



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR:

Robert Francisco Rengifo Paima

ASESORES:

Mgtr. David Rene Rodríguez Díaz

Mgtr. Jaime Abelardo Polo Gamboa

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES.

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

Se la dedico al forjador de mi camino, a mi padre celestial, el que me acompaña y siempre me levanta de mi continuo tropiezo al creador, de mis padres y de las personas que más amo, con más sincero amor.

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; mucho de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos.

Robert Francisco Rengifo Paima

AGRADECIMIENTO

A Dios quien a forjado mi camino y me ha dirigido por el sendero correcto, el que en todo momento está conmigo ayudándome a aprender de mis errores y a no cometerlos otra vez, eres quien guía el destino de mi vida.

A la Universidad César Vallejo, que me acogió todo este tiempo en sus aulas brindándome los conocimientos valiosos y así poder forjar mi profesión.

A nuestros asesores que juegan un papel importante en el desarrollo de esta investigación, por estar siempre guiándome, en resolver mis dudas.

Robert Francisco Rengifo Paima

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Robert Francisco Rengifo Paima, con DNI N° 44722531, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada “**Efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro.**”, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

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

Trujillo, diciembre del 2018.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

Presento ante Ustedes la Tesis titulada “**Efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro.**”, con la finalidad de determinar si existe efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino.

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo para obtener el Grado Académico de Médico Cirujano.

Esperando cumplir con los requisitos de aprobación.

Robert Francisco Rengifo Paima

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
ÍNDICE	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
1.1. Realidad Problemática:	10
1.2. Trabajos Previos:	11
1.3. Teorías relacionadas al tema:	13
1.4. Formulación del problema:	18
1.5. Justificación del estudio:	18
1.6. Hipótesis:	19
1.7. Objetivos	19
II. MÉTODO	20
2.1. Diseño de investigación y tipo de investigación:	20
2.2. Variables y operacionalización:	21
2.3. Población, muestra y muestreo:	23
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad:	24
2.5. Métodos de análisis de datos:	24
2.6. Aspectos éticos:	25
III. RESULTADOS	26
V. DISCUSIÓN	30
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
VIII. REFERENCIAS	35
IX. ANEXOS	38

RESUMEN

Se realizó un estudio experimental con el objetivo de evaluar el efecto bactericida del aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* (jengibre) comparado con ciprofloxacino a la concentración de 5 µg sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922. Se realizaron cuatro diluciones del aceite esencial (100 %, 75 %, 50 % , 25 %), ciprofloxacino a 5 µg, un control neutro con DMSO y 10 repeticiones por cada grupo de estudio, se obtuvo que el aceite esencial mostró halos de inhibición a partir de la dilución al 75 % (18,5 mm DS ± 1,1 IC 95% 17-20) al 100 % (21.9 mmm DS ± 1.9 IC 95% 19-24) y valores considerados como no eficaces por el instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI) (>15mm), no superando el halo de inhibición del ciprofloxacino (33,5 mm DS ± 1.2 IC 95% 31 – 35). Se analizó la normalidad de los datos recolectados mediante la prueba de Shapiro Wilk y la prueba de Levene para contrastar la homogeneidad de varianzas. Posterior se aplicó la prueba de Kruskal Wallis donde se evidencio que existe diferencia estadística significativa entre ambos tratamientos, presentando mejores zonas de inhibición el aceite esencial de jengibre 100% y el ciprofloxacino ($p = 0.000 < 0.05$), además el gráfico de boxplot se evidencia las zonas de inhibición al aplicar los distintos tratamientos. Se concluye que el aceite esencial tiene efecto bactericida sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, menor que ciprofloxacino, pudiendo ser utilizado como coadyuvante en el tratamiento de *Escherichia coli*.

