas fuera de los hospitales o

luego del ingreso a ellos es relativamente baja y se da en sitios húmedos como perine, axilas y oídos. La tasa representativa de colonización específica por sitios son: piel 0 – 2%, mucosa nasal 0 – 3%, heces 2,6 – 24%. Por el contrario, la hospitalización puede conducir a tasas muy altas de colonización, en particular en piel de pacientes con quemadura grave, en el aparato respiratorio inferior de pacientes sometidos a ventilación mecánica, en el aparato gastrointestinal de pacientes que reciben quimioterapia para enfermedades neoplásicas o prácticamente en cualquier sitio en personas tratadas con antibióticos de amplio espectro. ⁽¹⁰⁷⁾

Una vez que se establece la infección, *P. aeruginosa* produce una serie de compuestos tóxicos que causan no solo daño tisular extenso, si no también interfieren con el funcionamiento del Sistema Inmune. Entre las proteínas que intervienen en la infección por *P. aeruginosa* tenemos exotoxinas A y S; así como enzimas hidrolíticas que degradan las membranas y el tejido conjuntivo de diversos órganos. Esta situación se complica por difícil que es tratar a *P. aeruginosa*, debido a que estas bacterias presentan una alta resistencia natural a diferentes antibióticos y desinfectantes. ^(108, 109)

P. aeruginosa coloniza muy eficientemente el tracto respiratorio de pacientes con fibrosis quística y a medida que progresa la infección se seleccionan cepas mucoides de la bacteria que producen grandes cantidades del exopolisacárido Alginato. Una vez que se establece una infección por cepas mucoides de *P. aeruginosa* en los pulmones de estos pacientes, ellos entran a la etapa terminal de la enfermedad, debido a que estas cepas no pueden ser eliminadas del pulmón y hasta ahora no existe tratamiento efectivo contra estas cepas mucoides. ^(110, 111)

Por otra parte, en ambientes acuosos esta bacteria se adhiere a las superficies produciendo una serie de agregados llamados Biopelículas; la formación de estos cúmulos de bacterias y material extracelular representa un problema de salud pública, debido a que contaminan dispositivos que se implantan dentro del cuerpo, como, por ejemplo: dispositivos intrauterinos, catéteres, válvulas cardíacas. ^(108, 112)

Así mismo esta bacteria representa un problema en la Industria Alimentaria, pueden descomponer los alimentos que se encuentran en refrigeración, debido a que presentan un metabolismo basal en estas condiciones y producen enzimas hidrolíticas, llegando a contaminar a pacientes oncológicos. ^(113, 114)

1.9.5 Aislamiento

P. aeruginosa se aísla tanto en medios no selectivos (agar sangre) como en los selectivos (agar Mac Conkey y agar cetrimida). En caldo crecen abundantemente formando un anillo y un sedimento de color verde azulado. En agar simple forman colonias brillantes, confluentes, de borde continuo y a veces ondulado con un centro opaco, olor característico a uvas debido a que produce trimetilamida. El pigmento (piocianina) se difunde en el medio dándole una tonalidad verdosa. La temperatura óptima de multiplicación se sitúa en 36°C. el crecimiento es posible incluso a 41°C, pero no por debajo de 4°C. ⁽¹¹⁵⁾

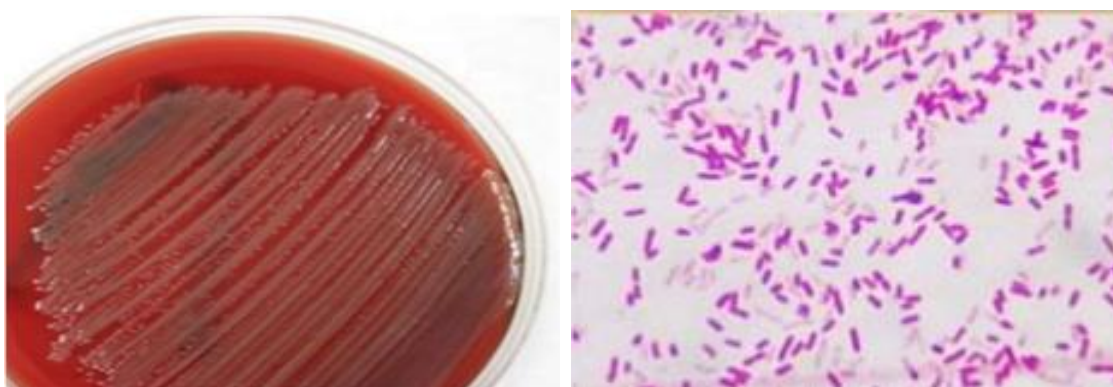


Figura 5. Morfología macroscópica y microscópica de *Pseudomonas aeruginosa*

Fuente: Sonia Calle Espinoza. Atlas de bacteriología

1.9.6 Síndromes Clínicos

P. aeruginosa raramente causa enfermedad en el individuo sano, aunque es un saprofito común en el hombre. Esta característica unida al hecho de su ubicuidad en el ambiente hospitalario, hace difícil distinguir entre una infección y una colonización particularmente en las muestras obtenidas de ciertas localizaciones como heridas, drenajes o secreciones respiratorias. ⁽¹¹⁶⁾

Tanto la naturaleza y la severidad de la enfermedad subyacente del paciente como su estado inmune son factores que influyen en el hecho de que se llegue a desarrollar la infección. La *P. aeruginosa* es responsable de un amplio espectro de enfermedades

caracterizadas por una gran variedad de cuadros clínicos que se manifiestan con diferentes niveles de severidad. ^(115, 116)

- **Infección del tracto respiratorio (neumonía):** Localizadas en las vías respiratorias inferiores. Su gravedad varía desde una colonización asintomática hasta una bronconeumonía necrotizante grave. Relacionada con la ventilación mecánica o con menor frecuencia con infecciones crónicas, ya sea en pacientes con fibrosis quística o con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Está caracterizada por inflamación de las vías aéreas, alteración de la producción de mucus y disminución del aclaramiento ciliar. Es una enfermedad que tiende a aparecer de forma repetida, acelerando la disminución de la función pulmonar y facilitando la aparición de infecciones como son las neumonías. ⁽¹¹⁵⁾
- **Infecciones del tracto urinario:** Generalmente aparecen como complicaciones de cuerpos extraños como cálculos, endoprótesis, sondas urinarias, múltiples pautas antibióticas previas, obstrucción del sistema genitourinario o cirugías del tracto urinario. Uno de los aspectos más importantes de las infecciones del tracto urinario por *P. aeruginosa* es que sirven como fuente para bacteremia por infección ascendente. ⁽¹¹⁵⁾
- **Infección de piel y partes blandas (ectima gangrenosa, infección de quemaduras o heridas quirúrgicas):** *P. aeruginosa* puede aprovecharse del tejido muerto o con mala perfusión. Las infecciones por quemaduras constituyen uno de los problemas más significativos causados por este microorganismo, complicándose con una sepsis. También se puede producir una foliculitis por inmersión en agua contaminada, infecciones en individuos con acné o muy expuestos al agua. ⁽¹¹⁵⁾
- **Infecciones de oído:** Hay tres importantes: el oído de nadador (asociada a la natación), la otitis media crónica y la otitis externa maligna, infección que sufren los diabéticos y los ancianos mayormente y que puede invadir los tejidos subyacentes, producir daño en los pares craneales y los huesos y hacer peligrar la vida. ⁽¹¹⁵⁾

- **Infecciones oculares:** Se inician con daño corneal seguido de contacto con agua contaminada, lo que da lugar a una úlcera corneal que puede conllevar la pérdida del ojo. La queratitis es la forma de presentación más frecuente y la endoftalmitis y oftalmia neonatal las más graves. ⁽¹¹⁵⁾
- **Endocarditis:** Asociadas con drogodependientes por el material con el que preparan la droga, que puede estar contaminado por agua, dando lugar en muchos casos a una afectación de la válvula tricúspide. ⁽¹¹⁵⁾

II. DEFINICIONES OPERACIONALES

2.1 VARIABLES

2.1.1 Variable independiente:

- Extracto *metanólico* de rizomas de *C. longa*.
- Extracto *metanólico* de rizomas de *Z. officinale*.

2.1.2 Variable dependiente:

- Actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. coli*, y *P. aeruginosa*.

2.2 INDICADORES:

2.2.1 Indicador Independiente:

Concentración de los extractos metanólicos de rizomas de *C. longa* y *Z. officinale*.

- Concentración al 40% (C1) : 4 mg/mL
- Concentración al 60% (C2) : 6 mg/mL
- Concentración al 80% (C3) : 8 mg/mL
- Concentración al 100% (C4) : 10 mg/MI
-

2.2.2 Indicador Dependiente:

Actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. coli*, y *P. aeruginosa*.

- halos de inhibición de crecimiento bacteriano.
- Porcentaje de inhibición según el tamaño de diámetro del halo en los discos

III. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla N° 4: Variable Independiente

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Extracto metanólico de rizoma de <i>C. longa</i> y <i>Z. officinale</i> .	Producto de la extracción de los rizomas obtenidos por maceración con metanol a temperatura ambiente.	Extracción metanólica obtenida por maceración de rizomas durante 15 días, con posterior filtrado, concentrado en equipo rotavapor y secado a medio ambiente.	concentraciones del extracto metanólico del rizoma.	(C1): 40% = 4 mg/mL (C2): 60% = 6 mg/mL (C3): 80% = 8 mg/mL (C4): 100% = 10 mg/mL	Intercalar Tipo: Cuantitativo

Tabla N° 5: Variable Dependiente

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
<p>Actividad antibacteriana frente a <i>S. aureus</i>, <i>E. coli</i>, y <i>P. aeruginosa</i></p>	<p>Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento y/o producir la muerte de una o más bacterias.</p>	<p>Sensibilidad bacteriana: Grado de susceptibilidad de los microorganismos frente al extracto de la especie vegetal en estudio, con la formación de un halo de inhibición de crecimiento bacteriano.</p>	<p>- Halo de inhibición (Diámetro en milímetros (mm) del halo de inhibición. - Porcentaje de inhibición.</p>	<p>Resistente (R): <12mm Intermedio (I): 13-14 mm Sensible (S): > 15 mm Grado de sensibilidad. -Inactivo <40% -Poco activo 40-50% -Moderado activo 51-75% -Buena actividad >76%</p>	<p>Intercalar. Tipo: Cuantitativo</p>

IV. HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos de rizomas de *C. longa* y *Z. officinale* presentan actividad antibacteriana, por el método de Disco Difusión “Kirby Bauer”, frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa* Iquitos 2018.

CAPITULO

III

I. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 TIPO DE ESTUDIO

- **Experimental:** Se realizó procedimientos controlados que modificaron el comportamiento de las variables en estudio, los mismos que se midieron en determinados momentos.
- **Prospectivo:** El registro de la información se tomaron en cuenta a partir de la fecha de ejecución.
- **Longitudinal:** Permitió realizar la recolección en forma sistemática de las variables involucradas en función del tiempo.

1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACION

La presente investigación se realizó con el objetivo de encontrar la actividad antibacteriana *In vitro* frente a microorganismos patógenos, utilizando el método de Difusión en disco (Kirby-Bauer), representada por halos de inhibición del extracto metanólico, a las diferentes concentraciones de la especie en estudio, teniendo en cuenta los siguientes parámetros fisicoquímicos:

- Esterilización de Laboratorios con luz UV durante 2 horas.
- Medios de cultivo con pH de 7.2 – 7.4.
- Autoclavado a 121°C por 15 min. ($\pm 1^\circ\text{C}$).
- Siembra de los cultivos en cabinas de bioseguridad (flujo de aire entre 45-55 pes/min.)
- Incubación de las placas en incubadoras a 35°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 48 horas

1.3 METODO DE LA INVESTIGACIÓN: Se utilizó el método de difusión en disco.

Prueba de sensibilidad.

- **Grupos experimentales:** Extractos metanólicos de rizomas de *C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de *C. longa* con *Z. officinale* a concentraciones de 40%, 60%, 80% y 100%.
- **Medio de cultivo:** Agar Mueller Hinton

- **Inoculo:** Suspensiones bacterianas de *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.
- **Grupo control Positivo:** Se emplearon 2 discos de sensibilidad (gentamicina 10 µg y vancomicina 30 µg) para *S. aureus* y *E. coli*, y 4 discos de sensibilidad (ciprofloxacino 5 µg, gentamicina 10 µg, vancomicina 30 µg y meropenem) para *P. aeruginosa*. Estableciendo como control positivo aquel disco con mayor halo de inhibición.
- **Grupo Control Negativo:** Discos impregnados con agua destilada

II. POBLACION Y MUESTRAS

2.1 Población vegetal

Estuvo constituida por el conjunto de especies vegetales de *C. longa* y *Z. officinale* de la zona de Indiana.

2.2 Muestra vegetal

Rizomas secos de *C. longa* y *Z. officinale*.

2.2.1 Criterios de inclusión.

- Rizomas, en buen estado de conservación y libre de excremento animal.

2.2.2 Criterios de exclusión.

- Rizomas infestados por microorganismos, secas o en mal estado de conservación, con restos de excremento.

2.3 Población bacteriana

El estudio se realizó con cepas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833, procedentes del Instituto Nacional de Salud (INS), con sede en la ciudad de Lima.

2.4 Muestra bacteriana

Se emplearon de 3 a 5 colonias de tamaño aproximado para la preparación del inóculo bacteriano.

2.4.1 Criterios de inclusión.

- Colonias de bacterias jóvenes,
- Bacterias con certificado de calidad del Instituto Nacional de Salud.
- Bacterias morfológicamente identificadas.

2.4.2 Criterios de exclusión.

- Colonias que no reúnan las características microscópicas y macroscópicas del microorganismo.
- Colonias con presencia de contaminantes.

2.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.5.1 Procedimiento de recolección de datos

2.5.1.1 Recolección y procesamiento de la muestra vegetal

- Las muestras de *C. longa* y *Z. officinale* fueron recolectadas en la localidad de Indiana, ubicada a orillas del río Amazonas a una altura de 105 m.s.n.m. Sus coordenadas geográficas son a 03°29'36" de latitud Sur y 73°03'54" de Longitud al Oeste del Meridiano de Greenwich. Políticamente esta localidad es la capital del distrito de Indiana, provincia de Maynas, Región Loreto, limita por el Norte con los distritos de Las Amazonas, por el Este con los distritos de Belén, Fernando Lores y Yaquerana, por el Oeste con los distritos de Mazan y por el Sur con los distritos de Belén y Punchana.
- La identificación de las muestras se realizó en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), por un botánico y será validada con las exicatas existentes.
- Las muestras vegetales de *C. longa* y *Z. officinale*, fueron procesadas en el Laboratorio de Fitoquímica y Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFB), ubicada en Nina Rumi (Carretera Iquitos- Nauta) en el Distrito de San Juan Bautista. Posteriormente los extractos fueron llevados al Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias (FIA) donde se realizaron las pruebas de sensibilidad bacteriana.

2.5.1.2 Preparación de la molienda de cada especie vegetal

- Se seleccionó y utilizó los rizomas en buen estado de conservación de cada especie vegetal.
- Se lavó a chorro de agua corriente los rizomas de cada especie vegetal para garantizar la eliminación remanente de suciedad.
- Se cortó los rizomas en pequeños fragmentos y se secaron totalmente a temperatura ambiente durante 5 días.
- Posteriormente, se pesó y se redujo de tamaño mediante molienda para mejorar el proceso de extracción.
- La muestra molida se guardó en frascos herméticos y se almacenó a temperaturas menores a 25 °C y exento de luz, para su posterior utilización.

2.5.1.3 Obtención de los extractos metanólicos

- Se pesó 100 g de rizomas previamente secada y molida, de cada muestra vegetal (*C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de *C. longa* con *Z. officinale*).
- Se puso a macerar las muestras vegetales en 1000 mL de metanol en frascos de vidrio ámbar debidamente rotulado, durante 7 días, con agitación diaria, bajo condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente.
- Cumplido el tiempo se filtró al vacío sobre el papel filtro Whatman N° 42. Los extractos filtrados fueron concentrados en un rotavapor, a una temperatura de 45 °C del baño María y a una presión adecuada, hasta la completa evaporación del disolvente (metanol).
- Posteriormente, los extractos concentrados se colocaron en placas Petri y se secaron en estufa a 37 °C; luego se pesaron las muestras para calcular el porcentaje de rendimiento mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso de la muestra total}} \times 100$$

- Luego, los extractos concentrados y secos se colocaron en viales de 30 ml de color ámbar estériles, previamente rotulados, para su respectivo almacenamiento a temperatura ambiente hasta su uso.

2.5.2 Evaluación de la actividad antibacteriana de rizomas de *C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de las dos especies vegetales (*C. longa* con *Z. officinale*) mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer).

