



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA**

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ACUOSO Y  
ETANOLICO del *Zingiber officinale* EN SALMONELLA TYPHI  
ATCC 14028. ESTUDIO IN VITRO.**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE MEDICO  
CIRUJANO**

**AUTOR**

**EDWARD ANDERSON CHAVEZ QUESQUEN,**

**ASESOR:**

**DR. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA**

**LINEA DE INVESTIGACIÓN:**

**ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TROPICALES**

**TRUJILLO – PERÚ – 2018**

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES**

**Walther Chávez Rivasplata y Rosa Angelica Quesquén Quiroz** y mi Tia **Dora Consuelo Quesquén Quiroz** quienes a lo largo del tiempo de estudio fueron mi principal apoyo e impulso para poder seguir, a pesar de las caídas que hubo en el camino fueron en ellos por quien me levante y seguí adelante, depositando su confianza en mí y sin dudar en ningún momento sobre mi capacidad.

**CHAVEZ QUESQUEN, EDWARD A.**

## **AGRADECIMIENTO**

### **A Dios**

Por brindarme su luz en los momentos oscuridad, por darme fuerzas en momentos en que desfallecía; por estar conmigo en cada momento difícil, por sostenerme siempre con la diestra de su justicia.

### **Al Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.**

Quien asesoró este esfuerzo con su mayor énfasis

### **A mi hermano y primo**

**Walther Fructuoso Chávez**

**Quesquén, Manuel Anthony Chávez**

**Quesquén**, quienes con su alegría, ocurrencias, entusiasmo y amor acompañan en mi vida.

**CHAVEZ QUESQUEN, EDWARD A.**

## **DECLARACION DE AUTENTICIDAD**

Yo, Edward Anderson Chávez Quesquén, identificado con DNI 70674535, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y autentica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos, como de la información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 28 de Febrero del 2018

.....

**CHAVEZ QUESQUEN, EDWARD A.**

## PRESENTACION

Señores miembros del jurado, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Escuela de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, presento ante ustedes la Tesis titulada: “**Eficacia antimicrobiana del extracto acuoso y etanolico de *Zingiber officinale* sobre *Salmonella typhi* ATCC 14028 , estudio in vitro**”, en cumplimiento del reglamento de grados y títulos de la Universidad César Vallejo, para obtener el título profesional de Médico Cirujano, esperando cumplir con los requisitos de aprobación.

**CHAVEZ QUESQUEN, EDWARD A.**

## INDICE

<b>PÁGINA DEL JURADO</b> .....	ii
<b>DEDICATORIA</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iv
<b>DECLARACION DE AUTENTICIDAD</b> .....	v
<b>PRESENTACION</b> .....	vi
<b>INDICE</b> .....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	9
<b>I. INTRODUCCION</b> .....	10
<b>1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA</b> .....	16
<b>1.2. OBJETIVOS</b> .....	16
1.2.1. General:.....	16
1.2.2. Específicos: .....	16
<b>II. MARCO METODOLOGICO</b> .....	17
<b>2.1. HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>2.2. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES</b> .....	17
<b>2.3. OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE</b> .....	17
<b>2.4. METODOLOGIA:</b> .....	18
<b>2.5. TIPO DE ESTUDIO</b> .....	18
<b>2.6. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN</b> .....	18
<b>2.7. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO</b> .....	19
<b>2.8. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN</b> .....	20
<b>2.9. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS</b> .....	22
<b>2.10. ASPECTOS ÉTICOS.</b> .....	22
<b>III. RESULTADOS.</b> .....	23
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	30
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	33
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	34
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:</b> .....	35
<b>ANEXOS:</b> .....	39

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue: Determinar la eficacia antimicrobiana del extracto acuoso y etanólico de *Zingiber officinale* sobre *Salmonella typhi* comparado con cloranfenicol en un estudio in vitro

Material y métodos: se desarrolló un estudio experimental de repeticiones múltiples en 76 placas petri, que contuvieron extracto acuoso como etanólico del *Zingiber officinale*, así como Cloranfenicol.

Resultados: Los diámetros del halo inhibitorio del extracto etanólico al 100% fue  $21.2 \pm 1.8$  mm; la concentración al 75% fue  $12.8 \pm 13$  mm; y la concentración al 50% fue  $8 \pm 7$  mm, siendo sensible la *Salmonella Typhi* ATCC 14028 a las dos primeras concentraciones. El extracto acuoso no tuvo efectos en el halo inhibitorio. El diámetro del halo inhibitorio del cloranfenicol fue  $37.6 \text{ mm} \pm 1.8 \text{ mm}$ ., siendo sensible la *Salmonella typhi* ATCC 14028. El halo inhibitorio del cloranfenicol fue mayor que los extractos acuosos y etanólicos del *Zingiber officinale* ( $p < 0.01$ ). La prueba pos Anova, indicó diferencias significativas entre el cloranfenicol con halo de inhibición de 37.6 mm siendo más eficaz, considerándose como segundo más eficaz la concentración al 100% del extracto etanólico de *Zingiber officinale*.

Conclusiones: El efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso del *Zingiber officinale* frente a la *Salmonella Typhi* ATCC 14028 es nulo, siendo sensible a las concentraciones al 75% y 100% del extracto etanólico del *Zingiber officinale*. El cloranfenicol presentó la mayor eficacia antimicrobiana sobre la *Salmonella typhi* ATCC 14028, en segundo lugar el extracto etanólico del *Zingiber officinale* al 100%.

Palabras clave: eficacia antimicrobiana, *Zingiber officinale*, *Salmonella typhi* ATCC 14028 y estudio in vitro.

## ABSTRACT

The aim of the study was to: determine the antimicrobial efficacy of the aqueous extract and ethanolic of *Zingiber officinale* on *Salmonella typhi* compared with chloramphenicol in an in vitro study

Material and methods: an experimental study of multiple repetitions in 76 Petri, which contained aqueous extract as ethanolic of *Zingiber officinale*, as well as chloramphenicol was developed.

Results: The diameters of the inhibitory halo 100% ethanolic extract was 21.2 + 1.8 mm; 75% concentration was 12.8 + 13 mm; and 50% concentration was 8 + 7 mm, being sensitive *Salmonella Typhi* CCTA 14028a first two concentrations. The aqueous extract had no effect on the inhibitory halo. The diameter of the inhibitory halo of chloramphenicol was 37.6mm + 1.8 mm., being sensitive to salmonella *Salmonella typhi* ATCC 14028. The inhibitory halo of chloramphenicol was greater than the aqueous extracts and ethanol of the *Zingiber officinale* ( $p < 0.01$ ). The test POS Anova indicated significant differences between chloramphenicol with zone of inhibition of 37.6mm being more effective, considered as the second most effective concentration to extract 100% ethanolic *Zingiber officinale*.