Palabra claves: Aceite esencial, *Zingiber officinale roscoe*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

An experimental study was undertaken to evaluate the antibacterial effect of essential oil of *Zingiber officinale Roscoe* ginger-root compared with ciprofloxacin at a concentration of 5 µg on strains of *Escherichia coli ATCC 25922*. Four dilutions of essential oil (100 %, 75 %, 50 %, 25 %), ciprofloxacin at 5 µg, a neutral control with DMSO, with 10 repetitions for each study group, resulted that essential oil showed inhibition zones for the 75% dilution (18.5 mm DS ± 1.1 95% CI 17-20), for 100% (21.9 mm DS ± 1.9 95% CI 19-24), values considered ineffective by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (>15mm), not exceeding the inhibition zone for ciprofloxacin (33.5 mm DS ± 1.2 95% CI 31 - 35). The normality of the data collected was analyzed using Shapiro-Wilk test and Levene's test to contrast the homogeneity of variances. Later the Kruskal-Wallis test was applied, where it was evidenced that there is a significant statistical difference between both treatments, presenting better inhibition zones of essential oil of 100%-dilution ginger and ciprofloxacin ($p = 0.000 < 0.05$). In addition the boxplot graph shows the inhibition zones on applying the different treatments. It is concluded that the essential oil has an antibacterial effect on *Escherichia coli ATCC 25922*, less than ciprofloxacin, and can be used as an adjunct in the treatment of *Escherichia coli*.

Key words: Essential oil, *Zingiber officinale Roscoe*, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad Problemática:

Actualmente el empleo indiscriminado de diversos fármacos en infecciones gastrointestinales ha causado el aumento de la resistencia microbiana, ya que estos medicamentos tienen la función de contrarrestar dichas infecciones en el organismo sin la supervisión del personal médico o tratamiento inadecuado. Las enfermedades diarreicas agudas, producidas en el ser humano habitualmente son provocados por *Escherichia coli* siendo uno de los más importantes.¹

Escherichia coli (E.C) se caracteriza por una rápida colonización intestinal después de ocurrido el nacimiento, comúnmente se encuentra alojado como comensal en el microbiota intestinal; la diarreogénica es uno de los principales agentes bacterianos de cuadros diarreicos en el Perú y a nivel mundial. Hasta la fecha se sabe de seis categorías diferentes¹ *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC), difusamente adherente (DAEC), enterotoxigénica (ETEC), productora de toxina shiga (STEC), enteroagregativa y (EAEC), enteroinvasiva (EIEC)², con alta patogenicidad el cual se manifiestan de distinta forma, manifestando diferente sintomatología.¹

De las distintas categorías resalta *Escherichia coli* entero agregativa (ECEA), el cual se asocia a cuadros de diarreas en los niños, siendo el responsable de distintos episodios que van desde diarreas agudas a diarreas persistentes.¹ Las fluoroquinolonas son un grupo farmacológico de agentes bactericidas, y muy efectivos, que poseen espectro amplio y específicamente sobre los microorganismos gram negativos.³

El *Zingiber officinale roscoe* (jengibre) se utiliza popularmente como antimicrobiano especialmente frente a los microorganismos responsables de las enfermedades diarreicas agudas. La población bacteriana saludable (*Lactobacillus*), tolera el efecto que produce el jengibre, razón por la cual permite el incremento de estos microorganismos que tienen una gran importancia en la

microbiota intestinal y a su vez actúa eliminando microorganismos perjudiciales, como las *Escherichia coli* asociados a intoxicaciones alimentarias en la población infantil.⁴

1.2. Trabajos Previos:

Internacionales:

Ayala D.⁵ (Ecuador, 2016) determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de margarita (*Calendula officinalis*) y del jengibre (*Zingiber officinale*) sobre cepas de bacterias gram negativas de tipo *Porphyromonas gingivalis*, el aceite esencial se obtuvo mediante el método de arrastre de vapor, los cuales fueron colocados en los medios de cultivo por medio de sensidiscos observando: la eficacia antibacteriana del aceite de esencial de margarita con un promedio de 5mm de halo inhibitorio y el jengibre obtuvo 11.5mm de halo inhibitorio, siendo mayor el efecto antibacteriano del aceite esencial de Jengibre.