Se midió la sensibilidad de las cepas de *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* frente a las concentraciones del 40%, 60%, 80% y 100% de la solución stock de 1 mg/mL (1000 mg/mL) de concentración de los extractos de *C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de *C. longa* con *Z. officinale*. La prueba de sensibilidad de cada microorganismo se realizó por triplicado.

2.5.2.1 Preparación de la solución stock y las concentraciones de los discos

- Se pesó 1.5 g de extracto metanólico de cada especie vegetal, se disolvió en 1.5 ml de una mezcla metanol/agua (1:1) para obtener la solución stock con una concentración de 1000 mg/mL (Solución al 100%).
- A partir de esta solución stock (Solución al 100%) se procedió a preparar las demás soluciones con las diferentes concentraciones para los discos (40%, 60%, 80% y 100%) en microtubos de tipo Sppendorf estériles, de la siguiente manera: Para obtener la solución al 80%, se procedió a extraer 0.8 mL de la solución stock para posteriormente ser agregado en 0.2 mL de una mezcla de Metanol/Agua (1:1), alcanzando así una concentración de 800 mg/mL. Para obtener la solución al 60%, se extrajo 0.6 mL de la solución al 80% para diluirlo en 0.2 mL de una mezcla de metanol/Agua (1:1), obteniendo una concentración de 600 mg/mL. Y para obtener la solución al 40%, se extrajo 0.4 mL de la solución al 60% para diluirlo en 0.2 mL de una mezcla de Metanol/Agua (1:1), obteniendo una concentración de 400 mg/mL.
- Posteriormente, las soluciones en microtubos, debidamente rotulados, fueron llevados al vórtex para facilitar su homogenización y almacenados a temperatura ambiente hasta su uso.

2.5.2.2 Preparación de los discos de sensibilidad

- Los discos de sensibilidad se prepararon utilizando papel Whatman N° 5 y un perforador convencional. Estos discos se colocaron en vaso de precipitado pequeño para esterilizarlo en autoclave a 121°C a 15 libras de presión por 15 minutos.
- Luego de haber sido esterilizados y enfriados los discos, se procedió a agregar a cada uno de ellos 10 µl de cada concentración (40%, 60%, 80% y 100%) de los extractos de *C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de *C. longa* con *Z. officinale*, las que se dejaron secar a 37 °C por espacio de 24 horas, para obtener discos impregnados de 4 mg (Solución al 40%), 6 mg (Solución al 60%), 8 mg (Solución al 80%) y 10 mg (Solución al 100%).

2.5.2.3 Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland)

- Para 10 ml de estándar 0,5 Mc. Farland se agregó en un tubo de ensayo con tapa de rosca o tampón de jebe 0,5 ml de una solución de BaCl 1% P/V (1g/100 mL) a 9,95 ml de una solución de H₂SO₄ 1% V/V en constante movimiento para mantener la suspensión.
- Se verificó la densidad correcta del estándar, mediante el uso de un espectrofotómetro.
- Luego se ajustó bien la tapa del tubo, se anotó la fecha de preparación, se rotuló y se almacenó a temperatura ambiente en un lugar exento de luz. Antes de ser usado, se agitará vigorosamente dicho estándar.

2.5.2.4 Preparación del agar nutritivo

- Se preparó el medio de cultivo a partir de la base deshidratada, disolviendo 31 g de polvo en un litro de agua destilada. Posteriormente se calentará la mezcla en baño María por 1 o 2 minutos, agitando frecuentemente, hasta su disolución total.
- Luego se distribuyó en recipientes apropiados para esterilizar la disolución en autoclave a 121 °C y 1 atm de presión por 15 minutos.
- El medio esterilizado se enfrió a 45 – 50 °C en baño de agua.

- Una vez enfriado y homogenizado se distribuyó el medio en tubos de ensayo, dejándolo solidificar en forma de pico de flauta, para su posterior utilización en el cultivo de bacterias en estudio (*E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*)

2.5.2.5 Preparación del caldo tripticasa de soya

- Se preparó el medio líquido a partir de la base deshidratada, mezclando 30 g de polvo en un litro de agua destilada. Se dejó reposar 5 minutos.
- Luego se calentó la mezcla en baño María por 1 o 2 minutos, agitando suavemente, hasta su disolución total.
- Seguidamente se distribuyó en recipientes apropiados para esterilizar la disolución en autoclave a 121 °C y 1 atm de presión por 15 minutos.
- El medio esterilizado se enfrió a 45 – 50 °C en baño de agua.
- Una vez enfriado y homogenizado se distribuyó el medio en tubos de ensayo para dejar reposar a temperatura ambiente. Su utilización posterior tiene el propósito de sembrar y aislar las bacterias en estudio (*E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*), que serán transferidas del cultivo del Agar Nutritivo.

2.5.2.6 Preparación del agar tripticasa de soya

- Se preparó el medio de cultivo a partir de la base deshidratada, mezclando 40 g de polvo en un litro de agua destilada. Se dejó reposar 5 minutos.
- Luego se calentó la mezcla en baño María por 1 o 2 minutos, agitando suavemente, hasta su disolución total.
- Seguidamente se distribuyó en recipientes apropiados para esterilizar la disolución en autoclave a 121 °C y 1 atm de presión por 15 minutos.
- El medio esterilizado se enfrió a 45 – 50 °C en baño de agua.
- Una vez enfriado y homogenizado se distribuyó el medio en placas Petri estériles para dejar solidificar a temperatura ambiente. Su utilización posterior tiene como propósito la réplica del cultivo en caldo Tripticasa de Soya y la obtención de cultivos jóvenes de las bacterias en estudio (*E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*), con las cuales se trabajó en la evaluación de la actividad antibacteriana.

2.5.2.7 Preparación del inóculo.

- De cultivos en Agar Nutritivo de *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* se transfirieron colonias que fueron sembradas en un tubo que contenga caldo de Trypticasa de soya para incubarlos por 24 horas a una temperatura de entre 35 °C a 37 °C.
- Luego el cultivo obtenido de cada bacteria, se replicó en placas con Agar de Trypticasa de soya. Se sembró por estrías y por duplicado, y se incubó por 24 horas a una temperatura de entre 35 °C a 37 °C para obtener cultivos jóvenes.
- Cumplido el tiempo, se transfirió con un asa bacteriológica cada colonia bacteriana a un tubo de ensayo conteniendo 5 mL de suero fisiológico.
- La suspensión bacteriana obtenida, se ajustó la turbidez del inóculo hasta alcanzar la turbidez del estándar 0,5 en la escala de Mc. Farland, por comparación visual.
- Una vez alcanzado la turbidez, se incubó la suspensión bacteriana por 15 minutos a 35 °C – 37 °C.

2.5.2.8 Inoculación de las placas y preparación del medio a inocular (Agar Mueller Hinton)

- **Se preparó el agar Mueller Hinton:**
 - Se preparó el medio de cultivo a partir de la base deshidratada, mezclando 38 g de polvo en un litro de agua destilada. Se dejó reposar 5 minutos.
 - Luego se calentó la mezcla en baño María, agitando suavemente, hasta su disolución total.
 - Seguidamente se distribuyó en recipientes apropiados para esterilizar la disolución en autoclave a 121 °C y 1 atm de presión por 15 minutos.
 - El medio esterilizado se enfrió a 45 – 50 °C en baño de agua.
 - Una vez enfriado y homogenizado se distribuyó el medio en placas Petri estériles que se dejó solidificar a temperatura ambiente.
- Después de preparar el medio del inóculo, y pasado los 15 minutos ajustada la turbidez del mismo, se sumergió un hisopo estéril en cada suspensión bacteriana, rozando varias veces.
- Se diseminó sobre la superficie de placas con agar Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

- Se dejó secar las placas Petri con el medio inoculado a temperatura ambiente por un espacio de 3 a 5 minutos, para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido. Esto se realizó para cada extracto vegetal (*C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de *C. longa* con *Z. officinale*) y por triplicado. Luego, se procedió a la aplicación de discos.

2.5.2.9 Aplicación y lectura de los discos

- Se colocaron los discos estériles impregnados con las diferentes concentraciones (40%, 60%, 80% y 100%) de cada extracto vegetal (*C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de *C. longa* con *Z. officinale*) sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril presionando suavemente para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.
- Se distribuyó uniformemente los discos, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro. Se colocaron los 4 discos impregnados en una sola placa y los discos de sensibilidad estándar (Controles positivos y control negativo), se distribuyó en otras placas separadas de las placas de los extractos vegetales para evitar la superposición de las zonas de inhibición.
- Después de 15 minutos de la aplicación de los discos, se incubó las placas en posición invertida entre 35 °C – 37 °C por 24 horas.
- Transcurrido el tiempo de incubación se examinó cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.
- Se midió los diámetros de las zonas de inhibición completa, incluyendo el diámetro del disco, utilizando una regla o un vernier, manteniendo iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.
- Se observó la placa siguiendo una vertical directa para evitar una lectura errónea de las marcas del vernier o regla.
- Se tomó el área que no muestra un crecimiento obvio como el punto final, que fue detectada mediante observación visual. No se incluyó velo de crecimiento o colonias muy pequeñas detectadas en el borde de las zonas.

Fórmula para determinar el porcentaje de inhibición.

$$\%INHIBICION = \frac{\text{Diametro de la muestra}}{\text{Diametro del control}} \times 100$$

Tabla N° 6. Clasificación de la actividad antibacteriana según el porcentaje de inhibición.

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN
Inactivo	<40%
Poco activo	40 – 50%
Moderado activo	51 – 75%
Buena actividad	>76%

Fuente: Protocolo de ensayo – Instituto de Medicina Tradicional.

III. MATERIALES E INSTRUMENTOS

3.1 Material vegetal

- Rizomas de la especie vegetal *C. longa* y *Z. officinale*.

3.2 Material biológico

- Microorganismos patógenos: Cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25924

3.3 Equipos

- Autoclave (Intermedical trade S.A./Model Mod. Vertical –V)
- Balanza Analítica. METTLER TOLEDO AG 204
- Rotaevaporador BUCCHI NS 18,8/38
- Cámara de flujo laminar Magmehelic “Forma científico/Model: 13089-79)
- Campana de seguridad (Terra Universal)
- Refrigerador. FRÍO LUX

- Cámara fotográfica (Digital). Samsung
- Cocina eléctrica (PRACTICA/Modelo: cocina eléctrica HP1)
- Agitador magnético (JENWAY LTD. Felsted Dunmonw Essex England CM6 3LB/Model:1200)
- Estufa esterilizadora
- Estufa incubadora a 35°C

3.4 Medios de cultivo y reactivos químicos

- Agar Nutritivo.
- Agar Tripticasa de Soya.
- Caldo Tripticasa de Soya.
- Agar Mueller Hilton.
- Cloruro de Bario.
- Ácido Sulfúrico concentrado.
- Metanol q.p.
- Agua destilada.

3.5 Materiales de laboratorio

- Matraz Erlenmeyer de 250 y 500 cc.
- Pipetas 1 y 10 cc.
- Placas Petri de 10 cm y 4 cm.
- Tubos de ensayo.
- Microtubos de tipo Sppendorf.
- Asa de inoculación.
- Disco de sensibilidad.
- Discos estériles de 6 mm de diámetro.
- Embudos de vidrio.
- Espátula mediana.
- Guantes quirúrgicos N° 7 ½.
- Gradillas para tubos de ensayo.
- Hisopos estériles.
- Mascarillas descartables.

- Papel filtro Whatman N° 5 y N° 42.
- Algodón hidrófilo.
- Tips descartables de 10µL, 250, 500 y 1000 µL.
- Micropipetas automáticas de 10µL, 250, 500 y 1000 µL.
- Lápiz marcador de vidrio.
- Mortero y pilón.
- Marcador indeleble.
- Papel de aluminio.
- Papel toalla.
- Tijeras.
- Cronómetro.
- Vernier o regla graduada en mm.

IV. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN:

Los resultados obtenidos en la presente investigación se expresaron en términos de valores resultantes y se expresaron de la siguiente manera:

- Se calculó la media y la desviación estándar de los diámetros de inhibición, como medidas de tendencia central, obtenido de la medición de los diámetros de los halos formados por cada extracto metanólico, que se representan mediante tablas.
- Se calculó el porcentaje de inhibición del extracto metanólico, en la prueba de actividad antimicrobiana por el método de disco difusión, estos valores se presentarán en tablas, gráficos y clasificados de acuerdo a las especificaciones de la tabla 10.
- Los datos se procesaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia de $p < 0.05$; aplicando el Programa SPSS versión 22.0.

V. PROTECCION DE LOS DERECHOS HUMANOS

En el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Industrias Alimentarias – UNAP se realizaron los ensayos experimentales, en dichas instalaciones se toman estrictas medidas de bioseguridad para evitar la exposición a riesgos de adquirir enfermedades infecciosas para el personal que trabaja en el laboratorio o al rededor.

CAPITULO

IV

I. RESULTADOS

1.1. DETERMINACION DEL RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS METANOLICOS DE *Curcuma longa*, *Zingiber officinale* Y LA COMBINACION DE *Curcuma longa* con *Zingiber officinale*.

Se obtuvo extractos metanólicos de 100 g de cada muestra, los productos finales se pesaron y se calculó los porcentajes de rendimiento de cada extracto metanólico.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso de la muestra total}} \times 100$$

Tabla N° 7: Porcentajes de rendimientos de los extractos obtenidos

EXTRACTO VEGETAL	PARTE UTILIZADA	PESO DEL EXTRACTO (g.)	% DEL RENDIMIENTO
<i>Curcuma longa</i>	Rizoma	8.970	8.97
<i>Zingiber officinale</i>	Rizoma	18.900	18.90
<i>Curcuma longa</i> con <i>Zingiber officinale</i>	Rizoma	16.540	16.54

1.2. DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS METANOLICOS DE *Curcuma longa*, *Zingiber officinale* Y LA COMBINACION DE *Curcuma longa* con *Zingiber officinale*.

La actividad antimicrobiana de los diferentes extractos metanólicos, se obtuvo mediante la medición de los diámetros formados sobre las placas de agar resultado de la inhibición aparente de cada extracto. Para cada extracto se evaluaron cuatro concentraciones 4, 6, 8 y 10 mg por triplicado.

Tabla N° 8: Media y desviación estándar de los diámetros de halos de inhibición (mm) de los extractos metanólicos de los rizomas *C. longa*, *Zingiber officinale* y la combinación de *Curcuma longa* con *Zingiber officinale*, frente a *S. aureus*.

Extracto vegetal / Controles	Concentración (mg)	Replica 1 (mm)	Replica 2 (mm)	Replica 3 (mm)	Media \bar{x} (mm)	Desviación estándar (DS)
<i>Curcuma longa</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
<i>Zingiber officinale</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	5.1	5.2	4.7	5.0	± 0.26
	10	7.2	7.4	6.4	7.0	± 0.53
<i>Curcuma longa</i> + <i>Zingiber officinale</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	7.1	7.3	6.6	7.0	± 0.36
	10	8.9	9.0	9.1	9.0	± 0.1
Controles positivos	Gentamicina*	29.3	28.5	29.2	29.0	± 0.43
	Vancomicina	20.4	21.2	21.4	21.0	± 0.52
Control negativo (H2O)		0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0

Elaboración propia. *Antibiótico seleccionado como control positivo por presentar mayor halo de inhibición.

La Tabla N.º 8 muestra el promedio y desviación estándar de los diámetros de la zona de inhibición que se obtuvieron en las lecturas del ensayo de disco difusión, a diferentes niveles de concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, *Z. officinale* y la combinación de ambas especies frente a *S. aureus*. Además, se muestra la media y la desviación estándar de los controles (positivo y negativo).

Tabla N° 9: Media y desviación estándar de los diámetros de halos de inhibición (mm) de los extractos metanólicos de los rizomas *C. longa*, *Zingiber officinale* y la combinación de *Curcuma longa* con *Zingiber officinale*, frente a *E. coli*.

Extracto vegetal / Controles	Concentración (mg)	Replica 1 (mm)	Replica 2 (mm)	Replica 3 (mm)	Media \bar{x} (mm)	Desviación estándar (DS)
<i>Curcuma longa</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
<i>Zingiber officinale</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
<i>Curcuma longa</i> + <i>Zingiber officinale</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
Controles positivos	Gentamicina*	15.9	15.7	15.5	15.7	± 0.2
	Vancomicina	5.9	5.7	6.4	6.0	± 0.36
Control negativo (H2O)		0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0

Elaboración propia. *Antibiótico seleccionado como control positivo por presentar mayor halo de inhibición.

La Tabla N.º 9 muestra el promedio y desviación estándar de los diámetros de la zona de inhibición que se obtuvieron en las lecturas del ensayo de disco difusión, a diferentes niveles de concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, *Z. officinale* y la combinación de ambas especies frente a *E. coli*. Además, se muestra la media y la desviación estándar de los controles (positivo y negativo).