Conclusions: The in vitro inhibitory effect of the aqueous extract of *Zingiber officinale* against *Salmonella Typhi* ATCC 14028 is null, being sensitive to the concentrations at 75% and 100% of the ethanolic extract of *Zingiber officinale*. Chloramphenicol presented higher antimicrobial effectiveness on *Salmonella typhi* ATCC 14028, secondly the ethanolic extract of *Zingiber officinale* 100%.

Key words: antimicrobial effectiveness, *Zingiber officinale*, *Salmonella typhi* ATCC 14028 and in vitro study.

## I. INTRODUCCION

A inicios de los años 90 se detectaron algunas cepas de Salmonella resistentes a una amplia variedad de antibióticos que representan hoy, por su frecuencia, un grave problema de salud pública ya que ocasionan una de las enfermedades de transmisión oro-fecal y alimentaria más comunes. Se calcula que cada año en el mundo decenas de millones de humanos son afectados y cerca de cien mil fallecen por tal causa. Hasta la fecha se han logrado identificar más de 2.400 cepas de Salmonella spp; con el agravante que el microorganismo subsiste varias semanas en ambientes secos, así como en medio acuoso.<sup>1</sup>

En el mundo desde hace algunas décadas se estima que casi el 80% de la población utiliza las plantas o la denominada medicina tradicional para tratar sus padecimientos tanto agudos como crónicos, reportándose que en Europa por ejemplo, su empleo se ha popularizado, estimándose que cerca del 26% de los derivados de vegetales con acción terapéutica son obtenidos en farmacias y el 55% de entidades herbolarias.<sup>2</sup>

Un reporte el año 2013 manifiesta los beneficios antibióticos mostrados por el *Zingiber officinale* o Jengibre, el cual al 5%, en fresco, o seco, inhiben el desarrollo de agentes infecciosos en los alimentos. Sin embargo, el jengibre seco tuvo un mayor efecto inhibitorio sobre patógenos, por lo que se infiere que su empleo puede disminuir las posibilidades de intoxicación alimentaria, mermando el riesgo de contaminación de los comestibles, y resguardando al consumidor de diversos padecimientos propagadas por los alimentos.<sup>3</sup>

Investigaciones actuales han demostrado que el extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale* (Jengibre) tiene efecto inhibitorio sobre bacterias gram positivas, como algunas gram negativas, llegando a obtenerse zonas de inhibición de hasta 16 mm., y aunque es incuestionable su efectividad como antibacteriano, son insuficientes los estudios realizados en bacterias gram negativas.<sup>3</sup>

Islam K, et al <sup>5</sup>(Bangladesh, 2014), establecieron la actividad antimicrobiana del extracto del jengibre y del extracto oleoso de la soja, utilizando difusión en agar, empleando 6 variedades de patógenos, incluyendo la *Salmonella* spp. La investigación evidenció potente actividad antimicrobiana del extracto de jengibre contra todas las bacterias patógenas ensayados, mostrando la más alta inhibición ( $11 \pm 1.53$  m) contra *Salmonella* spp. Conclusión: el extracto de jengibre tiene elevada actividad antimicrobiana y podría utilizarse de manera conjunta con la soja en la preparación de alimentos para obtener un buen efecto sinérgico.

Akintobi O, et al <sup>6</sup> (Nigeria, 2013), investigaron la actividad antimicrobiana del extracto de jengibre (*Zingiber officinale*) en seis patógenos bacterianos, incluido *Salmonella typhi*. Los autores utilizaron cuatro diferentes extractos obtenidos de rizomas de jengibre (extracto soluble en agua y soluble en etanol). El extracto etanólico de *Zingiber officinale* produjo la mayor zona de inhibición de *Salmonella typhi* (13mm) y el extracto acuoso de *Zingiber officinale* produjo zona de inhibición sobre *Salmonella typhi* (10mm). Al comparar la actividad inhibitoria de la *Z. officinale* con antibióticos, resultó que gentamicina y cloranfenicol mostraron la mayor zona de inhibición contra las cepas susceptibles utilizadas. Conclusión: aunque el cloranfenicol tuvo mayor actividad antimicrobiana frente a *Salmonella typhi*, los extractos etanólicos y agua de *Zingiber officinale*, también lo tuvieron pero en menor grado por lo que pudieran ser sustitutos de los antibióticos.

Gull I, et al <sup>7</sup> (Pakistán, 2012), evaluaron la actividad antimicrobiana del jengibre contra ocho cepas bacterianas. Emplearon extractos de jengibre acuoso, metanólico y etanólico contra varios agentes infecciosos que incluyen *Salmonella typhi*. Las cepas bacterianas fueron más susceptibles al extracto acuoso del jengibre cuya concentración inhibitoria mínima varió de 0.05 mg/ml a 1.0 mg / ml. El halo inhibitorio para el extracto acuoso fue  $11 \pm 0$  mm, para el etanólico fue  $11.3 \pm 0.27$ mm y para el metanólico fue  $11.7 \pm 0.32$ mm. Conclusión: el uso de Jengibre constituye una medicina alternativa o complementaria para reducir costos, efectos secundarios y la creciente resistencia a patógenos.

Ekwenye U, et al<sup>8</sup> (Nigeria, 2005), evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de jengibre contra *S. typhi*, encontrando que la inhibición del crecimiento bacteriano osciló con el tipo de especie y el tipo de extracto. El extracto etanólico inhibió al *S. typhi* con un halo de inhibición de 10 mm de diámetro, y el extracto acuoso inhibió *S. typhi* con un halo de 8 mm. En la determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI), el rango observado estuvo entre 75 mg/mL y 250 mg/mL de las concentraciones. En cualquier dilución debajo de 75 mg mL, no hubo inhibición del crecimiento en ninguno de los extractos. Conclusiones extracto acuoso muestra muy poca o ninguna inhibición, mientras que extractos etanólico tuvo mayor efecto inhibitorio in vitro contra bacterias, como *S. typhi*, confirmando su uso en medicina tradicional.