Sharma P.⁶ (India, 2016) investigó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de jengibre, por el método de difusión en disco por triplicado utilizando para la determinación de MIC en 24-48 h. Los cultivos se ajustaron con agua salina para obtener una suspensión a una concentración de 1×10^6 CFU/ml con un patrón McFarland No. 0.5. El aceite esencial se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) en dos veces se realizaron diluciones en serie en un intervalo de concentración de 10 μ l / ml a 1 μ l / ml. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de jengibre se ensayó contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. Las zonas de inhibición estaban en el intervalo de 17.8 ± 1.2 para *Escherichia coli*.

Hamad, A, et al.⁷ (Indonesia, 2015) evaluó el extracto crudo y el aceite esencial del rizoma seco de dos plantas de la familia *Zingiberaceae*, *Alpinia galanga* y *Zingiber officinale*, para determinar sus componentes químicos y su actividad antimicrobiana. Los aceites esenciales se analizaron mediante cromatografía de gas - espectroscopía de masas (GCMS). La concentración inhibitoria mínima

(CMI) de aceites esenciales y extractos crudos se evaluó mediante el método de dilución de caldo de cultivo con *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Vibrio cholerae*, La concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de jengibre contra *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* fue de 500 µg / mL.

Rone A. et al.⁸ (Brasil, 2015) compararon la actividad antibacteriana de tintes de hojas de *Passiflora edulis Sims* (maracuyá) y raíces de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre). La metodología utilizada fueron las técnicas de difusión en agar y microdilución frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 19659, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella sp* ATCC 19196 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. El tinte de jengibre fue más activo que el de maracuyá, en las diluciones evaluadas (100, 50, 25 y 12.5%) por el método de microdilución frente a los diferentes microorganismos, presentando halos de inhibición de 8 mm para *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y 10 mm para *Salmonella sp*.

Majolo C.⁹ (Brasil, 2014) evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial extraído de rizomas de azafrán (*Curcuma larga L.*) y del jengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) frente a gram negativos tipo salmonela entéricas. Los aceites esenciales se obtuvieron utilizando un aparato tipo Clevenger. La actividad antibacteriana fue realizada con el empleo de técnica de microdilución en caldo. El aceite esencial de jengibre se mostró más eficiente que el aceite de azafrán, tanto en términos de acción bacteriostática (CMI de 2500 a 5000 µg.mL⁻¹) como bactericida (CMI de 5000 a 10000 µg.mL⁻¹). Así, el aceite esencial de jengibre representa una alternativa para el control de bacterias gram negativas de tipo *Salmonella* entérica.

Yuba B.¹⁰ (Argelia, 2014) estudió la actividad antimicrobiana, mediante el método de difusión en disco y se determinó la CMI usando el método de incorporación de agar, en términos de actividad antimicrobiana, los compuestos de jengibre fueron más eficaces contra *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, y menos eficaces contra *Bacillus cereus*. Las

concentraciones inhibitorias mínimas de la oleoresina y del aceite esencial fueron de 10 mg / ml y 173,84 mg / ml, respectivamente

Gao D.¹¹ (China, 2010) comparó las actividades antibacterianas en disolventes de jengibre seco y jengibre procesado, mediante el método de difusión de disco. Los resultados mostraron que cada disolvente orgánico tenía actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922, *Shigella flexneri* ATCC12022, *Proteus vulgaris* ATCC13315, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853. Los resultados mostraron que la CMI de cada uno de los extractos oscilaba entre 50 y 125 µg / ml. Para la misma cepa, cada extracto tenía CMI diferente, tal como contra *Escherichia coli* ATCC25922, que era la menos, sólo 50 µg / mL, mientras que su extracto de hexano era 62,5 µg / mL.