Tabla N° 10: Media y desviación estándar de los diámetros de halos de inhibición (mm) de los extractos metanólicos de los rizomas *C. longa*, *Zingiber officinale* y la combinación de *Curcuma longa* con *Zingiber officinale*, frente a *P. aeruginosa*.

Extracto vegetal / Controles	Concentración (mg)	Replica 1 (mm)	Replica 2 (mm)	Replica 3 (mm)	Media \bar{x} (mm)	Desviación estándar (DS)
<i>Curcuma longa</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
<i>Zingiber officinale</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
<i>Curcuma longa</i> + <i>Zingiber officinale</i>	4	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0
Controles positivos	Ciprofloxacino*	32.0	31.0	32.0	31.7	± 0.57
	Gentamicina	17.8	12.5	11.7	14.0	± 3.31
	Meropenem	21.0	19.0	20.0	20.0	± 1.0
	Vancomicina	6.0	5.8	6.2	6.0	± 0.2
Control negativo (H2O)		0.0	0.0	0.0	0.0	± 0.0

Elaboracion propia. *Antibiotico seleccionado como control positivo por presentar mayor halo de inhibicion.

La Tabla N.º 10 muestra el promedio y desviación estándar de los diámetros de la zona de inhibición que se obtuvieron en las lecturas del ensayo de disco difusión, a diferentes niveles de concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, *Z. officinale* y la combinación de ambas especies frente a *P. aeruginosa*. Además, se muestra la media y la desviación estándar de los controles (positivo y negativo).

Tabla N° 11: Actividad antibacteriana (Porcentaje de Inhibición) del extracto metanólico de *C. longa* “guisador”, frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

BACTERIAS DEL ESTUDIO	CONCENTRACION DEL EXTRACTO (DISCO)	DIAMETRO DE LA ZONA DE INHIBICIÓN (DZI) *		ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA ($\bar{a}\bar{a}$)	
	(mg)	(mm) $\bar{x} \pm DS$	RESULTADO (Kirby – Bauer)	% INHIBICIÓN	RESULTADO
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	10	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	Gentamicina 10 µg	29.0 ± 0.43	SENSIBLE	---	---
<i>Escherichia coli</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	10	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	Gentamicina 10 µg	15.7 ± 0.2	SENSIBLE	---	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	10	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	Ciprofloxacino 5 µg	31.7 ± 0.57	SENSIBLE	---	---

* Esquema DZI frente a Control positivo

Resistente : <12 mm
Intermedio : 13 - 14 mm
Sensible : > 15 mm

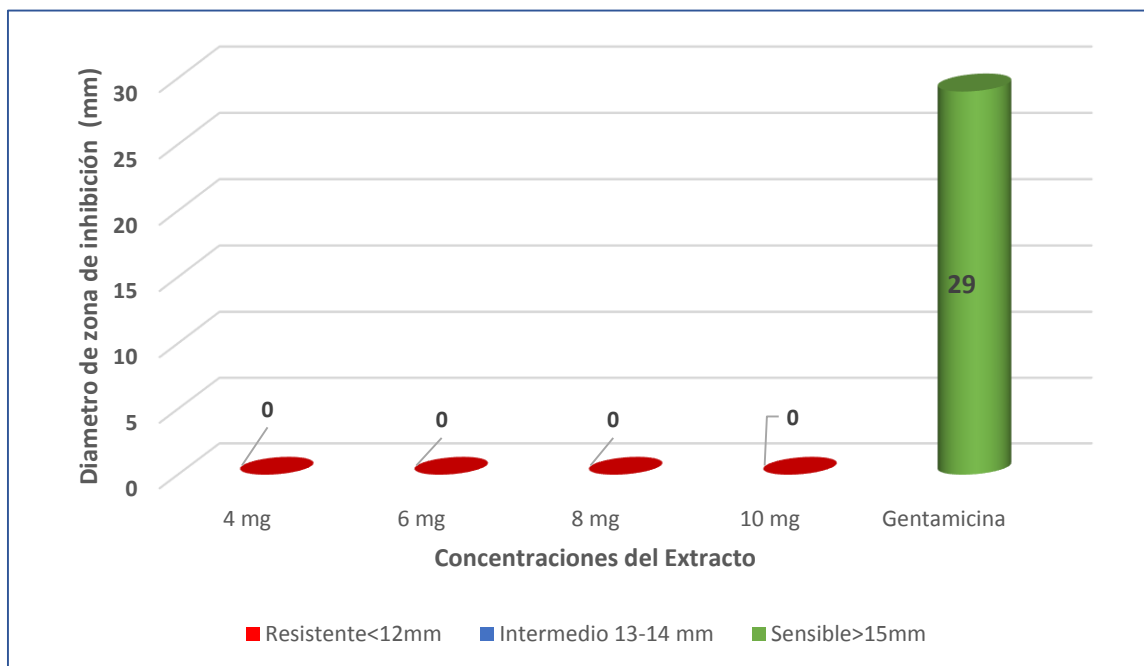
$\bar{a}\bar{a}$ Actividad antimicrobiana / Porcentaje de inhibición

Inactivo : < 40%
Poco activo : 40 – 50%
Moderadamente activo: 51 – 75%
Buena actividad :> 76 %

Fuente: Instituto Nacional de Salud (2002). “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión” (117)

La Tabla N.º 11 muestra la actividad antibacteriana expresada en porcentaje de inhibición de los diámetros de la zona de inhibición que se obtuvieron en las lecturas del ensayo de disco difusión, y su categorización a diferentes niveles de concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

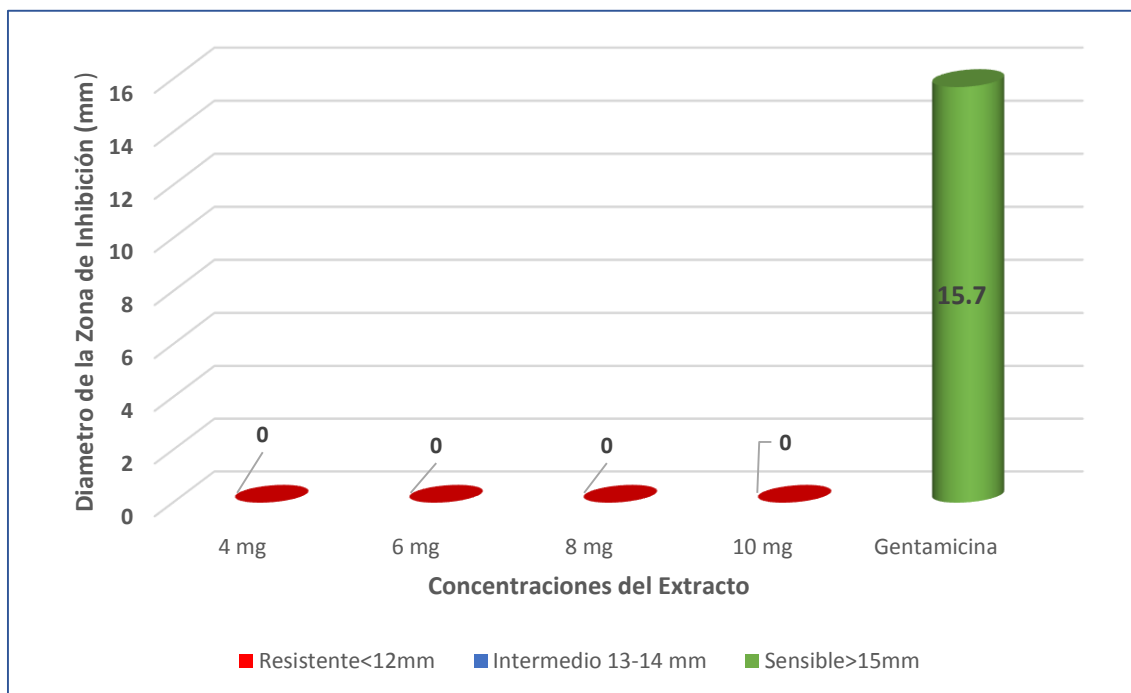
Gráfico N° 1: Categorización del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, frente a *S. aureus* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N° 1, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa* y del control positivo (Gentamicina 10mcg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *S. aureus*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 29.0 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en todas las concentraciones evaluadas (4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

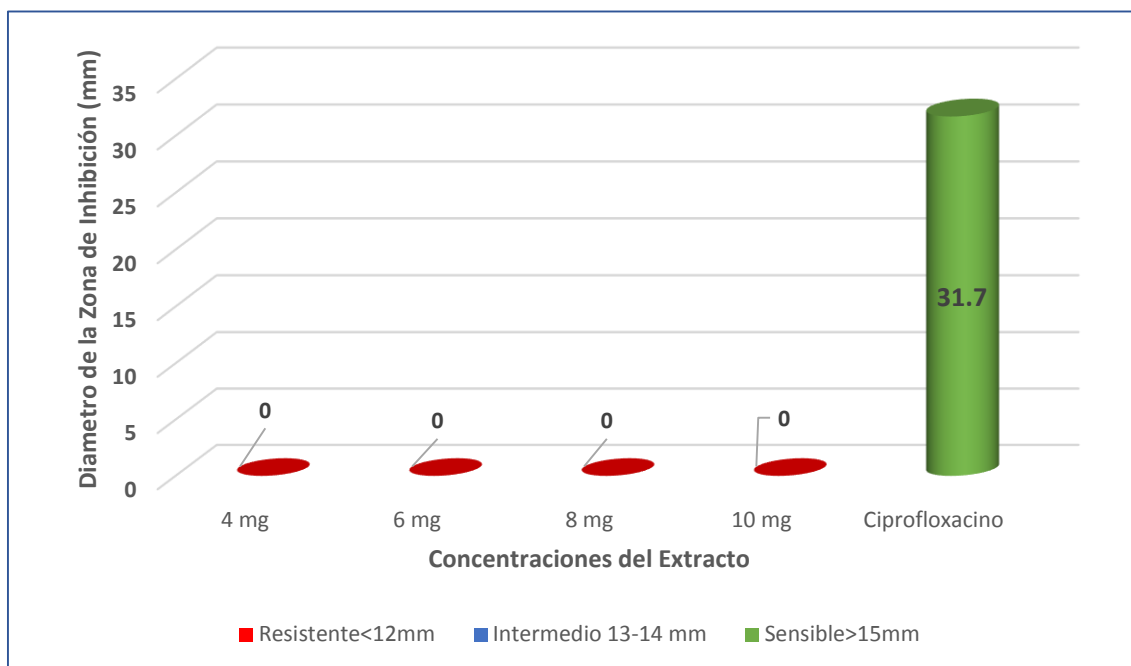
Gráfico N° 2: Categorización del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, frente a *E. coli* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N° 2, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa* y del control positivo (Gentamicina 10mcg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *E. coli*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 15.7 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en todas las concentraciones evaluadas (4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

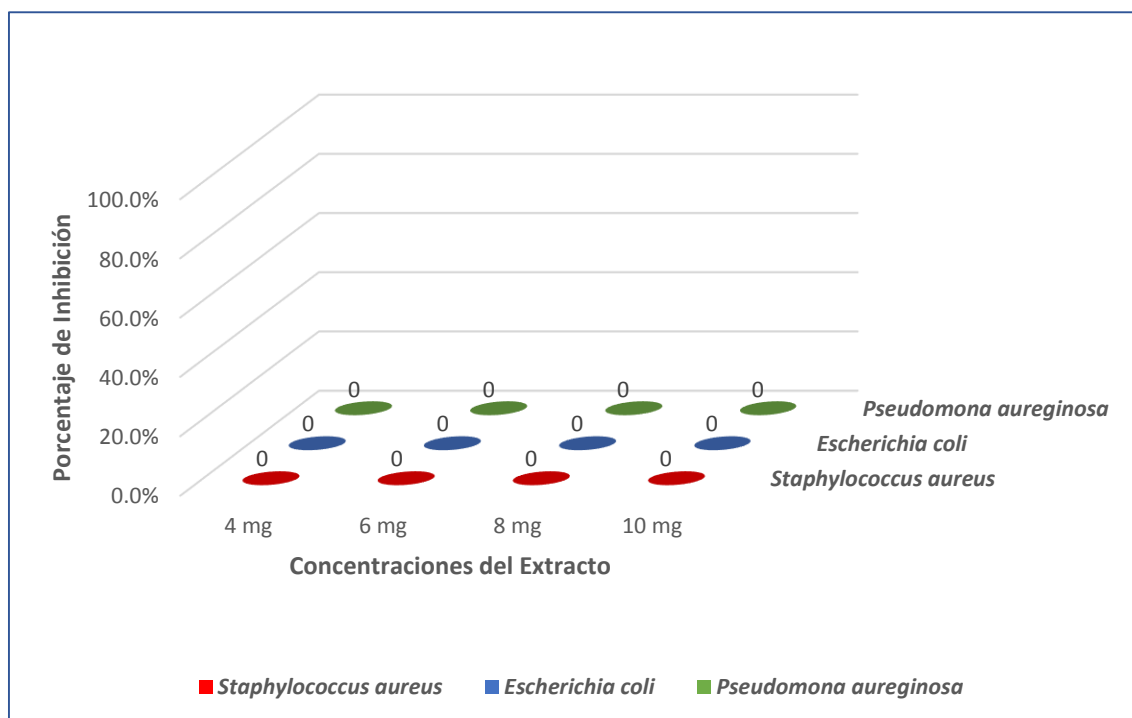
Gráfico N° 3: Categorización del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, frente a *P. aureginosa* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N° 3, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa* y del control positivo (ciprofloxacino 5 µg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *P. aureginosa*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 31.7 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en todas las concentraciones evaluadas (4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

GRAFICO N° 4: Actividad antibacteriana de Extracto metanólico de rizomas de *C. longa* según Porcentaje de inhibición.



El gráfico N° 4, muestra los porcentajes de inhibición del extracto metanólico de rizomas de *C. longa* en las diferentes concentraciones frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

La actividad antibacteriana se mide principalmente por el porcentaje de inhibición que demuestran los extractos metanólicos a las diversas concentraciones evaluadas, encontrándose tanto para *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa* un porcentaje de inhibición de 0.0% en todas las concentraciones evaluadas, con el cual se obtiene como resultado INACTIVO.

Tabla N° 12: Actividad antibacteriana (Porcentaje de Inhibición) del extracto metanólico de *Z. officinale* “Jenjibre”, frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

BACTERIAS DEL ESTUDIO	CONCENTRACION DEL EXTRACTO (DISCO)	DIAMETRO DE LA ZONA DE INHIBICIÓN (DZI) *		ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA ($\bar{a}\bar{a}$)	
	(mg)	(mm)	RESULTADO	%	RESULTADO
		$\bar{x} \pm DS$	(Kirby – Bauer)	INHIBICIÓN	
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	5.0 ± 0.26	RESISTENTE	17.24	INACTIVO
	10	7.0 ± 0.53	RESISTENTE	24.14	INACTIVO
	Gentamicina 10 µg	29.0 ± 0.43	SENSIBLE	---	---
<i>Escherichia coli</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	10	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	Gentamicina 10 µg	15.7 ± 0.2	SENSIBLE	---	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	10	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	Ciprofloxacino 5 µg	31.7 ± 0.57	SENSIBLE	---	---

* Esquema DZI frente a Control positivo

Resistente : <12 mm
Intermedio : 13 - 14 mm
Sensible : > 15 mm

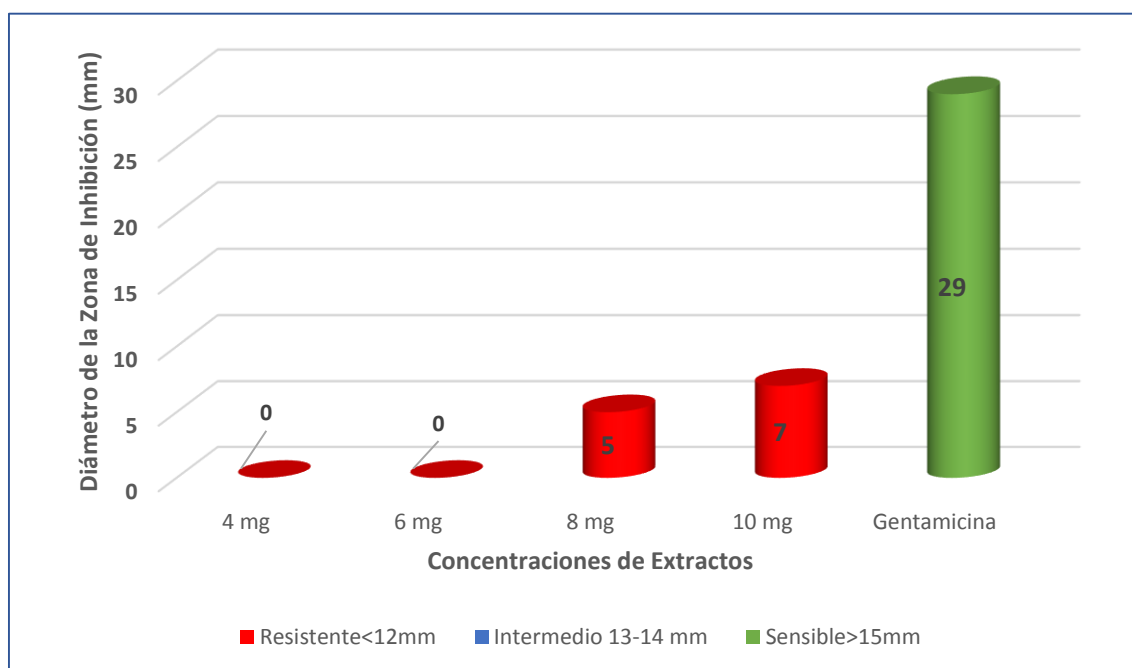
$\bar{a}\bar{a}$ Actividad antimicrobiana / Porcentaje de inhibición