El *Zingiber officinale* es un vegetal de la India, transportada a las Américas después de su descubrimiento, y cuyo rizoma de característica nudosa, aromática, que contiene la curcumina empleado como aderezo y medicamento y cuyo aroma se debe a los aceites esenciales. La planta exige un clima entre 25 a 34°C, vive altitudes hasta los 1500 metros sobre el nivel del mar, en condiciones de humedad y sombra. En nuestro país existen tres variedades, la hawaiana que es la mejor, la jamaquina y la criolla de menor calidad.<sup>9</sup>

El *Zingiber officinale*, Roscoe, Zingiberaceae, o también Jengibre o Kion, es ampliamente utilizado en el mundo como una especia en la preparación de alimentos, como en medicina tradicional para el resfrío común, reumatismo, gingivitis, enfermedades nerviosas, dolor dental, asma, diabetes y estreñimiento. Existen estudios sobre las acciones de jengibre, como agente antiinflamatorio, sobre la prevención de cáncer, y antiemético. Los componentes del Kion son numerosos y varían dependiendo según el lugar de origen y si los rizomas son frescas o secas. Los principales componentes señalados en la actividad farmacológica son a partir de la droga en su condición natural.<sup>10</sup>

El efecto antimicrobiano de las especias es consecuencia de la actividad de los fito químicos específicos o aceites esenciales. Los principales factores que establecen la actividad antimicrobiana son el tipo y composición de la especia, cantidad utilizada y tipo de microorganismo, la estructura de los alimentos, valor del pH y temperatura del medio ambiente. El jengibre tiene enérgica actividad antibacteriana y algunas propiedades antifúngicas. Estudios in vitro han evidenciado que los elementos activos del jengibre impiden la multiplicación bacteriana en el colon, de bacterias que fermentan carbohidratos ocasionando flatulencias, la cual puede ser contrarrestado con el jengibre, por su acción inhibitoria el describen *Escherichia coli*, *Proteus sp*, estafilococos, estreptococos y *Salmonella*.<sup>11</sup>

El jengibre tiene actividad antimicrobiana sobre *E. coli*, *Salmonella typhi* y *Bacillus subtilis*, particularmente el extracto etanólico el mismo que muestra un efecto inhibitorio más amplio contra *Salmonella typhi*. La rizoma de jengibre muestra varios constituyentes con efecto antibacteriano y anti fúngico, siendo el gingerol y el shagelol los agentes más activos. El extracto etanólico del polvo jengibre tiene amplia actividad antibacteriana que incluso tiene actividades inhibitorias contra *Candida albicans*. El Gingerol como tiene componentes el 6-gingerol y 12-gingerol, aislados del rizoma de jengibre, lo cual evidencia la actividad antibacteriana que incluso es efectivo contra el *Micobacterium avium* y *Micobacterium tuberculosis* in vitro.<sup>12</sup>

El género *Salmonella* que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, está compuesto por bacilos gram negativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, provistos de flagelos y móviles, los cuales crecen bien en los medios de cultivo habituales. De acuerdo a la presencia de antígenos O (lipo polisacárido), Vi (polisacárido capsular) y H (flagelar) pueden actualmente sero tiparse en más de 2.300 tipos séricos. Cuando el sujeto ingiere la salmonella, el desarrollo de la enfermedad va a depender básicamente de la cantidad de inóculo ingerido, de su virulencia y de factores del huésped. Las cepas Vi negativas son menos patogénicas y virulentas que las Vi positivas.<sup>13</sup>

El diagnóstico serológico es hoy cada vez menos empleado por su baja sensibilidad y especificidad. Puede ser útil en sujetos en los que se sospecha la enfermedad pero que han ingerido antibióticos antes de la toma de hemocultivos por lo que los resultados son negativos, por lo que los títulos de anticuerpos tipo Ig M anti-O superiores a 1/640 o el incremento de valores de títulos iniciales en 4 o más veces tienen valor diagnóstico.<sup>13</sup>

El cloranfenicol (CAF) es un antibiótico de espectro amplio, derivado del género *Streptomyces*. Es un antibacteriano singular entre los compuestos naturales pues incluye un grupo nitrobenzeno asociado a un grupo propanol, al igual que un grupo amino vinculado a un derivado del ácido dicloroacético. El mecanismo de acción del CAF sobre las bacterias, involucra la inhibición de la síntesis de proteínas en las cepas sensibles. El cloranfenicol se une a la subunidad 50-S bloqueando las funciones primordiales de los ribosomas como la reacción de la PTasa, la unión y el movimiento de los sustratos a través del centro PTasa, la terminación de la traducción originando un proceso de trasducción impreciso.<sup>14, 15</sup>

En ocasiones se emplea como antibiótico sistémico por su efectividad contra infecciones causadas por *Salmonella typhi*, recomendándose su utilización en pacientes con meningitis bacteriana originada por *Enterococcus faecium*, *Haemophilus Influenzae*, *Neisseria meningitidis*, y *Streptococcus pneumoniae*, especialmente en pacientes con hipersensibilidad a  $\beta$ -lactámicos. Además, éste antimicrobiano es capaz de difundir a través de las paredes de células eucarióticas y de células pro carióticas, debido a la solubilidad lipídica de este antibiótico, permitiendo que éste ingrese dentro del cerebro, razón por la que sus potencialidades se incrementan para tratar infecciones en sitios donde otros antibióticos no podrían llegar a producir los efectos deseados. El CAF es un antibiótico de elección para el tratamiento tópico de una amplia variedad de infecciones bacterianas incluyendo las causadas por anaerobios.<sup>16, 17</sup>

El cloranfenicol puede inhibir fármacos que contienen radicales alcohólicos, warfarina y dicumarol, azatioprina y 6 mercaptopurina, difenil hidantoina,

hipoglucemiantes orales e isoniazida. El CAF es transformado por la célula hepática por un proceso de glucoronación, mientras que su excreción es vía secreción tubular mediante un metabolito glucorónido, no debiendo combinarse con penicilinas, cefalosporinas, aminoglicósidos, ni antibióticos que se ligan a subunidades 50S. La dosis en adultos es: 50mg/kg/día; en las infecciones severas como sepsis y meningitis, la dosis es de 75-100 mg/Kg/día y la dosis máxima puede llegar a 4g/día.<sup>17</sup>

La eficacia de una terapia, consiste en medir la capacidad benéfica en situaciones ideales. Un tratamiento ocurre cuando el beneficio obtenido es mayor en las personas que reciben la intervención que en aquellos que no la reciben, y que se evalúa mediante estudios epidemiológicos experimentales, entre los cuales, el ensayo aleatorizado es el más adecuado para medir la eficacia.<sup>18, 19</sup>

Un antimicrobiano incluye los compuestos obtenidos de forma natural o biosintética, tres características mínimas: poseer actividad antimicrobiana, desarrollar ésta a bajas concentraciones y ser tolerada por el huésped. Los agentes antimicrobianos pueden ser bactericidas y bacteriostáticos. Los bactericidas ocasionan la muerte de las bacterias patógenos y aquí se incluye a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, rifampicina, vancomicina, polimixinas, fosfomicina, quinolonas y nitrofurantoínas. En cambio, los bacteriostáticos solo inhiben el crecimiento bacteriano, aunque el agente permanece viable, de manera que al suspender la terapia puede volver a reproducirse.<sup>20, 21</sup>

El que un fármaco sea bactericida o bacteriostático, depende de su mecanismo de acción y, su composición aunque también contribuyen otros factores, como el agente etiológico, el volumen del inóculo y tamaño del inóculo, la concentración alcanzada en el sitio de la infección, el lapso de actividad y la etapa de desarrollo bacteriano.<sup>21, 22</sup>

Los fármacos antibióticos disponibles en el mercado muestran cierta toxicidad, producen efectos secundarios, y causan resistencia bacteriana,

motivo por la cual se está tratando de identificar nuevos agentes antibacterianos más efectivos, sobretodo seguros que superen o tengan eficacia similar a las actualmente existentes.