1.3. Teorías relacionadas al tema:

El rizoma del *Zingiber officinale roscoe* contiene 1 – 4 % de aceite esencial y una oleoresina. La composición del aceite esencial varía en función del origen geográfico, pero el principal constituyente de los hidrocarburos sesquiterpénicos (responsable del aroma y efecto bactericida) parece mantenerse constante.¹² El aceite esencial, contiene zingibereno, dextrocamfeno, felandreno, sesquifelandreno, metiheptenona, cineol, geraniol, linalol, citral, borneol, beta-bisaboleno, farneseno, alfa-curcumeno, zingiberol, aldehídos decílicos y nonílicos, resina, derivados de tipo fenilpropanoide, como gingerol y shogaol o zingerona, responsable de su sabor picante, ceras, aceite fijo, pectina y asmazona.¹³

Las enterobacterias son un gran grupo extenso y heterogéneo de muchos bacilos Gram (-) y habitualmente se encuentran en los intestinos de los seres humano y los animales. Algunos de ellos, por ejemplo, *Escherichia coli* (EC), forman parte de la microbiota intestinal normal y en ocasiones incidental pueden llegar a producir enfermedades, EC y otras bacterias entéricas se caracterizan por formar colonias en forma de círculos, convexos y lisas con bordes preferentemente distintivos, suele producir positividad para indol y lisina

descarboxilasa, fermentan manitol y característicamente producen gas a partir del metabolismo de la glucosa.¹⁴

Las pilosidades presentes en las bacterias juegan un papel importante en la virulencia, actuando como mediadores para la unión a las diversas superficies de los epitelios presentes en los seres humanos. Muestran un marcado tropismo por diferentes tipos de células epiteliales, lo que depende de la disponibilidad de su receptor específico en la superficie de la célula hospedadora. Gran parte de las EC, manifiestan una pilosidad o de tipo 1 o, el cual tiene preferencia con los residuos de D – manosa que usualmente se encuentran en todas las superficies epiteliales de las células y es así que se presenta la unión a una amplia gama de diversos tipos celulares presentes. Las pilosidades más especializadas que juegan un papel importante en la fijación a los enterocitos se hallan en diversas subpoblaciones de EC, las que predisponen a causar diarrea y son propias para el tipo de patógeno. Los receptores para las pilosidades entéricas no se conocen con detalle, pero incluyen glucolípidos y glicoproteínas en la superficie del enterocito.¹⁵

Escherichia coli es una bacteria Gram (-) que puede causar la producción de tipos diversos de endotoxinas, propias de las enterobacterias, lo que incluye las citotoxinas formadoras de poros, inhibidores de la síntesis de proteínas, así como diversas toxinas que alteran las vías de mensajes en las células hospedadoras. “La hemolisina α es una citotoxina” que se encarga de formar poros que le sirve para la inserción dentro de la membrana plasmática celular de una amplia variedad de células hospedadoras de manera similar a la estreptolisina O y la toxina α de *Staphylococcus aureus*. La toxina se caracteriza por ocasionar la salida del contenido intracelular (citoplásmico) provocando finalmente lisis celular. “El factor necrosante citotóxico (CNF) a menudo es producido en combinación con hemolisina α . “CNF es una toxina AB” que se encarga de alterar la regulación de las proteínas tipo G mediante la modificación de las vías que se encargan de la señalización dentro del citoplasma celular.¹⁵

Escherichia coli es el responsable productor de diarrea a nivel mundial. Estas bacterias se clasifican de acuerdo con las diversas características de virulencia, cada grupo se caracteriza por causar enfermedad por distintos mecanismos. La adherencia a las células epiteliales del intestino delgado o grueso es una propiedad el cual se codifica por algunos genes específicos presentes en los plásmidos. También, estas toxinas son a menudo mediadas por diversos plásmidos o fagos.¹⁴

Las diversas infecciones a nivel intestinal se encuentran limitadas a las producidas por las 6 clases de *Escherichia coli* que se consideran como patógenos entéricos: *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP), *Escherichia coli* enterotoxigenica (ECET), *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH), *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEA), *Escherichia coli* difusamente adherente (ECDC).¹⁶

Escherichia coli enteropatógena (ECEP) causante importante de diarrea que se presentan en la etapa de los lactantes, específicamente en los países que se encuentran en vías de desarrollo. ECEP se incorpora firmemente al epitelio mucoso del intestino delgado. La adherencia es mediada por cromosomas que lo favorecen. Se presenta degeneración de las microvellosidades existentes y se forman bases de actina filamentosa, además por momentos, hay ingreso de ECEP en las células del epitelio intestinal. El resultado final de la contaminación por ECEP es diarrea líquida, que generalmente cede de manera natural, pero en algunas ocasiones puede llegar a la cronicidad. La diarrea por ECEP se vincula con determinados serotipos EC. Las cepas se reconocen por la presencia del antígeno O y otras ocasiones mediante la tipificación del antígeno H. El transcurso de la diarrea por ECEP puede simplificarse y la diarrea que se vuelve crónica puede tratarse con antibioterapia.¹⁴