Inactivo : < 40%
Poco activo : 40 – 50%
Moderadamente activo: 51 – 75%
Buena actividad :> 76 %

Fuente: Instituto Nacional de Salud (2002). “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión” (117)

La Tabla N° 12 muestra la actividad antibacteriana expresada en porcentaje de inhibición de los diámetros de la zona de inhibición que se obtuvieron en las lecturas del ensayo de disco difusión, y su categorización a diferentes niveles de concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

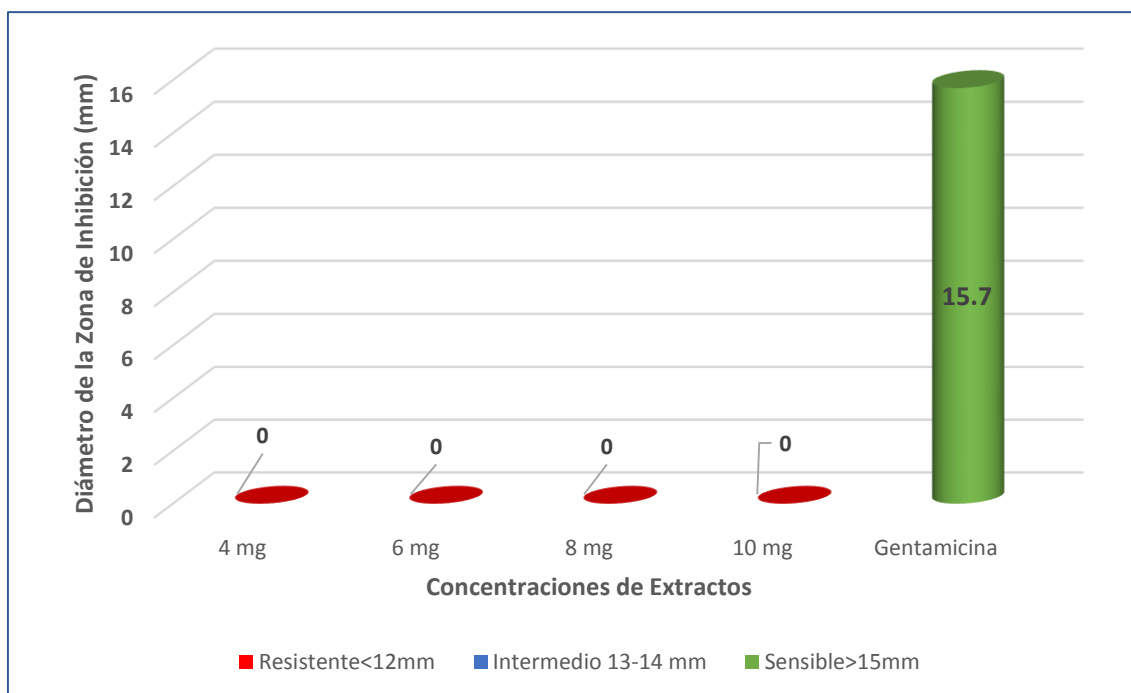
Gráfico N° 5: Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, frente a *S. aureus* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N° 5, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale* y del control positivo (Gentamicina 10mcg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *S. aureus*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 29.0 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en las concentraciones de 4 mg/mL y 6 mg/mL, en las concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL, obtuvieron valores DZI de 5.0 y 7.0 respectivamente, sin embargo, todas las concentraciones se categorizan como RESISTENTE.

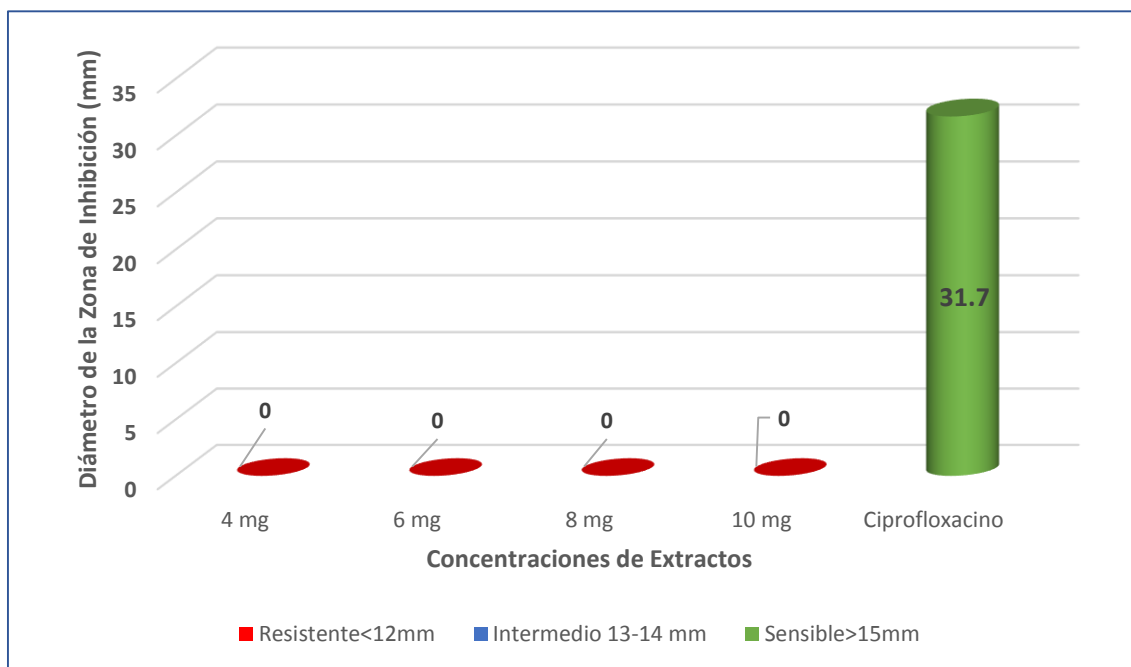
Gráfico N° 6: Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, frente a *E. coli* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N° 6, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale* y del control positivo (Gentamicina 10mcg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *E. coli*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 15.7 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en todas las concentraciones evaluadas (4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

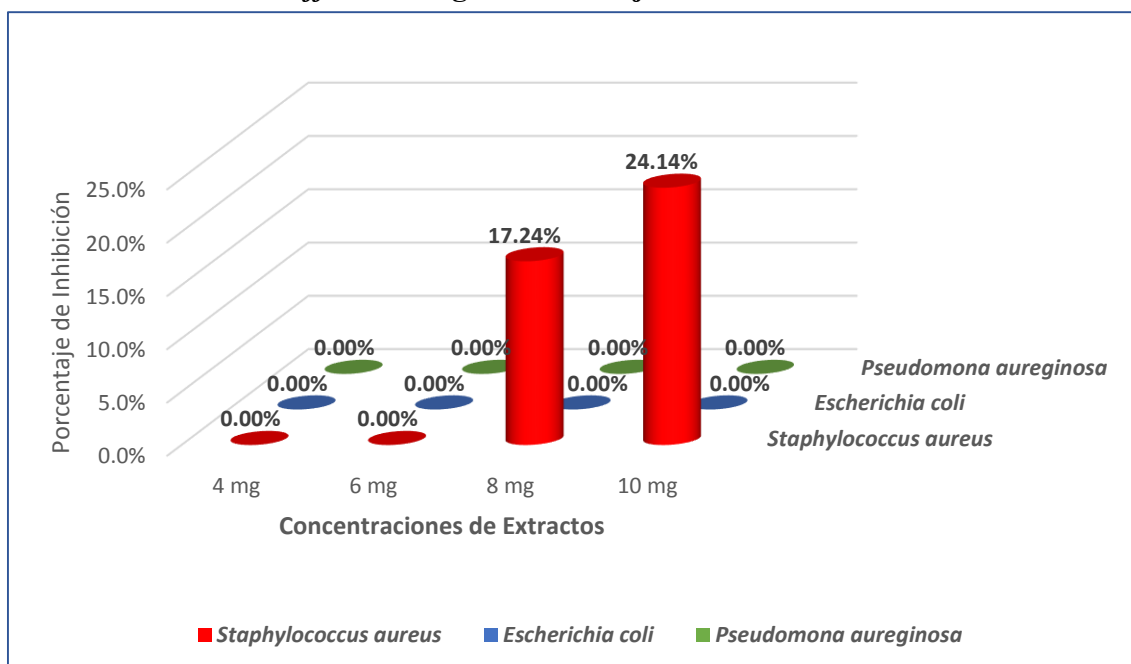
Gráfico N° 7: Categorización del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, frente a *P. aureginosa* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N° 7, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale* y del control positivo (ciprofloxacino 5 µg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *P. aureginosa*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 31.7 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en todas las concentraciones evaluadas (4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

GRAFICO N° 8: Actividad antibacteriana de Extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale* según Porcentaje de inhibición.



El grafico N° 8, muestra los porcentajes de inhibición del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale* en las diferentes concentraciones frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

La actividad antibacteriana se mide principalmente por el porcentaje de inhibición que demuestran los extractos metanólicos a las diversas concentraciones evaluadas. Encontrándose tanto para *E. coli* y *P. aeruginosa* un porcentaje de inhibición de 0.0% en todas las concentraciones evaluadas, con el cual se obtiene como resultado INACTIVO.

En la evaluación realizada frente a *S. aureus*, demostró un porcentaje de inhibición de 17.24% y 24.14% en las concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL respectivamente; obteniendo como resultado ser INACTIVO.

Tabla N° 13: Actividad antibacteriana (Porcentaje de Inhibición) del extracto metanólico de *C. longa* con *Z. officinale*, frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

BACTERIAS DEL ESTUDIO	CONCENTRACION DEL EXTRACTO (DISCO)	DIAMETRO DE LA ZONA DE INHIBICIÓN (DZI) *	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA ($\bar{a}\bar{a}$)		
	(mg)	(mm) X ± DS	RESULTADO (Kirby – Bauer)	% INHIBICIÓN	RESULTADO
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	7.0 ± 0.36	RESISTENTE	23.3	INACTIVO
	10	9.0 ± 0.1	RESISTENTE	31.3	INACTIVO
	Gentamicina 10 µg	29.0 ± 0.43	SENSIBLE	---	---
<i>Escherichia coli</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	10	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	Gentamicina 10 µg	15.7 ± 0.2	SENSIBLE	---	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	6	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	8	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	10	0.0 ± 0.0	RESISTENTE	0.0	INACTIVO
	ciprofloxacino 5 µg	31.7 ± 0.57	SENSIBLE	---	---

* Esquema DZI frente a Control positivo

Resistente : <12 mm
Intermedio : 13 - 14 mm
Sensible : > 15 mm

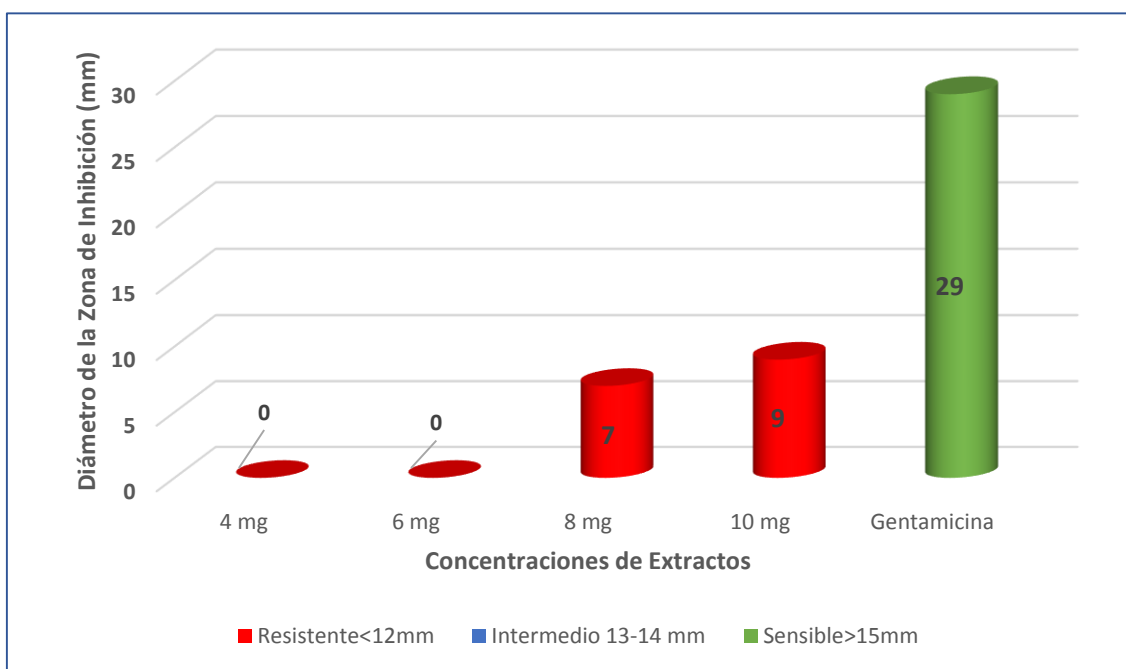
$\bar{a}\bar{a}$ Actividad antimicrobiana / Porcentaje de inhibición

Inactivo : < 40%
Poco activo : 40 – 50%
Moderadamente activo: 51 – 75%
Buena actividad :> 76 %

Fuente: Instituto Nacional de Salud (2002). “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión” (117)

La Tabla N° 13 muestra la actividad antibacteriana expresada en porcentaje de inhibición de los diámetros de la zona de inhibición que se obtuvieron en las lecturas del ensayo de disco difusión, y su categorización a diferentes niveles de concentraciones del extracto metanólico de rizomas de *C. longa* con *Z. officinale*, frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Gráfico N° 9: Categorización del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale*, frente a *S. aureus* según Diámetro de la zona de inhibición.

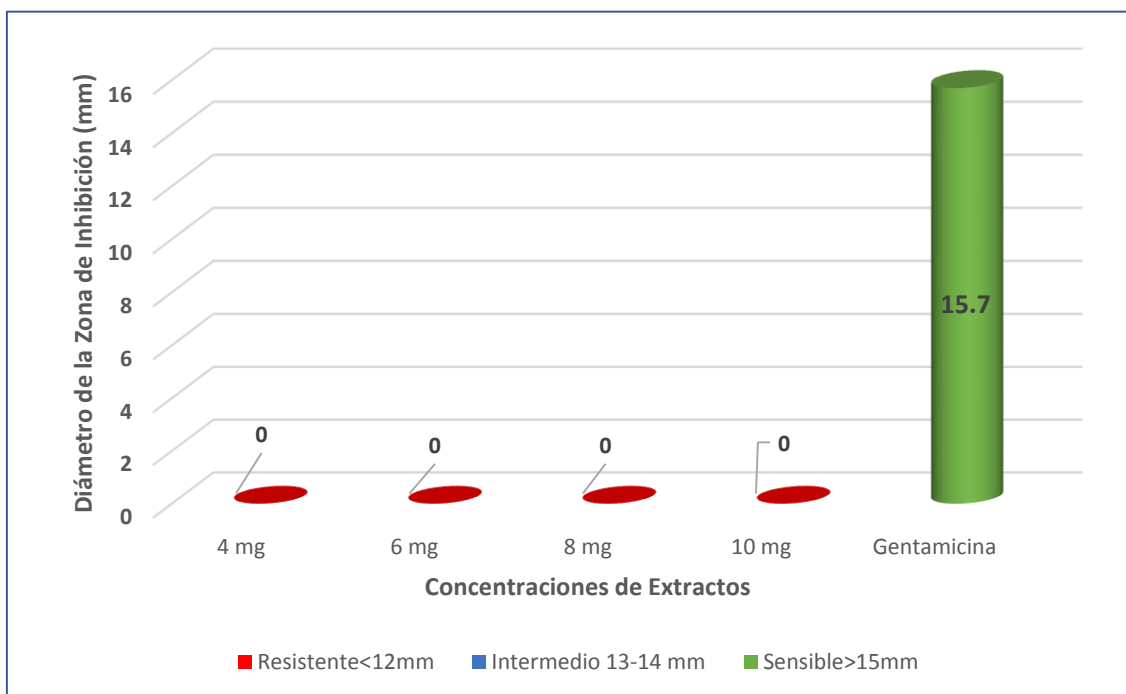


El gráfico N° 9, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de rizomas de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* y del control positivo (Gentamicina 10mcg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *S. aureus*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 29.0 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto etanólico de rizomas de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en las concentraciones evaluadas (4 mg/mL y 6 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

En la concentración de 8 mg/mL y 10 mg/mL, se encontró un valor de DZI de 7.0 mm y 9.0 mm, lo cual se categoriza como RESISTENTE.