Se optó por estudiar al *zingiber officinale*, por ser una planta medicinal, con muchas propiedades, entre las que se incluye las antibióticas, característica que se compara con un fármaco cuyo principio activo químico se denomina Cloranfenicol cuyo uso microbicida es conocida en el orbe.

Los resultados de nuestro estudio contribuirán a la identificación de los efectos antibióticos del extracto del vegetal; así como también compara cuál de los tipos de extractos: etanólico o acuoso, o el cloranfenicol tienen una mejor eficacia en la erradicación de la *Salmonella typhi* pudiendo dar principio a la elaboración productos fito-farmacológicos de acción terapéutica antibiótica en humanos, de manera que se evalúe su uso como medicina alternativa promoviendo su industrialización.

## **1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Es eficaz como antimicrobiano, el extracto acuoso y etanólico de *Zingiber officinale* sobre la salmonella typhi comparado con cloranfenicol en un estudio in vitro?

## **1.2. OBJETIVOS**

### **1.2.1. General:**

Determinar la eficacia antimicrobiana del extracto acuoso y etanólico de *Zingiber officinale* sobre *Salmonella typhi* comparado con cloranfenicol en un estudio in vitro.

### **1.2.2. Específicos:**

1. Evaluar el efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso y etanólico de *Zingiber officinale* sobre cepas de *Salmonella typhi* a diferentes diluciones.
2. Identificar el efecto inhibitorio in vitro del cloranfenicol sobre cepas de

- Salmonella typhi
3. Comparar el extracto acuoso de *Zingiber officinale* con el cloranfenicol contra *Salmonella typhi*
  4. Comparar el extracto etanólico de *Zingiber officinale* con cloranfenicol contra *Salmonella typhi*

## II. MARCO METODOLOGICO

### 2.1. HIPÓTESIS

H<sub>1</sub>: El extracto acuoso y etanólico de *Zingiber officinale* tiene más eficacia antimicrobiana que el cloranfenicol sobre la *Salmonella typhi* en estudio in vitro.

H<sub>0</sub>: El extracto acuoso y etanólico de *Zingiber officinale* tiene igual o menor eficacia antimicrobiana que el cloranfenicol sobre la *Salmonella typhi* en estudio in vitro.

### 2.2. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

VI1: El extracto acuoso de *Zingiber officinale*

VI2: El extracto etanólico de *Zingiber officinale*

VD: Efecto antimicrobiano sobre *Salmonella Typhi*

### 2.3. OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto acuoso de rizomas de <i>Zingiber officinale</i>	Producto que se obtiene a partir de los rizomas de <i>Zingiber officinale</i> , utilizando el método conocido como extracción con agua por rotavapor <sup>9</sup> .	Se tomo en cuenta 100 mg/mL de extracto acuoso de rizoma que será el 100% de concentración	1. Concentración 100% 2. Concentración 75% 3. Concentración 50%	Cualitativa ordinal

VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto etanólico de rizomas de <i>Zingiber officinale</i>	Producto que se obtiene a partir de su rizoma utilizando el método conocido como extracción con agua por rotavapor <sup>9</sup> .	Se tomó en cuenta 100 mg/mL de extracto etanólico de rizoma a la concentración al 100%	1. Concentración 100% 2. Concentración 75% 3. Concentración 50%	Cualitativa ordinal
VARIABLE INDEPENDIENTE Cloranfenicol	Es un antibiótico de amplio espectro derivado de las especies del género bacteriano <i>Streptomyces</i> . <sup>14, 15</sup>	Se tomó en cuenta la concentración de 50µg/ml	1- Si 2- No	Cualitativa
VARIABLE DEPENDIENTE Eficacia antibiótica	Evidencia de cambios en la morfología bacteriana producido por productos químicos ocasionando la inhibición del crecimiento o la multiplicación del mismo.	Método de disco difusión (Kirby-Bauer): mide el diámetro del medio de cultivo alrededor del disco con antibióticos que inhibe de manera parcial intermedio o completo el crecimiento y reproducción del microbio. Según el Instituto Nacional de Salud <sup>16</sup> .	1. Resistente <10 mm, 2. Intermedio de 11-12 mm 3. sensibles > 12mm.	Cualitativa ordinal

## 2.4. METODOLOGIA:

## 2.5. TIPO DE ESTUDIO

Básico

## 2.6. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio será de tipo experimental de repeticiones múltiples

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6
RG7	X7	O7

RG: Grupos de estudio en diluciones

X1-X3: El extracto etanólico del *Zingiber officinale*, 50%,75%,100%

X4-X6: El extracto acuoso del *Zingiber officinale*, 50%,75%,100%

X7: Cloranfenicol

O1-O7: Observación de inhibición de crecimiento de *Salmonella typhi*

## 2.7. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

**Población:** La población estuvo conformada por cepas de *Salmonella typhi* obtenida en el Instituto Nacional de Salud del Perú.

**Muestra:**

**Unidad de análisis:** Cepas de *Salmonella typhi*

**Unidad de muestreo:** Placas Petri AGA.

**Tamaño muestral:** En el siguiente estudio experimental se aplicó la siguiente fórmula de cohorte.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

$$Z_{\alpha} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$S = 0.27 \text{ mm}$$

$$X_1 = 11 \text{ mm según Gull I, et al } ^7$$

$$X_2 = 11.3 \text{ mm, según Gull I, et al } ^7$$

$$n = 7 \text{ (número de placas mínimas)}$$

Teniendo en cuenta la posible pérdida por deterioro y manipulación de las muestras se trabajó con 11 placas por cada grupo siendo un total de 76

### **Método de muestreo**

La población de cepas fue seleccionada en forma aleatoria simple

### **UNIDAD DE ANÁLISIS:**

Cada cultivo de *Salmonella typhi*, que logre satisfacer los criterios de selección planteados

### **CRITERIOS DE SELECCIÓN:**

#### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

- Cepas de *Salmonella typhi* que reunieron características bacterianas tanto bioquímicas como microscópicas.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

- Cepas que *Salmonella typhi* que manifiestan contaminación
- Cepas de *Salmonella typhi* que no presentan similitud con el fenotipo de la bacteria patrón.

## **2.8. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN**

**Técnica:** experimental

### **Procedimiento:**

Preparación del Extracto acuoso de *Zingiber officinale*. Esto se llevó a cabo utilizando de 20 g de polvo fino de rizoma de *Zingiber officinale*, con una balanza de pesaje electrónica. Esto se distribuyó en dos matraces, cada uno con 100ml de agua destilada, es decir 10g en cada matraz. Éstos fueron macerados por 72 horas con agitación a 120 rpm, después se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos a 25°C, dicha solución se ultra filtró en un matraz de Erlenmeyer estéril de 250ml. El extracto acuoso

se evaporó a 80°C y posteriormente fueron almacenados en el refrigerador a una temperatura de 4° C hasta que se requiera.