La diarrea por *Escherichia coli* enterotoxigenica (ECET) provocada por cepas de EC creadoras de enterotoxinas LT, ST o juntas, ubicadas en la zona proximal del intestino delgado. Las cepas que producen LT y ST causan enfermedad más grave. La adherencia a la superficie de las microvellosidades es mediada por el factor de colonización (CF), las pilosidades son esenciales para el suministro de la toxina a

los enterocitos. “Los genes que codifican ST, LT y CF se originan en plásmidos”. Un solo plásmido puede transportar los tres grupos de genes. Las bacterias usualmente permanecen en la superficie, donde la acción del adenilato ciclasa de las toxinas la salida de agua y electrolitos del enterocito hacia la luz intestinal. Se presenta hiperemia de la mucosa, pero esta no se ve afectada en el proceso. Así misma ausencia de invasión e inflamación.¹⁵

Escherichia coli enteroinvasiva (ECEI) encargada de producir la enfermedad por los mismos mecanismos ocasionados por *Shigella* el cual comprende el ingreso en el epitelio celular, muerte de la vacuola endocítica, replicación intracelular, un movimiento direccionado a través del citoplasma y extensión dentro del epitelio celular adyacente. Cuando la infección es grave, estos diversos eventos ocasionan una reacción inflamatoria, el cual produce ulceraciones. La lesión se presenta en la mucosa colónica, ocasionando diarreas mucosanguinolentas, cólicos y tenesmo, puede haber fiebre y en las heces la presencia de polimorfonucleares. “Los genes están en un plásmido de 140 MDa”.¹⁶

Las cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH) causan las lesiones por fijación y desprendimiento, además la producción de la toxina Stx. Ataca principalmente el colon mucho más que al intestino delgado. La interacción de ECEH con enterocitos es la misma que para ECEP, con la diferencia de que las cepas ECEH no forman microcolonias localizadas en la mucosa. La intimina es un prótido de la membrana externa que media la adherencia, y la inyección del sistema de secreción introduce proteínas de secreción de *Escherichia coli*, las cuales pueden causar alteraciones en el citoesqueleto de las células hospedadoras.¹⁵

Escherichia coli enteroagregativa (ECEA) ocasiona diarrea aguda y crónica (> de 2 semanas) preferentemente en la persona de países que se encuentran en vías de desarrollo. Son también la razón de enfermedades adquiridas por los alimentos en los países avanzados. Se califican presentando pautas muy precisas de unión a las diversas células del cuerpo humano. ECEA fabrica una toxina semejante a ST y una hemolisina.¹⁴

Muchos autores consideran en la actualidad a *Escherichia coli* con patrones de adherencia difusa característica de esta especie. Se ha caracterizado una fimbria superficial que se encarga de la adhesión difusa nombrada F 1845 y que esta mediada por genes cromosomales o pueden estar portados de un plásmido. Estudios han vinculado a estas cepas con la producción de diarreas, en niños de 1 a 5 años. Las heces de esta infección son líquidas, sin sangre ni leucocitos.¹⁵

Las quinolonas obstaculizan la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano por inhibición de la topoisomerasa II bacteriana (ADN girasa) y la topoisomerasa IV. La inhibición de la ADN girasa evita la relajación del ADN positivamente superenrollado, imprescindible para la transcripción y la replicación normal. La obstaculización de la topoisomerasa IV impide la separación del ADN cromosómico replicado en las células hijas respectivas mientras se produce la división celular.¹⁷