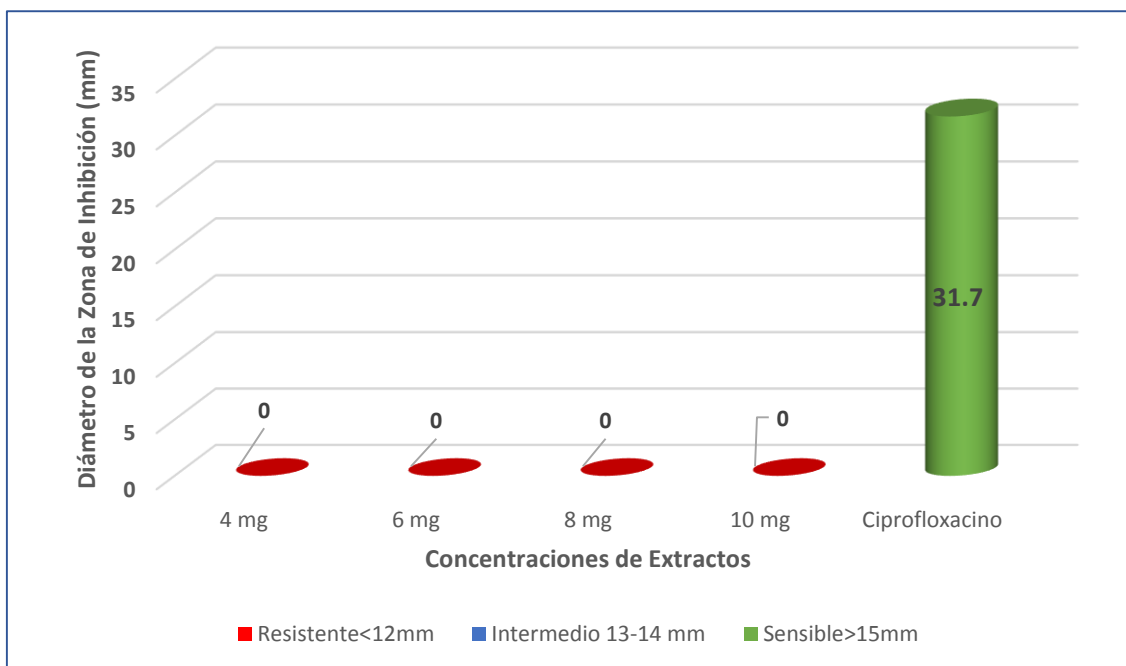
Gráfico N° 10: Categorización del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale*, frente a *E. coli* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N°10, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* y del control positivo (Gentamicina 10 µg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *E. coli*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 15.7 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en todas las concentraciones evaluadas (4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

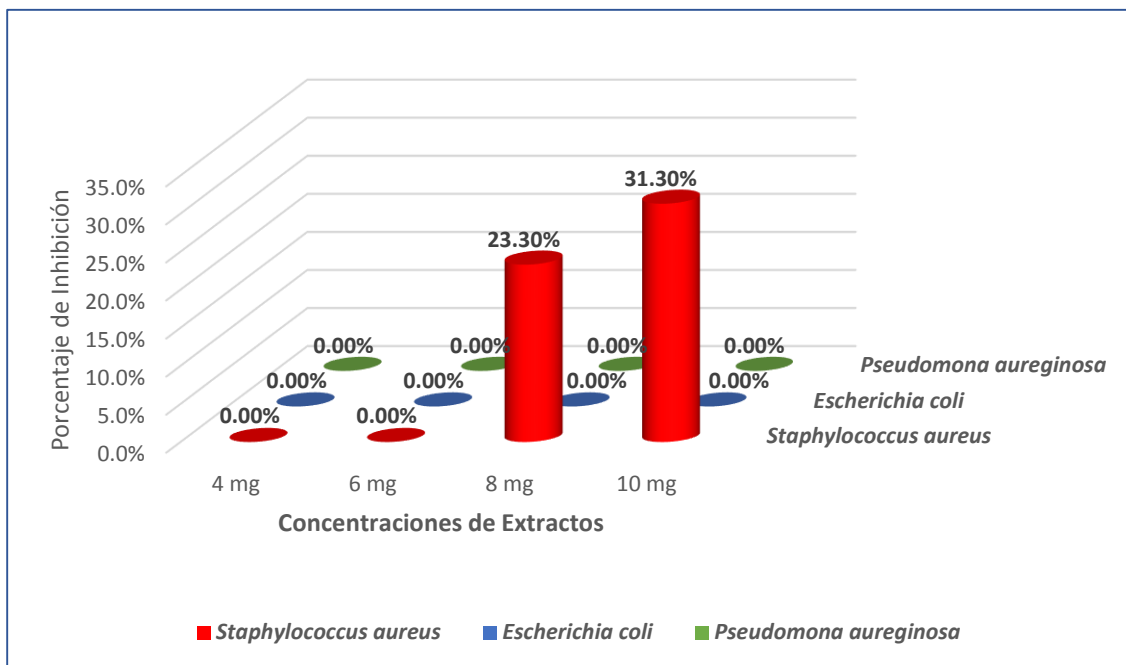
Gráfico N° 11: Categorización del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale*, frente a *P. aeruginosa* según Diámetro de la zona de inhibición.



El gráfico N° 11, muestra la categorización de las diferentes concentraciones del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* y del control positivo (ciprofloxacino 5 µg), respecto al Diámetro de la Zona de Inhibición (DZI) frente a *P. aeruginosa*.

El grupo control positivo obtuvo un diámetro de inhibición de 31.7 mm, lo cual lo categoriza como SENSIBLE según el manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión. Los grupos con las diferentes concentraciones del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale*, obtuvieron valores de DZI de 0.0 mm, en todas las concentraciones evaluadas (4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL), respectivamente, por lo cual se categorizan como RESISTENTE.

GRAFICO N° 12: Actividad antibacteriana de Extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* según Porcentaje de inhibición.



El grafico N° 12, muestra los porcentajes de inhibición del extracto metanólico de la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* en las diferentes concentraciones frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

La actividad antibacteriana se mide principalmente por el porcentaje de inhibición que demuestran los extractos metanólicos a las diversas concentraciones evaluadas. Encontrándose para *S. aureus*, porcentajes de inhibición de 31.30% y 23.30% en las concentraciones de 10 mg/mL y 8 mg/mL respectivamente, siendo considerados como INACTIVO; en la evaluación frente a *E. coli* y *P. aeruginosa* encontraron un porcentaje de inhibición de 0.0% en todas las concentraciones evaluadas, con el cual se obtiene como resultado INACTIVO.

II. DISCUSION

Uno de los grandes retos a los que se enfrentan las unidades de salud a nivel mundial, tiene que ver con el tratamiento y control de las infecciones nosocomiales producidas por bacterias con resistencia o multiresistencia antibiótica. (Barahona *et al.*, 2014; Álvarez *et al.*, 2014; Khan, Ahmad, & Mehboob, 2015). Ante esta situación, es conveniente fomentar la búsqueda de nuevos medicamentos a partir de fuentes naturales, ya que las perspectivas futuras en el uso de las drogas antibióticas de hoy son todavía inciertas. Por ello, la identificación y evaluación de moléculas con actividad biológica, aisladas de fuentes naturales, es cada vez más relevante en los estudios modernos a nivel mundial (Negi, 2012).

En general, las plantas y sus constituyentes ocupan una posición importante en el conocimiento de nuevas sustancias y principios activos (Gurib, 2006). En el mundo, se han desarrollado numerosas investigaciones enfocadas a la búsqueda de nuevos compuestos con propiedades antimicrobianas (Saha & Paul, 2014; Baharudin, Hamid, & Susanti, 2015).

Las especies *C. longa* y *Z. officinale*, se han utilizado desde la antigüedad como condimento, colorante y estimulante aromático (Chairman, Jayamala, Christy, & Singh, 2015), y se le han atribuido propiedades antifúngicas (Al-Daihan *et al.*, 2013), antibacterianas (Rawat & Rawat, 2015), antiparasitarias (Singh, Mehta, Mehta, & Shukla, 2011). Si bien estas especies han sido ampliamente estudiadas por sus propiedades antibacterianas, han sido pobremente caracterizada en el contexto regional (Falco, Martínez, Rodríguez, Núñez, & Sevillano, 2011; García, Olaya, Sierra, & Padilla 2011; Coy & Acosta 2013), y en especial, frente a bacterias intrahospitalarias.

En el presente estudio se evaluó la actividad antibacteriana frente a 3 cepas bacterianas (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*), mediante el método de Difusión en disco “Kirby – Bauer”, previa realización del cálculo del rendimiento, de rizomas de 3 extractos metanólicos (*C. longa*, *Z. officinale* y la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* (1:1)).

Las muestras fueron recolectadas en la localidad de Indiana, ubicada a orillas del río Amazonas, para su posterior identificación en el Herbarium Amazonense de la Universidad

Nacional de la Amazonía Peruana. Una vez identificadas, ambas muestras vegetales fueron procesadas en el Laboratorio de Fitoquímica y Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFBQ) para luego ser llevados al Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias (FIA) donde se realizaron las pruebas de sensibilidad frente a cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Para la preparación de los extractos vegetales, se utilizaron 100 g de rizomas de cada especie, los cuales fueron cortados, molidos y secados a temperatura ambiente. La extracción de los extractos metanólicos, fue mediante la técnica de maceración a una presión atmosférica y temperatura ambiental (37°C). Después de la maceración por una semana, se filtró utilizando papel filtro para concentrarlo en rotavapor a una temperatura de 45 °C, a una presión de 27 mm Hg y a una velocidad de 72 rpm, por espacio de 3 horas obteniendo extractos metanólicos de *C. longa*, *Z. officinale* y la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* (1:1).

Los rizomas de *Z. officinale* mostraron mayor rendimiento en cuanto a la obtención de extractos metanólicos (18.90%; Tabla N° 7), resultado que se diferencia del obtenido por Puente Contreras, E., y Torres Casanova, S. (2018), quienes obtuvieron del extracto etanólico de *C. longa*, un porcentaje de rendimiento mayor que el extracto etanólico de *Z. officinale* (2.52 %).

La finalidad del presente estudio, fue evaluar la actividad antibacteriana de extractos metanólicos de *C. longa*, *Z. officinale* y la mezcla de ambas especies frente a 3 cepas bacterianas (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*), mediante el método de Difusión en disco “Kirby – Bauer” a concentraciones de 10 mg/mL, 8 mg/mL, 6 mg/mL y 4 mg/mL. Para ello se utilizó como fármacos comparativos (controles positivos) a discos de Gentamicina para las cepas de *E. coli* y *S. aureus*, y discos de Ciprofloxacino para la cepa de *P. aeruginosa*.

Respecto a la elección de los discos antibióticos para cada cepa, se realizó ensayos previos (antibiograma) para establecer como control positivo la de mayor sensibilidad (mayor halo de inhibición) de cada cepa en estudio.

En el primer ensayo se empleó 2 discos de sensibilidad (Gentamicina 10 µg y Vancomicina 30 µg) para *S. aureus*, obteniendo halos de inhibición promedio de 29.0 mm (Gentamicina) y 21.0 mm (Vancomicina) (Tabla N° 8). Al respecto, estos resultados tienen cierta relación con lo registrado por Mamani, E. *et al.* (2006), quienes determinaron la sensibilidad de 217 cepas de *S. aureus* frente a la gentamicina (65%) y vancomicina (100%), por otro lado, cabe mencionar que la resistencia se incrementó al paso del tiempo, sin embargo, resultados expuestos por Martínez, A. *et al.* (2017), quienes determinaron la resistencia de 212 cepas aisladas de *S. aureus* frente a un grupo de antibióticos, de las cuales, la gentamicina mostro bajo nivel de resistencia (30,7%).

En el segundo ensayo se empleó 2 discos de sensibilidad (Gentamicina 10 µg y Vancomicina 30 µg) para *E. coli*, obteniendo halos de inhibición de 15.7 mm (Gentamicina) y 6.0 mm (Vancomicina) (Tabla N° 9). Así mismo, estos resultados se contrastan con los resultados obtenidos por Marrero, J. *et al.* (2015) y Treviño, M. *et al.* (2016), pues los autores obtuvieron la menor resistencia de cepas de *E. coli* frente a la gentamicina, con una sensibilidad significativa de 76,50% y 85,10% respectivamente.

En el tercer ensayo, se empleó 4 discos de sensibilidad (Gentamicina 10 µg, Vancomicina 30 µg, Meropenem 10 µg y ciprofloxacino 5 µg) para *P. aeruginosa*, obteniendo halos de inhibición 14.0 mm (Gentamicina), 6.0 mm (vancomicina), 20.0 mm (Meropenem) y 31.7 mm (Ciprofloxacino) (Tabla N° 10). A pesar de los resultados obtenidos por Hernández, A. *et al.* (2018) donde determina que de 32 cepas de *P. aeruginosa*, el ciprofloxacino tiene un porcentaje de resistencia de 84.4%, y según lo referenciado en el Manual de Procedimientos del Instituto Nacional de Salud ⁽¹¹⁷⁾, el halo de inhibición del ciprofloxacino (31.7 mm) obtenido en el ensayo, clasifica a la *P. aeruginosa* como sensible.

Respecto al análisis antibacteriano de los 3 extractos metanólicos de rizomas de *C. longa*, *Z. officinale* y la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* (1:1) a concentraciones de 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, al ser comparados con el fármaco control respectivo e interpretado con el Manual de Procedimientos para la

Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión del Instituto Nacional de Salud, fueron categorizados como RESISTENTES.

En los resultados obtenidos del extracto metanólico de rizomas de *C. longa*, se observó que no logró inhibir el crecimiento bacteriano con ninguna de las 3 cepas en estudio (*S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*), evidenciando diámetros de zona de inhibición (DZI) de 0.0 mm para todas las concentraciones propuestas en la investigación; el cual indica como resultado RESISTENTE, de acuerdo a los criterios de categorización del Manual de Procedimientos para la Prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión, y en comparación a su control positivo, se categoriza como RESISTENTE cuando el halo de inhibición se encuentra menor de 12 mm. Sin embargo, se han encontrado estudios que indican que la *C. longa* presenta actividad antimicrobiana, debida en gran medida a compuestos terpenoides.
(118)

GUTIERREZ, C. y AGUIRRE, Y. (2017), evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *C. longa* frente a *C. albicans*, *S. aureus* y *E. coli*, demostrando que el aceite esencial de la cúrcuma, inhibe el crecimiento *in vitro* de la bacteria *S. aureus*, y *C. albicans*. Sin embargo, no inhibió el crecimiento de *E. coli*, concluyendo que este resultado podría estar relacionado con el hecho de que estos microorganismos no poseen la membrana externa capaz de restringir la penetración de la sustancia química exógena. Al respecto, *PUENTE, E. y TORRES, S. (2018)*, concluyeron que el extracto etanólico de la raíz de la *C. longa* posee efecto antibacteriano sobre el crecimiento de cepas de *S. aureus*. Asimismo, *Rao, N., et al, (2014)* estableció la eficacia del extracto de *C. longa* frente a *S. flexneri*, *C. albicans*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

En la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale* frente a *S. aureus*, se obtuvo ligera inhibición del crecimiento bacteriano, evidenciando diámetros de zona de inhibición (DZI) de 5.0 ± 0.26 mm y 7.0 ± 0.53 mm a las concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL respectivamente. De acuerdo a los criterios de categorización del Manual de Procedimientos para la Prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión, y en comparación a su control positivo, se categoriza como

RESISTENTE cuando el halo de inhibición se encuentra menor de 12 mm. Frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*, evidenció diámetros de zona de inhibición (DZI) de 0.0 mm para todas las concentraciones propuestas en el estudio.

Con estos resultados encontrados en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale* frente a *S. aureus*, se calculó el porcentaje de inhibición para determinar la actividad antibacteriana tomando como referencia el protocolo de estudio del Instituto de Medicina Tradicional (Tabla N° 6) obteniéndose en ambas concentraciones un valor de 17.24% y 24.14% de inhibición, por lo tanto, es considerado en la clasificación de INACTIVO.