Preparación del extracto etanólico se procedió de la misma manera que el extracto acuoso, excepto que el extracto de etanol se evaporó a 50° C en el evaporador rotatorio. Todas las muestras del extracto seco se disolvieron en agua destilada por separado a la concentración final de 100 mg/ml y se centrifugó nuevamente a 10.000 rpm para eliminar los residuos sin disolver. Luego se diluyó en 100%, 75% y 50%.

Para la constitución del inóculo se llevó a cabo la preparación del medio agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) en vidrios o placas petri para su cultivo de *Salmonella typhi*. Estos cultivos bacterianos motivo de estudio se procedió a su reactivación y se incubó a las bacterias a la temperatura de  $35 \pm 2$  °C por espacio de 18 a 24 horas, protegiéndolas de la luz, a durante un mínimo de 18 – 24 h. Las colonias en XLD Agar pueden requerir 48 h de incubación para adquirir un color intenso.<sup>23</sup>

Se inculó en la parte seca de las placas Mueller-Hinton, colocando con el hisopo en tres sentidos para conservar una asignación pareja uniforme del inóculo. Previamente a la colocación de las placas Petri, se procedió a realizar el secado de la placa a temperatura ambiental entre los 3 a 5 minutos para lograr la absorción de los excedentes de la humedad. Las placas se incubaran a una temperatura de  $35 \pm 2$ °C para *S. typhi* a 18 h. Posteriormente al lapso de incubación recomendado, se revisó individualmente cada placa y procedió a establecer el diámetro de cada halo de inhibición en cada uno de los disco, utilizando el vernier. En el grupo de control positivo se utilizó suero fisiológico. Luego de transcurrido el tiempo de incubación se procedió a practicar la lectura correspondiente con la medición de los halos de inhibición del crecimiento, utilizando el llenado de los datos de los diámetros de las placas considerando el método de disco difusión (Kirby- Bauer).<sup>24</sup>

### **VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO:**

En cuanto al proceso de validación el instrumento que recolectó los datos, la cual se procedió utilizando la opinión de profesionales expertos en el tema, integrada por tres profesionales de la medicina, quienes aprobaron la utilidad de la referida ficha de recolección.

No hubo necesidad de realizar test alguno que evalúe la confiabilidad, debido a que la ficha contiene datos muy puntuales que miden cada una de las variables de estudio y que serán registradas conforme se desarrolle el experimento.

### **2.9. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS**

Para analizar la estadística, se usó el programa IBM –SPSS 23.0; con el cual se procedieron a establecer los niveles. Se estimó las medidas de tendencia central como el promedio, medidas de dispersión como la desviación estándar. Para establecer la comprobación de la hipótesis de estudio, se aplicó la prueba estadística conocida como ANOVA para comparar promedios de las muestras obtenidas.<sup>25</sup>

### **2.10. ASPECTOS ÉTICOS.**

Se tomó en cuenta el reglamento de Ensayos Clínicos del Instituto Nacional de Salud que en su artículo 89 describe las condiciones que se debe rotular las muestras. El artículo 95 que incide en el destino final de los productos finales o sobrantes de la experimentación. También se aplicó en cuanto el artículo 108 que señala las acciones a realizar en caso de presentarse eventos adversos no serían calificados en el protocolo de investigación, así como evaluar de manera constante las normas de bioseguridad<sup>26</sup>.

### III. RESULTADOS.

TABLA N° 01

Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso y etanólico de la *Zingiber officinale* sobre cepas de *Salmonella typhi* a diferentes diluciones

EXTRACTO	CONCENTRACIONES	Media en mm	Mediana en mm	Desviación estándar	CUARTIL 1	CUARTIL 3	Rango intercuartil
ETANOLICO	50%	8.0	8.0	0.7	7.0	9	2.0
	75%	12.8	13.0	1.4	12.0	14	2.0
	100%	21.2	21.0	1.8	20.0	23	3.0
ACUOSO	50%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	75%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	100%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

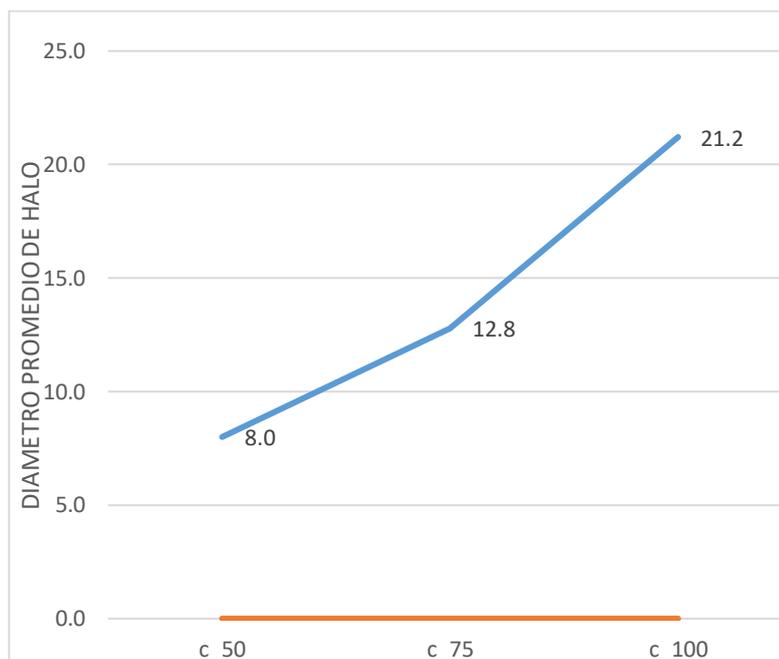
FUENTE: LABORATORIO MICROBIOLOGIA UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

#### DESCRIPCION:

Los diámetros del halo inhibitorio promedio más altos encontrados en el presente estudio se hallaron en el extracto etanólico al 100% ( $21.2 \pm 1.8$  mm) mientras que la concentración al 75% fue  $12.8 \pm 13$ mm; en el caso de la concentración del extracto etanólico al 50% el diámetro fue  $8 \pm 7$ mm. Por otro lado las diversas concentraciones del extracto acuosos no presentaron efectos en el halo inhibitorio.

FIGURA N° 01

Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso y etanólico de la *Zingiber officinale* sobre el diámetro del halo inhibitorio promedio de cepas de *Salmonella typhi* a diferentes diluciones.



FUENTE : LABORATORIO MICROBIOLOGIA UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO

#### DESCRPCIÓN

Los promedios del halo inhibitorio señalan que para el extracto etanólico del *Zingiber officinale* a la concentración al 75% y 100% la salmonella tiphy es sensible, mientras que a la concentración al 50% dicha bacteria es resistente.