La enzima ADN girasa de *Escherichia coli* contiene 2 subunidades A (α) polipeptídicas de 105 kD, y 2 subunidades B (β), también polipeptídicas, de 95 kD. Las subunidades A, hacen incisiones en sitios determinados del ADN de una sola banda y después se unen y corrigen esos cortes. Las quinolonas ejercen acción sobre estas subunidades, evitando la multiplicación de las incisiones que se fabrican en el ADN. Su acción se expresa macroscópicamente por una elongación anormal de las bacterias, ya que el ADN pierde la forma superenrollada e incrementan el volumen.¹⁸

Las fluoroquinolonas son potentes bactericidas contra *Escherichia coli*, y diversas especies de *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Campylobacter* y *Neisseria*. Las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de las fluoroquinolonas para 90% de estas cepas (MIC₉₀) suelen ser menores de 0.2 $\mu\text{g/ml}$ (21 mm halo de inhibición). El ciprofloxacino inhibe el enrollamiento excesivo del DNA gobernado por la girasa a una concentración que se correlaciona con la necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano (0.1 a 10 $\mu\text{g/ml}$). En infecciones gastrointestinales, para la diarrea del viajero (causada por *Escherichia coli* enterotoxígena), las quinolonas son efectivas y reducen el tiempo de la diarrea entre 1 y 3 días. El potencial *in*

vitro que poseen las quinolonas para inducir el gen *stx2* de la “toxina Shiga (que es la causa del síndrome hemolítico urémico)” en *Escherichia coli*, se propone que no se deben utilizar quinolonas contra *Escherichia coli* productor de toxina Shiga.¹⁹

1.4. Formulación del problema:

¿Cuál es el efecto bactericida que tiene el aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” sobre el *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio *in vitro*?

1.5. Justificación del estudio:

Debido al crecimiento acelerado de la resistencia antibiótica de las bacterias, surge en gran medida un gran problema con respecto a la salud pública en el planeta, esto es debido al uso inadecuado de antibióticos el cual conlleva a adquirir diversas enfermedades mucho más agresivas; por esta razón organismos nacionales e internacionales, como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los centros de prevención para el Control de Enfermedades han puesto particular interés en el desarrollo de otras alternativas de tratamiento.²⁰

Junto a ese problema y el elevado costo de la medicina moderna, una gran parte de la población tiene una muy buena aceptación de diversos compuestos de origen natural y por esta razón ha llevado a muchas más personas a adoptar diversos tratamientos con productos naturales, tales como los medicamentos a base de plantas y hierbas medicinales.²¹

Dentro de estas alternativas se determinó si el aceite esencial del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” tiene realmente efecto bactericida sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 y así poder mejorar o complementar un tratamiento específico que resulte de fácil acceso y a bajo costo frente a la infección por *Escherichia coli*.²¹

1.6. Hipótesis:

H₁: Posee efecto bactericida el aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” sobre el *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro.

H₀: No posee efecto bactericida el aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” sobre el *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro.

1.7. Objetivos

General

- Evaluar el efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro.

Específicos

- Estimar el efecto bactericida del aceite esencial al 25%, 50%, 75% y 100% de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Estimar el efecto bactericida del ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Comparar el efecto bactericida de ambos tratamientos sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación y tipo de investigación:

Tipo de investigación: básico

Diseño de investigación: experimental: de series de tiempo con repeticiones múltiples

Experimento múltiples repeticiones

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

Donde:

R: Asignación al azar.

G: Placas Petri con *Escherichia coli* ATCC 25922.

X1: Dilución de *Zingiber officinale roscoe* al 25%

X2: Dilución de *Zingiber officinale roscoe* al 50%

X3: Dilución de *Zingiber officinale roscoe* al 75%

X4: Dilución de *Zingiber officinale roscoe* al 100%

X5: Tratamiento estándar con Ciprofloxacino

X6: Agua destilada/DMSO (dimetilsulfóxido).

O: Las observaciones.