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de rizomas de *Z. officinale*, difieren un poco del estudio de *Igwo-Ezikpe et al.* (2013), quienes determinaron el efecto antimicrobiano y de inhibición del crecimiento de diferentes extractos de *Z. officinale* (n-hexano, cloroformo, acetato de etilo, éter de petróleo, butanol, metanol y extracto acuoso) frente a cinco cepas bacterianas y fúngicas patógenas (*S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis*, *C. albicans*), ya que sus resultados de los halos de inhibición de los extractos metanólicos fueron 0.0 mm frente a todas las cepas en estudio. En cambio, en un estudio realizado por *URIBE G., A.* (2017), los extractos etanólicos de *Z. officinale* en concentraciones de 12 mg/mL y 6 mg/mL presentaron halos de inhibición de 10.7 mm y 9.0 mm respectivamente, frente a las mismas bacterias del presente estudio. Además, el estudio de *PUENTE, E.* y *TORRES, S.* (2018) determinaron que la concentración mínima inhibitoria (MIC) del extracto etanólico de la raíz de *Z. officinale* fue 2.34 mg/mL, concluyendo así que posee efecto antibacteriano sobre el crecimiento de cepas de *S. aureus*.

En la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de rizomas de *C. longa* con *Z. officinale* (1:1) frente a las cepas de *E. coli* y *P. aeruginosa* no evidenció inhibición de crecimiento bacteriano. Sin embargo, frente a la cepa de *S. aureus*, se obtuvo inhibición del crecimiento bacteriano, evidenciando diámetros de zona de inhibición (DZI) de 7.0 ± 0.36 mm y 9.0 ± 0.1 mm a las concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL respectivamente. Aunque, de acuerdo a los criterios de categorización del Manual de

Procedimientos para la Prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión, y en comparación a su control positivo, se categoriza como RESISTENTE cuando el halo de inhibición se encuentra menor de 12 mm, por lo tanto, son considerados en la clasificación de INACTIVO, debido a que al calcular el porcentaje de inhibición para determinar la actividad antibacteriana, se obtuvo en ambas concentraciones un valor de 23.30% y 31.30% de inhibición.

Con la combinación de rizomas de ambas especies no se encuentran investigaciones específicas respecto a la actividad antibacteriana, sin embargo, en el estudio de *Singh, R. et al. (2011)*, evaluaron la actividad antihelmíntica de extractos hidroalcohólicos de la combinación de rizomas de *C. longa* y *Z. officinale*, concluyendo que los extractos no sólo paralizaron, sino también mataron las lombrices de tierra y que la actividad antihelmíntica de *Z. officinale* y *C. longa* puede deberse al efecto sinérgico de los fito-constituyentes activos, es decir, alcaloides, saponinas, flavonoides, terpenos, esteroides y otros compuestos presentes en los extractos.

El sustento para la falta de similitud de nuestros resultados con los resultados que fueron reportados en otros estudios, sobre el efecto antibacteriano del extracto metanólico de los rizomas de *C. longa* y *Z. officinale* sobre cepas bacterianas, podría deberse a la cantidad de metabolitos presentes en las plantas, los cuales dependen de la zona de cultivo, de la variedad y las condiciones climatológicas a las que estuvieron expuestas antes de su recolección. Por tal motivo, se sugiere utilizar varios solventes (n-hexano, cloroformo, acetato de etilo, éter de petróleo o butanol), para poder extraer la máxima concentración de metabolitos secundarios que las plantas contienen. ⁽¹¹⁹⁾

III. CONCLUSIONES

- Los rizomas de *Z. officinale* y la combinación de *C. longa* con *Z. officinale* mostraron mayor rendimiento en la producción del extracto metanólico, con 18.90% y 16.54% respectivamente. Mientras que los rizomas de *C. longa* mostraron el menor rendimiento con 8.97%.
- El extracto metanólico de *C. longa* a concentraciones de 4 mg/mL, 6 mg/mL, 8 mg/mL y 10 mg/mL obtuvo un halo de inhibición de 0.0 mm frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, clasificándolo como inactivo frente a estas especies bacterianas, en comparación a los controles positivos (gentamicina 10 µg y ciproloxacino 5 µg).
- El extracto metanólico de *Z. officinale* a concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL obtuvo un halo de inhibición de 5.0 mm y 7.0 mm, respectivamente frente a *S. aureus*, mientras que frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*, el halo de inhibición fue de 0,0 mm, clasificándolo como inactivo, en comparación a los controles positivos (gentamicina 10 µg y ciproloxacino 5 µg).
- El extracto metanólico de *C. longa con Z. officinale* a concentraciones de 8 mg/mL y 10 mg/mL obtuvo un halo de inhibición de 7.0 mm y 9.0 mm, respectivamente frente a *S. aureus*, mientras que frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*, el halo de inhibición fue de 0,0 mm, clasificándolo como inactivo, en comparación a los controles positivos (gentamicina 10 µg y ciproloxacino 5 µg).

IV. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con la investigación de estas especies vegetales, estudiando otras partes de la planta con la finalidad de incrementar el conocimiento sobre su actividad antimicrobiana.
- Se sugiere la continuación de la investigación de la familia *Zingiberaceae*, utilizando diferentes tipos de solventes como n-hexano, cloroformo, acetato de etilo, éter de petróleo, butanol, etc., con el fin de incrementar conocimientos sobre la extracción máxima de metabolitos secundarios que las especies de esta familia pueden contener.
- Se recomienda realizar estudios sobre mezclas de plantas medicinales con la finalidad de determinar sinergismos entre componentes de los extractos vegetales, que sean beneficiosos terapéuticamente.
- Se recomienda realizar el tamizaje fitoquímico de *C. longa* y *Z. officinale* para determinar los principales metabolitos secundarios de estas especies vegetales.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. WHO. Medicina Tradicional. Organización Mundial de la Salud. 2017. PAGINA WEB: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/
2. WHO (1996), “Traditional Medicine” Fact Sheet N° 134, September 1996. Página Web: <http://www.nzdl.org/gsdmod?e=d-00000-00---off-0cdl--00-0----0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-en-50---20-about---00-0-1-00-0--4---0-0-11-10-OutfZz-8-00&cl=CL1.242&d=HASH017a3b463ffbfce1010e805c>=1>
3. Koehn, F. E., et al. “The evolving role of natural products in drug discovery” *Nature Drug Discovery*, 4, 2005.
4. Instituto Nacional de Salud. Informe de la resistencia antimicrobiana en Hospitales del Perú: Ministerio de Salud; 2008.
5. Araujo J, Salas R, 2008. Actividad Antimicrobiana de Plantas. Revista Científica de La Universidad Científica del Sur, Lima - Perú.
6. WHO. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 – 2023. Organización Mundial de la Salud. 2013. PAGINA WEB: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
7. Uribe Gonzales, Astrid, S. 2017. “Actividad antibacteriana *in vitro* de los rizomas de *Zingiber officinale* frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*”. Tesis de Pre-grado. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

8. Protocolo: Estudio de prevalencia de infecciones intrahospitalarias. Dirección General de Epidemiología. Ministerio de Salud. Lima – Peru. 2014.
9. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD: “Informe de la Resistencia Antibacteriana en bacterias de origen hospitalario”. 2012. Página web: www.ins.gob.pe/.../0/.../INFORME_RESISTENCIA_ANTIMICROBIANA_2012.pdf
10. Quispe Peralta, Arturo. “Uso apropiado de antibióticos y resistencia bacteriana”. ReAct Latinoamerica. Marzo 2014. Página web: <https://www.reactgroup.org/.../Uso-Apropiado-de-Antibioticos-y-Resistencia-Bacteria...>
11. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union EARS - Net surveillance data. November 2016. Página web: <http://ecdc.europa.eu/en/eaad/Documents/antibiotics-EARSNet-summary-2016.pdf>
12. Ministerio de Salud. Información estadística: Principales Causas de Morbilidad en consulta externa. Página web: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?00>
13. Delzell JE, Lefevre LM. Urinary Tract Infections. American Family Physician 61:713-721, Feb 2010.
14. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, et al. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Infectious Diseases Society of America (IDSA). Clin Infect Dis. 1999;29(4):745-758.
15. Quispe Z. Indicadores epidemiológicos de referencia de infecciones intrahospitalarias - infecciones asociadas a la atención de la salud, Perú-2016. Pagina web: www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/13.pdf

- 16.** Eddy Santiago Sánchez Morales. Tesis: “Factores Asociados a infecciones del tracto urinario recurrente en los pacientes del Hospital EsSalud III Iquitos en el años 2016”. Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 2017. PAGINA WEB: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5271/Eddy_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- 17.** L. Ordoñez. Situación epidemiológica de las enfermedades diarreicas agudas (EDA) en el Perú 2017. Página web: www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/52.pdf
- 18.** Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades – MINSA. Episodios de las enfermedades diarreicas agudas por DISAS/DIRESAS 2015 – 2016. Página Web: www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2016/52.pdf
- 19.** Salazar E, Adachi JA, Wang Y, Jian ZD, Mathewson JJ, DuPont HL. Acute versus persistente diarrhea among children in Lima, Perú: difference in etiologic agents. IDSA Abstract. Denver, Colorado: 1998, marzo 19. Sección B.p.5
- 20.** Ministerio de Salud - Oficina General de Tecnologías de Información. Principales Causas de Morbilidad en consulta externa de Establecimientos MINSA y Gobiernos Regionales 2014. Pagina web: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?00>
- 21.** Garcia C, Astocondor L, Reyes J, Carvajal LP, Arias CA, Seas C. Community-Associated MRSA Infection in Remote Amazon Basin Area, Peru. Emerg Infect Dis. 2016;22(5):921-2. Pagina web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4861527/>

22. Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN (2004). Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagnost Microbiol Infect Dis*, 50 (1): 59 – 69.
23. Luján DA, Ibarra JO, Mamani E. Resistencia a los antibióticos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital universitario en Lima, Perú. *Rev Biomed* 2008; 19 (3): 156-60.
24. Organización Mundial de la Salud. Una estrategia mundial para combatir las enfermedades infecciosas. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1994.
25. Pajares, J. A., Matos, A. L., Lezama, J. A., & Barragan, J. A. (2017). Actividad antibacteriana in vitro de las nanopartículas del rizoma de *Curcuma longa* sobre el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* CMH-1. *REVISTA REBIOL*, 36(1), 45-50.
26. Méndez Álvarez, N., Angulo Ortiz, A., & Contreras Martínez, O. (2016). Actividad antibacteriana in vitro de *Curcuma longa* (Zingiberaceae) frente a bacterias nosocomiales en Montería, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 64(3).
27. Gupta, A., Mahajan, S., & Sharma, R. (2015). Evaluation of antimicrobial activity of *Curcuma longa* rhizome extract against *Staphylococcus aureus*. *Biotechnology reports*, 6, 51-55.
28. Chakraborty, B., Nath, A., Saikia, H., & Sengupta, M. (2014). Bactericidal activity of selected medicinal plants against multidrug resistant bacterial strains from clinical isolates. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S435-S441.
29. Torres, E., Moreno, R., Tamayo, Y., Hermosilla, R., & Guillén, Z. (2014). Estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa* L. *Química Viva*, 13(2).

- 30.** Rao, N., & Mittal, S. (2014). An in vitro evaluation of the antimicrobial activity of *Curcuma longa* against selected pathogenic microorganisms. *Research Journal of Science and Technology*, 6(2), 71.
- 31.** Jami, G., & Alexandra, S. (2017). *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* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- 32.** Ayala Almeida, D. C. (2016). *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* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- 33.** Pelaez Loyola, L. M., & Zavala Obando, S. M. (2016). Efecto del extracto etanólico de los rizomas de *Zingiber officinale* (jengibre) en el crecimiento de cepas patógenas de *Streptococcus pyogenes*.
- 34.** Islam, K., Rowsni, AA, Khan, MM, y Kabir, MS (2014). La actividad antimicrobiana de jengibre (*Zingiber officinale*) extrae contra bacterias patógenas transmitidas por los alimentos. *Revista Internacional de Ciencia, Medio Ambiente y Tecnología* , 3 (3), 867-871.
- 35.** Igwo-Ezikpe, MN, Imaga, NOA, Ogbunugafor, HA, Osuntoki, AA, Adeleye, S., y Ipadeola, Research Paper AO Encuadre de cuerpo entero. 1Department of Biochemistry, Faculty of Basic Medical Sciences, College of Medicine, University of Lagos, P.M.B. 12003, Lagos, Nigeria.
- 36.** Al-Daihan, S., Al-Faham, M., Al-shawi, N., Almayman, R., Brnawi, A., y shafi Bhat, R. (2013). La actividad antibacteriana y tamizaje fitoquímico de algunas plantas medicinales de uso común en Arabia Saudita contra microorganismos patógenos seleccionados. *Revista de la Universidad Rey Saud-Science*.

37. Callejas Vázquez, S. M., Evodia, S. S. S., Ramirez García, J. J., María, J. V. J., & Rodrigo, I. V. XXVI CONGRESO DE INVESTIGACIÓN CUAM-ACMor Actividad antimicrobiana de extractos obtenidos de plantas.
38. Singh, R., Mehta, A., Mehta, P., & Shukla, K. (2011). Anthelmintic activity of rhizome extracts of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* (Zingiberaceae). *Int J pharm pharm Sci*, 3(2), 236-237.
39. PAGINA WEB:
<http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/floba/flora%2018.pdf>
40. PAGINA WEB:
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.739.503&rep=rep1&type=pdf>
41. VARGAS AGUILAR, VANNESA NELLY. “EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO DE *Zingiber officinale* (jengibre) OBTENIDO POR EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS”. Universidad Católica de Santa Maria, Facultad de Ciencias Farmaceuticas Bioquimicas y Biotecnologicas, Arequipa – Peru 2014. PAGINA WEB: <https://core.ac.uk/download/pdf/54220188.pdf>
42. Kuklinski C. (2000) *Farmacognosia, Estudio de Las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural*. Barcelona, España: Omega, S.A.
43. LEON, J., *Fundamentos Botánicos de los cultivos Tropicales*. Editorial IICA, 1968, Lima – Perú.
44. Aguay, M.P. (2012). *Evaluación De La Actividad Antiinflamatoria De La Mezcla De Extractos Fluidos de jengibre (Zingiber officinale), tomillo (Thymus vulgaris L.), romero (Rosmarinus officinale) mediante el test de edema inducido en ratas (Rattus novergicus)*. (Tesis para optar el Título Profesional). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador.