TABLA N° 02

Efecto inhibitorio in vitro del cloranfenicol sobre cepas de *Salmonella typhi*

ESTANDAR	Media	Mediana	Desviación estándar	CUARTIL 1	CUARTIL 3	Rango intercuartil
Cloranfenicol	37.6	38.0	1.8	36.0	39	3.0

FUENTE: LABORATORIO MICROBIOLOGIA UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO

DESCRIPCIÓN:

El diámetro del halo inhibitorio del cloranfenicol en el presente estudio fue de 37.6mm  $\pm$  1.8 mm., siendo sensible la salmonella *Salmonella typhi* ATCC 14028

TABLA N° 03

Comparación el extracto acuoso de *Zingiber officinale* comparada con cloranfenicol contra *Salmonella typhi* mediante Análisis De Varianza (ANOVA)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	20179.9	3.0	6726.6	8290.1	.000
Dentro de grupos	58.4	72.0	0.8		
Total	20238.4	75.0			

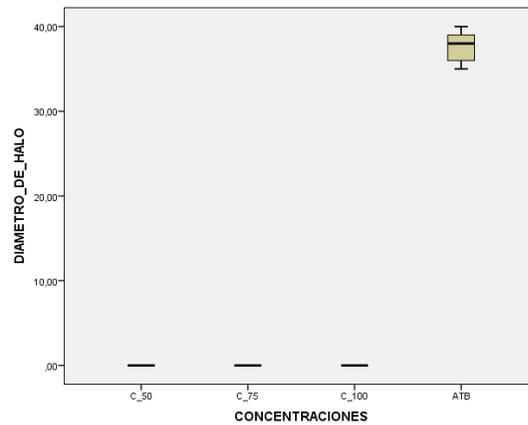
FUENTE: LABORATORIO MICROBIOLOGIA UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO

DESCRIPCIÓN:

El análisis de varianza realizado permite establecer que la diferencia del halo inhibitorio es altamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre los tratamientos, lo cual indica que existe mayor efecto del cloranfenicol frente al extracto acuoso de *Zingiber officinale* (0 mm de diámetro de halo inhibitorio)

## FIGURA N° 02

Comparación del efecto extracto acuoso de *Zingiber officinale* comparada con cloranfenicol contra *Salmonella typhi* ATCC 14028



FUENTE : LABORATORIO MICROBIOLOGIA UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO

## DESCRIPCIÓN

Se aprecia que el cloranfenicol tiene un halo inhibitorio alto comparado con las diversas concentraciones del extracto acuoso de *Zingiber officinale*

TABLA N<sup>RO</sup> 03

Comparación el extracto etanólico de *Zingiber officinale* comparada con cloranfenicol contra *Salmonella typhi* mediante Análisis De Varianza (ANOVA)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9657.6	3.0	3219.2	1442.0	.000
Dentro de grupos	160.7	72.0	2.2		
Total	9818.4	75.0			

**FUENTE : LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO**

**DESCRIPCIÓN:**

El efecto del halo inhibitorio del cloranfenicol frente al extracto etanólico de *zingiber officinale* es mayor. Al aplicar el análisis de varianza permite establecer que dicha diferencia es altamente significativa ( $p < 0.01$ )

TABLA N<sup>RO</sup> 04

Comparación el extracto etanólico de *Zingiber officinale* comparada con cloranfenicol contra salmonella typhi mediante Análisis de Varianza (Post Anova T3 De Dunnett)

CONCENTRACIONES	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
1,00	19	8.0000			
2,00	19		12.7895		
3,00	19			21.2105	
4,00	19				37.6316
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

FUENTE: LABORATORIO MICROBIOLOGIA UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO

DESCRIPCION:

El resultado de la prueba pos Anova indica que existe una diferencia significativa entre el diámetro de cloranfenicol y las 3 concentración por tener el diámetro más alto de halo de inhibición de 37.6mm considerándose como segundo más eficaz la concentración al 100% del extracto etanólico de *Zingiber officinale*.

#### IV. DISCUSIÓN

En la tabla 1, se analizó el efecto del halo inhibitorio in vitro frente a la bacteria *Salmonella typhi* ATCC 14028, tanto del extracto etanólico como el acuoso del *Zingiber officinale* en sus distintas concentraciones planteadas y evaluadas a las 24 horas. La parte superior de la tabla muestra el efecto de tres concentraciones del extracto etanólico al 100%, 75%, 50%, de las cuales para las dos primeras concentraciones la bacteria *Salmonella typhi* ATCC 14028 es sensible, al superar los 12 mm del halo inhibitorio que es punto de corte que indica dicha sensibilidad, mientras que para la concentración al 50% la bacteria muestra resistencia.

En el caso del extracto etanólico al 75%, la actividad del halo inhibitorio está por debajo de la actividad antimicrobiana del extracto al 100%, lo cual indica un menor efecto de inhibición. Finalmente, el extracto al 50% mostro menor actividad que el resto de concentraciones del extracto etanólico

Estudios diversos señalan que existe importante actividad antimicrobiana del *Zingiber officinale* sobre la bacteria estudiada. Es el caso de Akintobi O et al<sup>6</sup> demostró que fue mayor la actividad del extracto etanólico comparado con el extracto acuoso, alcanzado en extracto etanólico un halo de inhibición de 13mm, cifra similar a los registrado en este estudio. Gull I, et al<sup>7</sup>, informó un halo inhibitorio de 11.3 mm considerado como intermedio. En el caso de Ekwenye U, et al<sup>8</sup> halló un promedio del halo inhibitorio menor, con 10 mm de diámetro que es considerado como presencia de resistencia de la bacteria frente al extracto etanólico.

Es evidente que el extracto etanólico posee propiedades antibacterianas que va a depender de su concentración. Son dos los principios activos vinculados al efecto bactericida: el gingerol y el shagelol considerados como los más activos. El Gingerol como tiene componentes el 6-gingerol y 12-gingerol, aislados del rizoma del *Zingiber officinale*, lo cual evidencia la actividad antibacteriana que incluso es efectivo contra otras bacterias, Micobacterias, y hongos in vitro.<sup>12</sup>

Como puede apreciarse hay variación en los resultados de los antecedentes expuestos a pesar de utilizar la misma cepa de bacteria. Estas discordancias puede deberse a varios factores que expresan su actividad antimicrobiana como es explicado por Sulieman A et al<sup>7</sup> al señalar, que el tipo y composición de la especia, la cantidad usada, la cepa del microorganismo, la estructura química del producto, el valor del pH y temperatura del medio ambiente, pueden modificar en algún grado los resultados.

En el caso de la segunda parte de la Tabla N°1, se expone los resultados acerca del extracto acuoso del *Zingiber officinale*, donde se aprecia que los resultados arrojan cero. Esto da a entender que las concentraciones de 50%, 75% y 100% usando la dosificación de 100,mg/ml, no tiene en mismo resultado que su par extracto etanólico del *Zingiber officinale*, requiriendo una mayor dosificación. Por lo tanto es necesario establecer la concentración mínima inhibitoria, la cual en el caso de extracto acuoso debe ser mayor que el etanólico.

Otros estudios si reportan el efecto antibacteriano del extracto acuoso, sin embargo en este estudio tanto la concentración y dosificación, no dieron el resultado esperado por lo que se debería incrementarse.

En la Tabla N° 2, se visualiza el efecto bacteriano que tiene el cloranfenicol sobre la *Salmonella typhi*, ATCC 14028, encontrándose que el diámetro del halo inhibitorio supero en promedio los 38 mm con una dosificación de 50µg /ml. Esto se debe a su mecanismo de acción, donde se inhibe la síntesis de proteínas en las cepas sensibles, uniéndose a la subunidad 50-S y bloqueando las funciones primordiales de los ribosomas, dentro del metabolismo de las bacterias.

El resultado señala que puede conseguirse un efecto inhibitor con dosificaciones menores tal es el caso de Carhuapoma M, et al<sup>28</sup> quien en su investigación utilizó Cloranfenicol a dosis de 30 µgr, lográndose un diámetro

de halo inhibitorio de 21 mm, confirmándose que a dosis menores se puede hallar un mismo efecto.

En la Tabla N° 3, se compara el extracto acuoso de *Zingiber officinale* con el cloranfenicol contra *Salmonella typhi* mediante análisis de varianza, encontrándose diferencias estadísticas significativas. Esto se debe a que los resultados en el extracto acuosos son negativos. Tal como se mencionó anteriormente los motivos pueden ser diversos,

Hay que tener en cuenta que investigaciones previas si describen resultados expresando el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Zingiber officinale* al comparar con el cloranfenicol, hallándose que éste último tuvo mayor actividad antimicrobiana frente a *Salmonella typhi*, comparado con extractos acuosos de *Zingiber officinale*.(Akintobi O, et al <sup>6</sup>).

En la Tabla 4, se comparan las tres concentraciones del extracto etanólico del *Zingiber officinale* con la actividad del cloranfenicol.. Es importante señalar que el extracto etanólico del *Zingiber officinale* al 100% con una halo inhibitorio de 21.2 mm mostro mayor actividad que el resto de concentraciones mientras que el cloranfenicol con presentó un halo inhibitorio de 37.6mm. Tras el análisis estadístico aplicando el método Post Anova T3 de Dunnet se concluye que el cloranfenicol tiene eficacia antimicrobiana mayor el extracto etanólico de *Zingiber officinale*, siendo altamente significativo dichas diferencias.

Los motivos por el cual uno tiene mayor efectividad, se basa en las características del agente infeccioso, en este caso la salmonella Typhi, cuya estructura permite ser más susceptible al cloranfenicol a la acción bactericida como también los principios activos que son distintos.

## V. CONCLUSIONES

1. El efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso del *Zingiber officinale* frente a la *Salmonella Typhi* ATCC 14028 es nulo, mientras que dicha bacteria es sensible a las concentraciones al 75% y 100% del extracto etanólico del *Zingiber officinale*.
2. El Cloranfenicol a la concentración de 50ug/ml tiene efecto inhibitorio in vitro sobre las cepas de sobre *Salmonella typhi* ATCC 14028.
3. El efecto del extracto acuoso del *Zingiber officinale* es nulo comparado con el cloranfenicol.
4. El cloranfenicol presentó la mayor eficacia antimicrobiana sobre la *Salmonella typhi* ATCC 14028, en segundo y tercer lugar el extracto etanólico del *Zingiber officinale* al 100% y 75% respectivamente

## **VI. RECOMENDACIONES.**

Las investigaciones generan inquietudes de distintas índoles, en que puede ser temas de estudios posteriores.

- 1.** Realizar estudios en ratones acerca de la eficacia antimicrobiana del extracto etanólico del Zingiber officinale sobre Salmonella typhi ATCC 14028, según la vía de administración, presentación y días de tratamiento.
- 2.** Difundir los resultados de la eficacia antimicrobiana in vitro del extracto acuoso de Zingiber officinale contra Salmonella typhi, de manera que se estimule producción y comercialización como arte de la medicina alternativa
- 3.** Realizar estudios sobre la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Zingiber officinale sobre la Salmonella typhi ATCC 14028 con el fin de conocer su menor concentración que inhibe el crecimiento visible de dicha bacteria, puesto que en este estudio solo se trabajó bajo concentraciones predeterminadas

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Organización Mundial de la Salud. Salmonella Nota descriptiva N°139. Washington. Agosto de 2013. (Citado 12 de abril del 2017) Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>
2. Pastor A, Arocas O, Delgado O, Eyaralar T, Gil G, Girona E. et al Introducción a las interacciones farmacológicas. Madrid: Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria: (Citado 20 de abril del 2017) SEFH. 2013
3. Okwute L. Olafiaji B. The effects of ginger [*Zingiber officinale*] on the microbial load of a nigerian traditionally fermented maize paste (OGI) American Journal of Research Communication 2013 (Citado 17 de abril del 2017): 1(9):84-99. Disponible en: [http://www.usa-journals.com/wp-content/uploads/2013/08/OkwuteVol\\_19.pdf](http://www.usa-journals.com/wp-content/uploads/2013/08/OkwuteVol_19.pdf)
4. Teimoory, H., Azizi, M., Najafi, M., Behzadi, A., Mohammad, R. Antibacterial activity of *Myrtus communis* L. and *Zingiber officinale* roscoe extracts against some Gram positive pathogens. ROAVS 2013, (Citado 23 de abril del 2017)478-481.
5. Islam K, Rowsni A, Khan M, Kabir S. Antimicrobial activity of ginger (*Zingier Officinale*) extracts against food-borne pathogenic bacteria. International Journal of Science, Environment and Technology 2014 (Citado 23 de abril del 2017); 3(3): 867 – 871. Disponible en: <http://www.ijset.net/journal/313.p>
6. Akintobi O, Onoh C, Ogele J, Idowu A, Ojo O, Okonko I. Antimicrobial Activity Of *Zingiber Officinale* (Ginger) Extract Against Some Selected Pathogenic Bacteria. Nature and Science 2013 (Citado 28 de abril del 2017);11(1):23-29. Disponible en: [http://www.sciencepub.net/nature/ns1101/002\\_12764ns1101\\_7\\_15.pdf](http://www.sciencepub.net/nature/ns1101/002_12764ns1101_7_15.pdf)
7. Gull I, Saeed M, Shaukat H, Aslam S, Samra Z, Athar A. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2012 Citado 23 de abril del 2017), 11:8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22540232>