45. Ravindran, P.N., Nirmal, B.K. (2004) *Ginger: The Genus Zingiber*. (1ª ed.). USA: CRC Press. PAGINA WEB: <https://core.ac.uk/download/pdf/54220188.pdf>
46. INCA TORRES, ALBERTO. “ELABORACIÓN DE UN FITOFÁRMACO SEMISÓLIDO DE ACCIÓN ADELGAZANTE CON DIFERENTES DOSIS A BASE DE ALCACHOFA (*Cynara cardunculus var scolymus*), JENGIBRE (*Zingiber officinale*) Y CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis*) ADMINISTRADO A PERSONAS PARA COMPARAR SU EFICACIA.” Tesis de Grado. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Escuela de Farmacia y Bioquímica, 2012
47. Enriquez A.M., Prieto, E.P., De Los Rios, E. (2008) Estudio Farmacognóstico y Fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale* roscoe "jengibre" de la ciudad de Chanchamayo - Región Junín. Perú. *Rev. Med. Vallejana*, 5 (1), 50-64.
48. Cañigüeral, S. (febrero 2003). Jengibre, *Zingiber officinalis* Roscoe (Zingiberaceas). *Farmacia Práctica. Plantas Medicinales Y Drogas Vegetales*, 22 (2) ,167-168.
49. GHOSH A, BANERJEE S, MULLICK H, BANERJEE J. *Zingiber officinale*: a natural gold international Journal of Pharma and Bio Sciences. 2011. PAGINA WEB: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1480>
50. KUMAR R, KUMAR A, KUMAR A. Pharmacological Activity of *Zingiber officinale*. International Journal of Pharmaceutical and chemical Sciences. 2012. PAGINA WEB: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1480>
51. Reseña de congresos. X Jornadas de Fitoterapia y etnobotánica. Revista de Fitoterapia [Internet]. 2007 [citado 27 Ene 2015]; 7(1):83-84. Disponible en: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RF7-1-Congresos.pdf>

- 52.** LACAZE, DIDIER. Manual de Cultivo y Uso de Plantas Medicinales en Pastaza (Ecuador). 2006. PAGINA WEB: www.centrosachawarmi.org/.../lacaze_2006-manual_de_cultivo_y_uso_pastaza.pdf
- 53.** Cáceres, A. (1,999). Plantas de Uso Medicinal en Guatemala, 2da. Edición, Editorial Universitaria, USAC. Págs. 156-160. PAGINA WEB: <http://www.biblio3.url.edu.gt/Tesario/2010/06/17/Ramos-Estuardo.pdf>
- 54.** Manual de Fitoprotección y Análisis de Plaguicidas. Cultivo: Plantas medicinales y aromáticas. Cúrcuma (*Cúrcuma longa*), estevia (*Stevia rebaudiana*), jengibre (*Zingiber officinale*), anamú (*Petiveria alliacea*), limonaria (*Cymbopogon citratos*), ruda (*Ruta graveolens*). Fundación Chemonics Colombia; 2003, Pág.11.
- 55.** Manual de Plantas medicinales y aromáticas (2,003), extraído el 16 de agosto del 2,007. PAGINA WEB: <http://www.fundacad.org.co/uploads/ManualCultivosPlantasMedicinalesyArom%C3%A1ticas.pdf>
- 56.** Benavides, A.; Hernández, R. E.; Ramirez, H. y Sandoval, A. 2010. *Tratado de Botánica Económica Moderna*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah., México. ISBN: 968844-050-7. PAGINA WEB: <http://www.eprints.ucm.es/27836/1/CÚRCUMA%20%20Paula%20Saiz.pdf>
- 57.** Montaña, C. M. y Montes L. M. 2004. Evaluación sistémica de las potencialidades empresariales a partir de la cúrcuma longa en el Departamento de Caldas. Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales. PAGINA WEB: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1091/1/clauidiamarcelamontanocuartas.2004.pdf>
- 58.** Martínez, J.; Bernal, H.; Cáceres, A. (2,000), Fundamentos de Agro tecnología de cultivos de plantas medicinales de Ibero América, Santa Fè de Bogota. Col. Edit. Bogotá. PAGINA WEB: <http://www.biblio3.url.edu.gt/Tesario/2010/06/17/Ramos-Estuardo.pdf>

- 59.** Blumenthal, M.; Goldberg, A. y Brinckmann, J. 2000. (Eds.). *Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs*. Austin, TX: American Botanical Council; Newton, MA: Integrative Medicine Communications. PAGINA WEB: <http://www.eprints.ucm.es/27836/1/CÚRCUMA%20%20Paula%20Saiz.pdf>
- 60.** Vistel Vigo, M.; Ríos Silveira, I.; Freire González, A. y Silveira García, D. 2003. *Curcuma longa* L., un estudio integrador. *Infogest*.
- 61.** Taylor, R. y Leonard M. 2011. Curcumin for Inflammatory Bowel Disease: A Review of Human Studies. *Alternative Medicine Review*, 16(2): 152-156. <http://www.eprints.ucm.es/27836/1/CÚRCUMA%20%20Paula%20Saiz.pdf>
- 62.** Witkin, J. M. y Li, X. 2013. Curcumin, an active constituent [*sic*] of the ancient medicinal herb *Curcuma longa* L.: some uses and the establishment and biological basis of medical efficacy. *CNS Neurol Disord Drug Targets* , 12(4):1-11. <http://www.eprints.ucm.es/27836/1/CÚRCUMA%20%20Paula%20Saiz.pdf>
- 63.** Mejía, Kember; Rengifo, Eisa. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. AGENCIA ESPAÑOLA DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL (AECI) y el INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONÍA PERUANA (IIAP). Segunda edición corregida y aumentada: setiembre 2000.
- 64.** Eid, S. Y.; El-Readi, M. Z.; Winka, M. Digitonin synergistically enhances the cytotoxicity of plant secondary metabolites in cancer cells. *Phytomedicine* 2012, 19, 1307. [CrossRef] [PubMed]
- 65.** PAGINA WEB: : <https://es.scribd.com/doc/64202266/SINERGISMO-practica-4pre>
- 66.** Fabricant, D. S.; Farnsworth, N. R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* 2001, 109, 69. [CrossRef] [PubMed]

- 67.** Balunas, M. J.; Kinghorn, D. Drug discovery from medicinal plants. Life Sciences 2005, 78, 431. [CrossRef] [PubMed]
- 68.** Casanova, L. M.; Costa, S. S. INTERACCIONES SINERGICAS EN PRODUCTOS NATURALES: POTENCIAL TERAPEUTICO Y DESAFIOS. Rev. Virtual Quimica 2017, 9 (2), 575 – 595. PAGINA WEB: <http://rvq.sbq.org.br/imagebank/pdf/v9n2a09.pdf>
- 69.** Wagner, H.; Ulrich-Merzenich, G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Phytomedicine 2009, 16, 97. [CrossRef] [PubMed]
- 70.** Hostettmann K. 1998. Strategy for the biological and chemical evaluation of plant extracts. Pure Appl. Chem., Vol. 70, No. 11, pp. 2122.
- 71.** Fredy Pérez Azahuanche , Fernando Rodríguez Avalos , María Elena León Marrou , Gonzalo Malca García. MEZCLA DE EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES. 2010. PAGINA WEB: http://www.researchgate.net/publication/314212230_Mezcla_de_extractos_de_plantas_medicinales_sinergismo_o_reaccion_quimica
- 72.** PAGINA WEB: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>
- 73.** JAWETZ E, MELNICK J, ADELBERG E. Microbiologia Medica. 14:9-24
- 74.** MALACHOWA, Natalia. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. Cellular and Molecular Life Sciences (USA).vol.67. pp.3057-3071. Abril.2010. PAGINA WEB: <http://www.dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/721/1/56T00239.pdf>

75. DAN Yao. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates causing skin and soft tissue infections (SSTIs). BMC Infectious Diseases (China).vol.10. pp.133. 2010.
PAGINA WEB: <http://www.dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/721/1/56T00239.pdf>

76. VERONICA, SEIJA. Cocos Gram Positivos: Aspectos Practicos. 2002. PAGINA WEB: www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2019.pdf

77. TORRES, CARMEN. Lectura interpretada del antibiograma de cocos Gram positivos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (España).vol.28(8). pp.541–553. 2010.

78. Chambers H. Methicilin Resistance in Sthaphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. Clin.Microbiol.Rev. 1997. Vol.10. Pag.781-791.
PAGINA WEB: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>

79. Prieto J y Gomez-Lus ML. Género *Staphylococcus*. Microbiología Médica. Garcia-Rodriguez, Picazo. Pag 179-191. 1996. Editorial Doyma. PAGINA WEB: : <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>

80. Waldvogel FA.. *Staphylococcus aureus*. Mandel, Douglas, Bennet Principles and Practice of Infectious diseases.. 2000. Ed WB Saunders. PAGINA WEB: : <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>

81. BUSTOS Jaime. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Revista Biomédica (México).vol.17. pp.287-305. Noviembre.2006.

82. PAVA ANGEL, TATIANA. “ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE *Allium sativum* Y *Zingiber officinale* SOBRE MICROORGANISMOS

DE IMPORTANCIA EN PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DE CAVIDAD ORAL”. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias de Bacteriología. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D. C. – Colombia, 2016. PAGINA WEB: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/20405/PavaAngelTatiana2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

83. Sheagren J. and Schaberg D. Staphylococci. En Infectious Diseases. Gorbach, Barlett and Blacklow. Pag.1697-1703. 1998. Ed WB Saunders. PAGINA WEB: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>

84. Kasper Dennis L. Braunwald E. Fauci A.S. Hauser S.L. Longo D.L. Jameson J.L. Isselbacher. Eds. HARRISON Principios de medicina interna. 16ª Edición. Sección 5.

85. AC Gómez, C Pérez, FL Blanco. Infecciones de piel y tejidos blandos. En: JA. García-Rodríguez y JJ Picazo. Microbiología Medica. Mosby/Doyma Libros S.A. editores. Madrid-España. 1999. Pp 213-225. PAGINA WEB: www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Infeccionesdepielypartesblandas.pdf

86. MN Swartz. Infecciones de piel y partes blandas. En: G. Mandell, JE Bennett, R Dolin. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. Editorial Médica Panamericana, BA. 5ta. Edición. 2002. Pp 1258-1304. PAGINA WEB: www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Infeccionesdepielypartesblandas.pdf

87. Del Rio A, Cervera C, Moreno A, Moreillon P, Miró JM. Patients at risk of complications of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. Clin Infect Dis. 2009; 48 Suppl 4: S246-253. PAGINA WEB: <https://revistas.upb.edu.co/index.php/Medicina/article/viewFile/5772/5338>

88. Thwaites GE, Edgeworth JD, Gkrania-Klotsas E, Kirby A, Tilley R, Török ME, *et al.* Clinical management of *Staphylococcus aureus* bacteraemia. Lancet Infect Dis. 2011;

<https://revistas.upb.edu.co/index.php/Medicina/article/viewFile/5772/5338>

89. HUGUET José. Determinación de factores de virulencia asociados a *Escherichia coli* enterohemorrágica en cepas peruanas aisladas entre 1999-2001. Revista Peruana Medicina Experimental (Perú). vol. 19(2). pp. 1-5. 2002.

90. VIZCAINA, Candela. *Escherichia coli*: características generales, taxonomía y cepas virulentas. PAGINA WEB: <http://www.unlugarecologico.com>

91. RODRÍGUEZ Angeles. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Publica México (México). vol.44(5). pp.464-475. 2002.

92. CANET, Juan José. *Escherichia coli*: características, patogenicidad y prevención. PAGINA WEB: www.betelgeux.es/blog/.../escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion.

93. Blanco J, Blanco M, Blanco JE, Mora A, Alonso MP, Gonzalez EA, Bernardez MI. Enterobacterias: características generales. Genero *Escherichia* In: Manual de Microbiología Veterinaria, Vadillo S, Piriz S, Mateos E, Eds., McGraw-Hill Interamericana España 2002.

94. Johnson JR, Kuskowski MA, O'Bryan TT, Maslow JN. Epidemiological correlates of virulence genotype and phylogenetic background among *Escherichia coli* blood isolates from adults with diverse-source bacteremia. J Infect Dis. 2002b, 15: 1439-1447.

95. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. Nature 2004, 2:123-140.

96. Russo TA, Johnson JR. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. Microbes and Infection 2003, 5: 449-456.

- 97.** Ana Elvira Farfán-García, Sandra Catherine Ariza-Rojas, Fabiola Andrea Vargas-Cárdenas y Lizeth Viviana Vargas-Remolina. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Artículo científico. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Santander – UDES. Bucaramanga – Colombia.2016. PAGINA WEB: www.scielo.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf
- 98.** Molina Lopez, José; Eslava Campos, Carlos. *Escherichia coli* diarrogénica. Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional Autónoma de México. 2017. PAGINA WEB: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>
- 99.** Johnson JR. Evolution of pathogenic *Escherichia coli*. In: *Escherichia coli: Virulence mechanisms of a versatile pathogen*. Donnenberg MS, Ed. Elsevier Science Inc. USA 2002a
- 100.** Mandell, G., B. JE. "Principles and Practice of Infectious Diseases " 2005.
- 101.** Theresa J. Ochoa Woodell. Diarrea producida por *Escherichia coli*. Instituto de Medicina Tropical. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2006. PAGINA WEB: www.sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/SPEIT/2006_n2/pdf/a03.pdf
- 102.** Jetzamin Gutierrez Muñoz. Meningitis Neonatal: Importancia del diagnóstico y la prevención para mejorar el pronóstico. Revista de enfermedades infecciosas en pediatría. 2012. PAGINA WEB: www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2012/eip123a.pdf
- 103.** Jawetz, Melenick y Adelberg. Microbiología Médica Editorial Manual Moderno. 2005.
- 104.** Kiska DL, Gilligan PH (1999). *Pseudomonas*. En: Murray PR, Ed. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington, DC: ASM Press; pp: 517.

105. Mandell G. L., Benett J. E., Dolin R. Enfermedades Infecciosas. Principios y Practica. 7° Edición. Editorial Elseiver. 2010.

106. Morrison, A., & Wenzel, R. (1984). Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*, 6:S627-S642.

107. Sanfrod P. Jay. Enterobacterias. Enfermedades infecciosas principios y práctica. 5° edición. Buenos Aires, Argentina. Medica Panamericana 2000.

108. Tato M, Valverde A, Coque TM, Canton R (2006). *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente productora de PER-1 en España. *Enfermedades Infecciosas Microbiol. Clin.* Pp: 24(7): 472.

109. Yan. J.Y. Hsueh P, Y, W (2002). Metallo- B- Lactamasa in Clinical *Pseudomona* Isolates in Taiwan VIM – 3^a novel variant of the VIN- 2, enzyme antimicrob agentes Chemother, pp : 45, 2224 – 2228.

110. Suárez Carlos José, Kattán Nicolas, Guzman Ana María, Villegas María Virginia (2006). Mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su Prevención y Control. *Infecto*, 10 (2): 85

111. Ibañez A, Fález Y , Martín E , Santa María A, Rueda I (2004) , otros – Incidencia y Mecanismos de Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a Carbapenemas. Hospital Materno Infantil de Málaga – España.

112. Toleman M, Simm A, Murphy T, Gales A, Biedenbach D, Jones R (2002), *et al.* Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-β-lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Antimicrob Chemother*, pp: 50: 673-9.

113.Jordi Vila Francesc Marco (2002) - Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gram negativos no fermentadores - *Enferm Infecc Microbiol Clin*.pp: 20:304-12.

114.Kiska DL, Gilligan PH (1999). *Pseudomonas*. En: Murray PR, Ed. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington, DC: ASM Press; pp: 517.

115.Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. *Pseudomonas* y microorganismos relacionados. En: Elsevier, editor. Medical Microbiology. Edición Española. 4ª ed. España: Elsevier España, S.A.; 2003.

116.Prutit BA, Manus AT. 1998. Kim SH, Goodwing CW. 1998. Burn Wound Infections: Current Status. *World J. Surg.* 22: 135-145.

117. Instituto Nacional de Salud. “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión”. Ministerio de Salud. Lima – 2002. Página web: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%2520sensibilidad%25202.pdf>

118.Maguna, F. y Col. (2006). Actividad antimicrobiana de un grupo de terpenoides. Argentina. Universidad Nacional del Nordeste Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2006. Cdte Fernandez 355, CP 3700, Saenz Peña, Argentina. PAGINA WEB: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pdf>

119.KOBAYASHI K. (2004). Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. *Weed Biol. Management.*, 4; 1-7.

ANEXOS

Anexo N° 1. Curcuma longa



Foto 1 y 2: Rizomas de *Curcuma longa*

Anexo N° 2. Zingiber officinale



Foto 3 y 4: Rizomas de *Zingiber officinale*

Anexo N° 3. Constancia de Identificación botánica.



Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense – AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO

CONSTANCIA N° 009-2018-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de La Universidad Nacional De La Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas presentadas por los señores **JOSE LUIS PAREDES PAREDES** y **ERICK DAVID VASQUEZ MORA**, Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, pertenecen a la tesis titulada: "Estudio comparativo de la actividad antibacteriana *in vitro* de *Curcuma longa* y *Zingiber officinale* frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*. Iquitos, 2018"; las cuales fueron verificadas y determinadas en este Herbarium Amazonense-AMAZ, CIRNA-UNAP, como sigue:

N°	FAMILIA	GENERO	NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN
1	ZINGIBERACEAE	<i>Curcuma</i>	<i>Curcuma longa</i> L.	"guisador"
2	ZINGIBERACEAE	<i>Zingiber</i>	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	"kion"

Se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estimen conveniente.

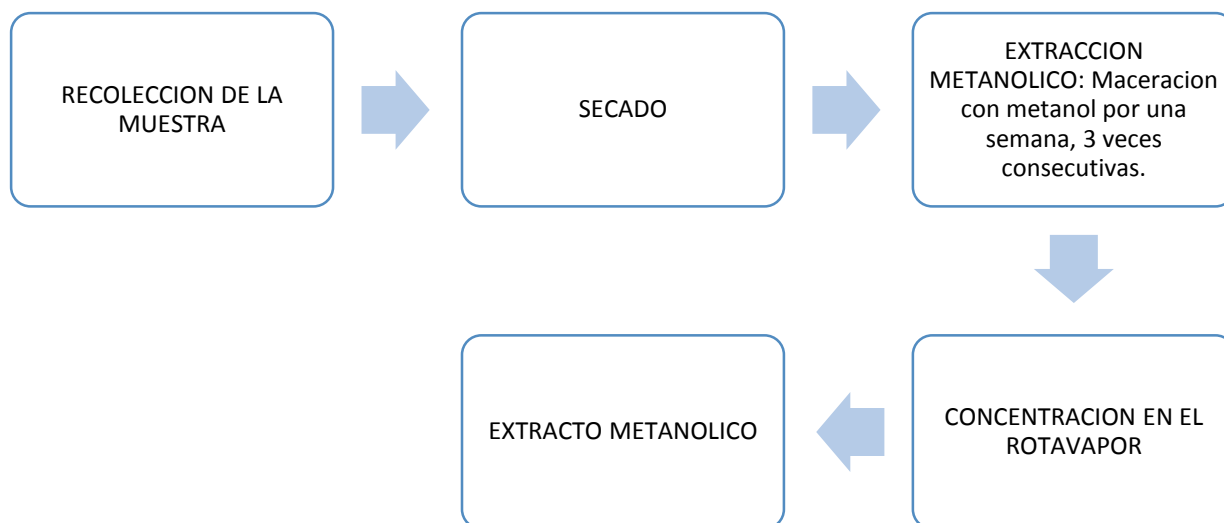
Atentamente,


Blgo. Richard J. Huaranca Acostupa M.Sc.
Coordinador del Herbarium AMAZ
CIRNA – UNAP



OBTENCION DE EXTRACTOS METANOLICOS

Anexo N° 4. ESQUEMA DE LA OBTENCION DEL EXTRACTO METANOLICO DE *Cúrcuma longa* Y *Zingiber officinale*.