8. Ekwenye U, Elegalam N. Antibacterial Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) Roscoe and Garlic (*Allium sativum* L.) Extracts on Escherichia coli and Salmonella typhi. International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences 2005 (Citado 21 de abril del 2017), 1: 411-417.
9. Instituto de ciencia y tecnología agrícola. Manual práctico para el cultivo del jengibre. Guatemala Programa de las naciones unidas para el desarrollo. 2012. (Citado 18 de abril del 2017). Disponible en: [https://doc-0g-a0-apps-viewer.googleusercontent.com/viewer/secure/pdf/3nb9bdfcv3e2h2k1cmql0ee9cvc5lole/f78qrem2f63io27v2ilv1omb853siceb/1494193950000/drive/\\*/ACFrOgBAjDgDyOhJ\\_w2aKDIw68eurW9cy79NaErE\\_f6umurHQF3dowSCoLdZSNzqVqzYWFAXDgfNo7dKfG4P65J-je6LwLHU5m7KchxsXM13ElmSohFsgguSKS8ypg=?print=true&nonce=ed994f48ctp76&user=\\*&hash=rhb\\_6m8g\\_6ekb44k\\_79h3sophdq\\_j3vq7nfv](https://doc-0g-a0-apps-viewer.googleusercontent.com/viewer/secure/pdf/3nb9bdfcv3e2h2k1cmql0ee9cvc5lole/f78qrem2f63io27v2ilv1omb853siceb/1494193950000/drive/*/ACFrOgBAjDgDyOhJ_w2aKDIw68eurW9cy79NaErE_f6umurHQF3dowSCoLdZSNzqVqzYWFAXDgfNo7dKfG4P65J-je6LwLHU5m7KchxsXM13ElmSohFsgguSKS8ypg=?print=true&nonce=ed994f48ctp76&user=*&hash=rhb_6m8g_6ekb44k_79h3sophdq_j3vq7nfv)
10. Ali B, Blunden G, Tanira M, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. Food and Chemical Toxicology 2008 (citado 21 de abril del 2017): 46(3):409–420
11. Sulieman A, Eltayeb F, Sulieman S, Osman N. Antimicrobial Activity of *Zingiber officinale* (Ginger) Oil against Bacteria Isolated from Children Throat. International Journal of Microbiology March 2015 (citado 9 de abril del 2017);1(2):2-7. Disponible en: <http://www.microbiozjournals.com/images/Amel.pdf>
12. Rahmani A, Al shabrmi F, Aly S. Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities. Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol 2014 (citado 23 de abril del 2017); 6(2):125-136
13. Koneman E, Winn J, Allen S Janda W. Diagnostico Microbiológica. 6ª ed, Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2012. (citado 11 de abril del 2017) pp 282. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=jyVQueKro88C&pg=PA242&dq=Salmonella+Typhi&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi5z6mCwt\\_TAhVDWCYKHSFNDsAQ6AEIJTAB#v=onepage&q=Salmonella%20Typhi&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=jyVQueKro88C&pg=PA242&dq=Salmonella+Typhi&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi5z6mCwt_TAhVDWCYKHSFNDsAQ6AEIJTAB#v=onepage&q=Salmonella%20Typhi&f=false)
14. Repetto M, Repetto G, Toxicología fundamental. 4ª ed. Madrid. Editorial Díaz de Santos. 2010. (citado 23 de abril del 2017) Disponible en:

- <https://books.google.com.pe/books?id=WheuVgivN6wC&pg=PA373&dq=cloranfenicol&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEWjMyube3t3TAhVKQyYKHSkkDRo4ChDoAQguMAM#v=onepage&q=cloranfenicol&f=false>
15. Centro de Atención Farmacéutica de la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas. Cloranfenicol. Lima. Ministerio de Salud. 2012. (citado 23 de abril del 2017) Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Cloranfenicol.pdf>
  16. Brunton L, Laurence L. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. Buenos Aires. McGraw Hill México, 2012.
  17. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza J, Moro M, Portolés A. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18ª ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2012. (citado 23 de abril del 2017). Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=BeQ6D40wTPQC&printsec=frontcover&dq=farmacologia&hl=es&sa=X&sqi=2&pj=1&ved=0ahUKEWjqu5qx3N3TAhVBTSYKHdLfA2UQ6AEIJTAB#v=onepage&q=farmacologia&f=false>
  18. Strasser G. La eficacia terapéutica desde el punto de vista de los sujetos en un contexto de pluralismo médico. Scripta Ethnologica 2014 (citado 3 de abril del 2017); XXXVI, pp. 78-106. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/148/14832692003.pdf>
  19. Valero L. Epidemiología general y demografía sanitaria. Salamanca. Universidad de Salamanca: 2011, pp 3-5.
  20. Torres C La resistencia bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming. Zaragoza Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. 2012. (citado 27 de abril del 2017) Disponible en: <http://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento48.pdf>
  21. Torres C La resistencia bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming. Zaragoza Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. 2012. (Citado 2 de Mayo del 2017) Disponible en: <http://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento48.pdf>
  22. Fernández R, Serrano C, Corral S. Guía de Terapéutica Antimicrobiana. 2ª edición. Sevilla: Distrito Sanitario Aljarafe y Hospital San Juan de Dios del Aljarafe; 2012. (citado 4 de Mayo del 2017) Disponible en: <http://www.>

[guiasalud.es/GPC/GPC\\_479\\_Antimicrobianos\\_Area-Aljarafe\\_2ed2012.pdf](http://guiasalud.es/GPC/GPC_479_Antimicrobianos_Area-Aljarafe_2ed2012.pdf)

23. Becton Dickinson GmbH. Instrucciones de uso medios en placa listos para usar BD XLD Agar (Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar). Berlin. 2013. (citado 29 de abril del 2017). Disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8783>
24. Sacsquispe R. Velasquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. (citado 28 de abril del 2017) Disponible en: [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua\\_l%20sensibilidad.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf)
25. Marín J. Estudio fotoquímico de *Vismia Cayennensis* y su probable actividad biológica. [Tesis doctoral]. Cumaná: Servicio de Publicaciones, Universidad de Oriente Núcleo de Sucre; 2009. (citado 6 de abril 2017) Disponible en: [http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/299/1/TESIS\\_KM.pdf](http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/299/1/TESIS_KM.pdf)
26. Picazo J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Madrid. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2010. (citado 23 de abril del 2017) Disponible en: [http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos\\_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf](http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf).
27. Instituto Nacional de Salud. Reglamento de ensayos clínicos. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2010. (citado 23 de abril del 2017) Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Reglamento%20ensays%20clinicos.pdf>
28. Carhuapoma M, López S, Roque M, Velapatiño C, Bell C, Whu D. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb "RUYAQ MUÑA". Ciencia e Investigación 2009; 12(2): 83-89. (Citado 2 de enero del 2018). Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/3404/4499>

**ANEXOS:**

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ACUOSO Y ETANOLICO del Zingiber**

**oficinale EN SALMONELLA TYPHI. ESTUDIO IN VITRO TRATAMIENTO;**

a) extracto acuosos ( )

b) extracto etanólico ( )

HALO INHIBITORIO EN mm.

PLACA	0 horas	12 horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						