Anexo N° 5. RECOLECCION Y SECADO DE RIZOMAS DE *Cúrcuma longa* Y *Zingiber officinale*.



Anexo N° 6. MACERACION DE LAS MUESTRAS DE *Cúrcuma longa*, *Zingiber officinale* Y *Cúrcuma longa* + *Zingiber officinale* (1:1).

Foto 5. Muestras secas y trituradas

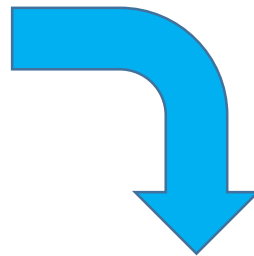


Foto 6. Metanol



Foto 7. Maceración en metanol



Anexo N° 7. FILTRACION Y CONCENTRACION DE LAS MUESTRAS

Foto 8. Filtración de muestras



Foto 9. Muestra filtrada de *C. longa*.

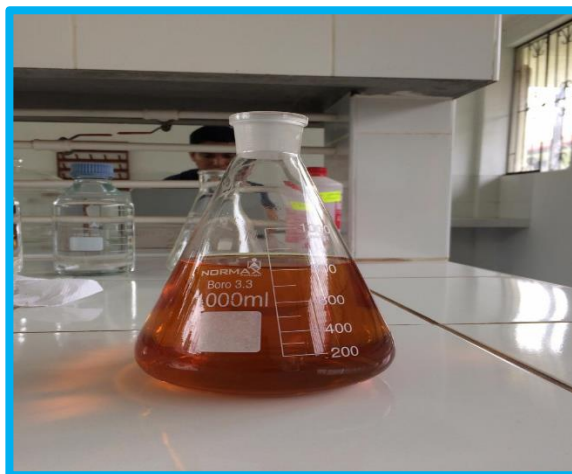


Foto 10. Muestra filtrada *Z. officinale* + *C. longa*

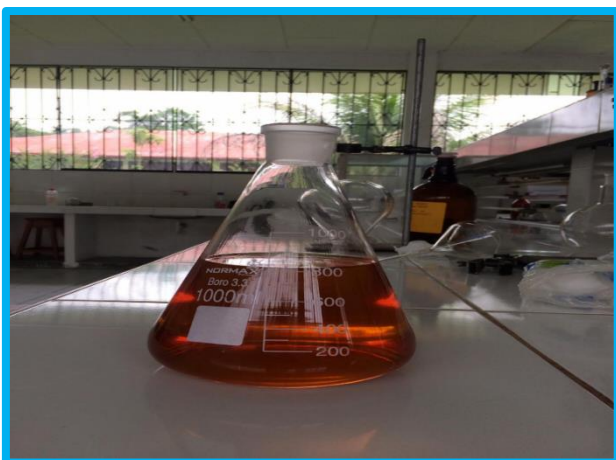


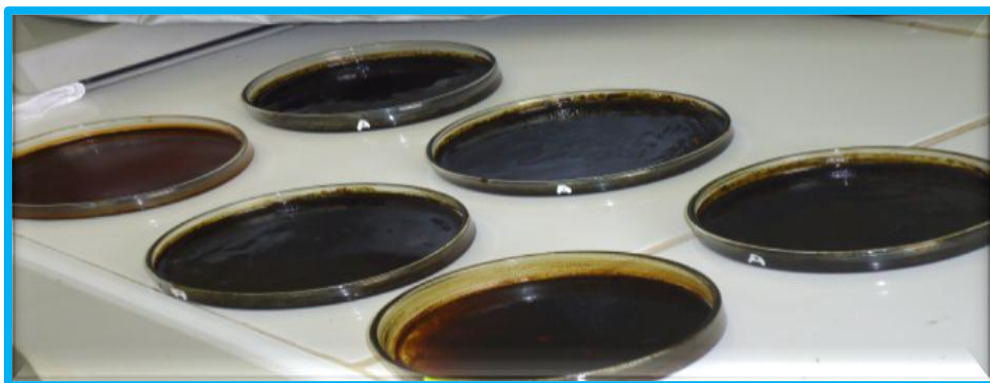
Foto 11. Muestra filtrada de *Z. officinale*



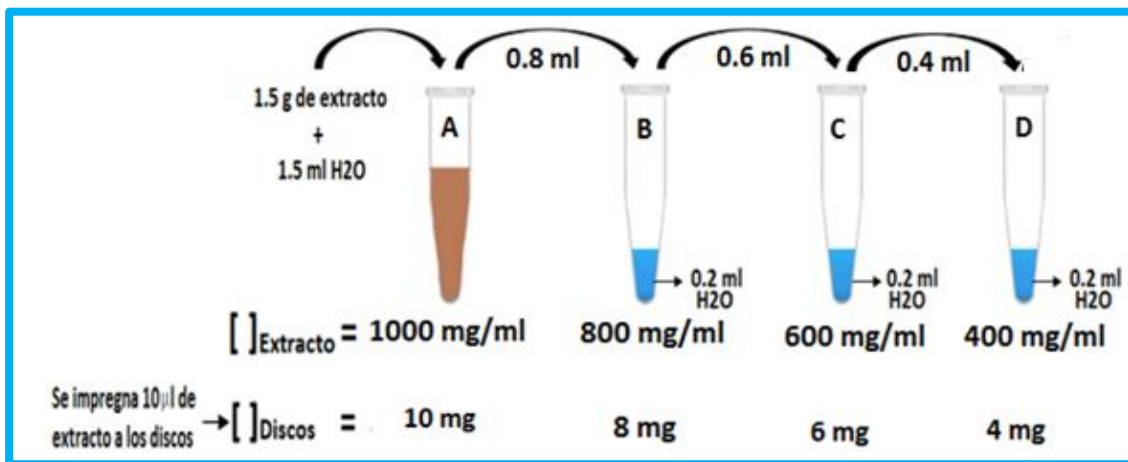
Foto 12. Concentración de las muestras en el rotavapor



Anexo 8. EXTRACTOS METANOLICOS



Anexo 9. DILUCION DE EXTRACTO METANOLICO Y OBTENCION DE LAS CUATRO CONCENTRACIONES



Anexo 10. EVALUACION Y LECTURA DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Foto 13. Cepas bacterianas utilizadas en el estudio



Foto 14. Aplicación de los discos



Foto 15. Resultados de discos antibióticos (Control positivo). *Pseudomona aeruginosa*. Ciprofloxacino DZI: 31.7 mm, Gentamicina DZI: 13 mm, Meropenem DZI: 20 mm y Vancomicina DZI: 0.0 mm.



Foto 16. Resultados de discos antibióticos (Control positivo). *Escherichia coli*. Gentamicina DZI: 10 mm, Vancomicina DZI: 0.0 mm

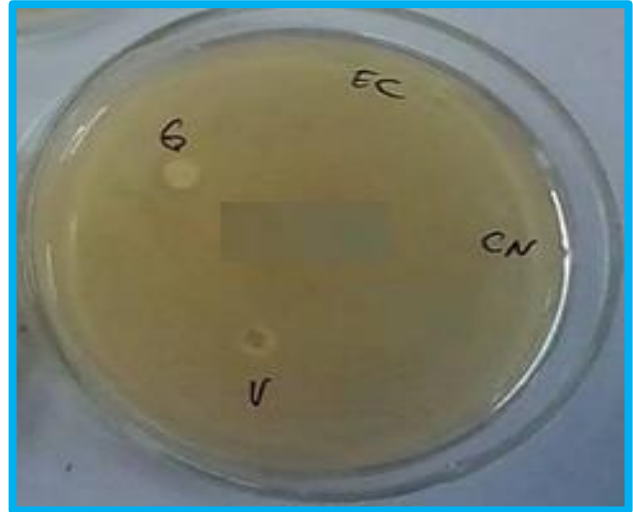


Foto 17. Resultados de discos antibióticos (Control positivo). *Staphylococcus aureus*. Gentamicina DZI: 29 mm, Vancomicina DZI: 20 mm

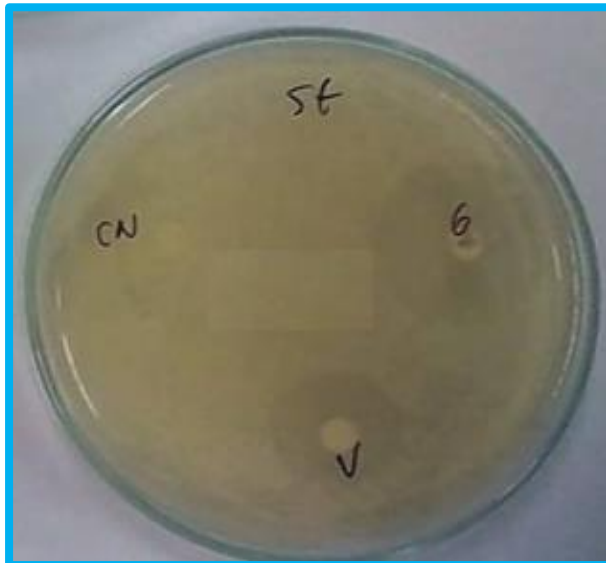


Foto 18. Resultados de extractos metanólicos de *cúrcuma longa*. *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

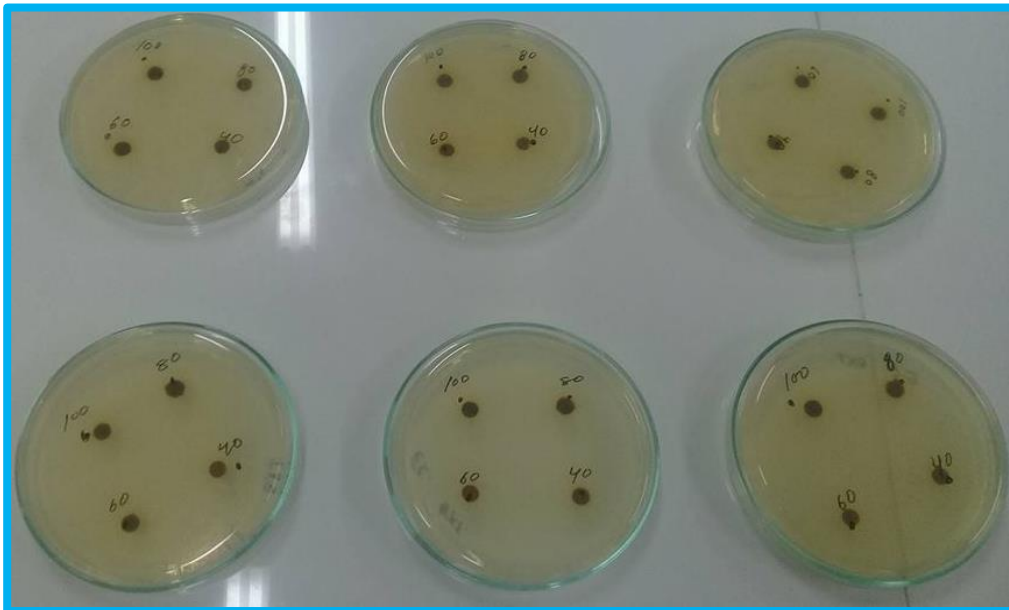


Foto 19. Resultados de extractos metanólicos de *cúrcuma longa*. *Pseudomona aeruginosa*.

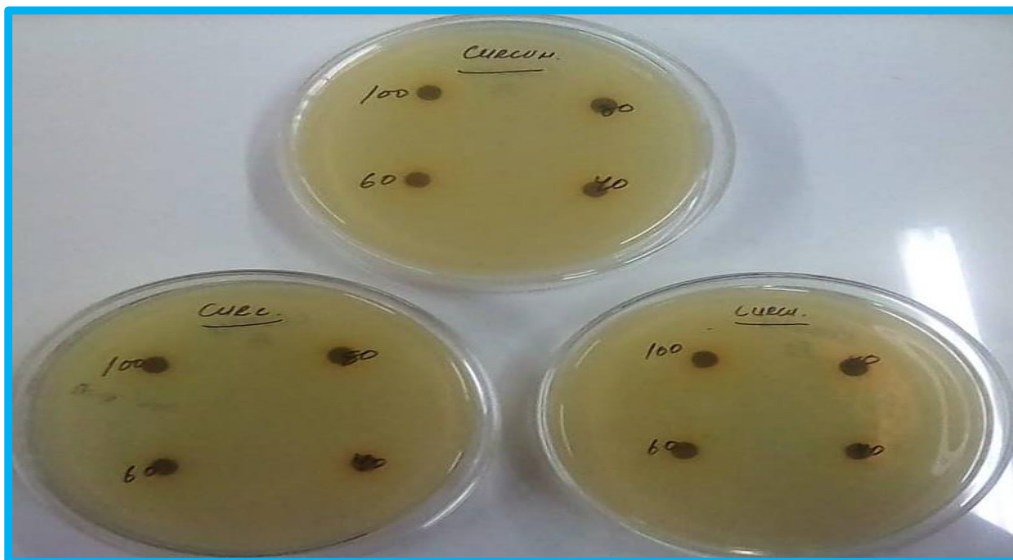


Foto 20. Resultados de extractos metanólicos de *Zingiber officinale*. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *pseudomona aeruginosa*.

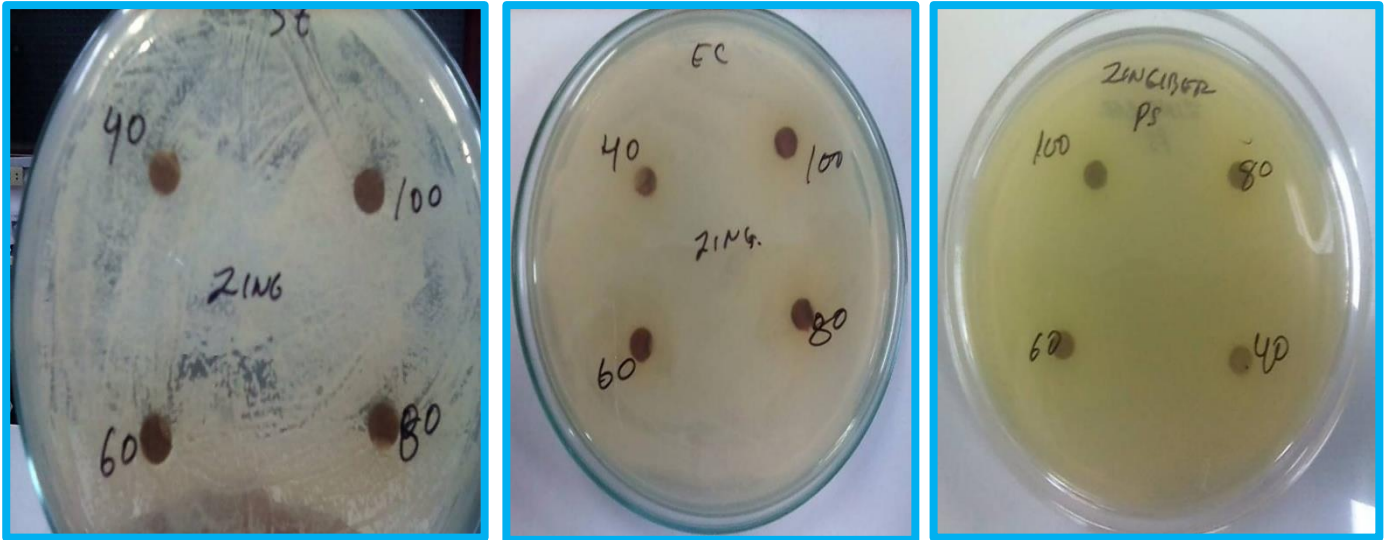


Foto 21. Resultados de extractos metanólicos de *Zingiber officinale* + *Cúrcuma longa* (1:1). *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *pseudomona aeruginosa*.