FACTOR: Tratamiento bactericida frente a <i>E. coli</i> .	E. Coli		GRUPO
	Eficaz	No Eficaz	
RG1	A	b	CASO 1
RG2	C	d	CASO 2
RG3	E	f	CASO 3
RG4	G	H	CASO 4
RG5	I	j	CASO 5
RG6	K	l	TESTIGO

2.2. Variables y operacionalización:

Identificación de variables:

- Variable Independiente: Esquema de tratamiento antibacteriano para *Escherichia coli* ATCC 25922.
 - a) No farmacológico: Aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* (jengibre).
 - b) Farmacológico: Ciprofloxacino

- Variable Dependiente: Efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.
 - a) Eficacia: Aumento del halo de inhibición
 - b) No eficaz: Disminución del halo de inhibición.

Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORE S	ESCALA DE MEDICION
Variable Independiente: Esquema de tratamiento para <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	Para el tratamiento de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. se utiliza: Tratamiento no farmacológico con jengibre ⁶ . Tratamiento farmacológico con ciprofloxacino ¹⁹ .	La población será dividida en los siguientes grupos: a. Dilución de <i>Zingiber officinale roscoe</i> al 25 % b. Al 50 %. c. Al 75 %. d. Al 100 %. e. Ciprofloxacino f. Agua Destilada/DMSO.	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
Variable dependiente: Efecto antibacteriano	Acción de una sustancia o compuesto con características propias para controlar la reproducción bacteriana, de forma que puede actuar como bactericida o bacteriostático ¹⁹ .	Se medirá la distancia entre el borde externo de la gota del aceite esencial (vertido en la placa petri) y la línea final formada por el halo de inhibición. No Eficaz Eficaz	≤ 14 mm. ≥ 15 mm.	Cualitativa Nominal

2.3. Población, muestra y muestreo:

Población:

Se utilizó todas las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 cultivadas en el laboratorio clínico “San José” (anexo 06)

Muestra:

Para el estudio experimental se empleó la siguiente fórmula ²²

$$n = \frac{\left(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta} \right)^2 2\sigma^2}{\left(\bar{X}_1 - \bar{X}_2 \right)^2}$$
$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2(1.2)^2}{(21 - 19)^2}$$
$$n = 5.6$$
$$n = 6$$

Dónde:

- $Z_{\alpha/2} = 1,96$ Para un nivel de confianza del 95%
- $Z_{\beta} = 0,84$ para una potencia de prueba del 80%
- $\sigma^2 = \pm 1.2^6$
- $X_1 = 21 \text{ mm}^{20}$
- $X_2 = 19 \text{ mm}^6$

Unidad de análisis:

Fueron cada una de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Unidad de muestreo:

Cada placa petri de cultivo.

Criterios de selección:

- Criterios de inclusión: Fueron los cultivos puros de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Criterios de exclusión: Fueron los cultivos de *Escherichia coli* ATCC25922 contaminadas, inactivas o inertes y las que no desarrollaron el crecimiento de colonias.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad:**Técnica:**

Consistió en la observación del crecimiento del *Escherichia coli* ATCC 25922 en la placa petri.

Procedimiento:

Se obtuvo el aceite esencial de *Zingiber officinale roscoe*, utilizando el método de extracción por arrastre de vapor de agua (anexo 03) y para la prueba de sensibilidad antimicrobiana el método de disco de difusión del estándar M44A 26th edition del CLSI (anexo 04).

Instrumento:

Se utilizó una ficha de observación de datos (anexo 01), el cual fue validado mediante la ficha de evaluación del instrumento por 3 expertos.

2.5. Métodos de análisis de datos:

Los datos obtenidos en los resultados fueron tabulados en el programa Microsoft Excel 2013 y se sometieron a pruebas estadísticas en el Software estadístico SPSS v23.0, Se analizó la normalidad de los datos recolectados mediante la prueba de Shapiro Wilk por tratarse de muestras pequeñas (<30), además de la prueba de Levene para contrastar la homogeneidad de varianzas. Posterior a ello y demostrándose que los datos no tienen un comportamiento normal se aplicó la

prueba de Kruskal Wallis además de complementarlo con medidas estadísticas descriptivas y 1 gráfico de boxplot para evidenciar el comportamiento de las zonas de inhibición al aplicar los distintos tratamientos (anexo 02)

2.6. Aspectos éticos:

Se tomó en cuenta los protocolos de calidad del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS), revisando los parámetros M2, M7, M23 Y M100 (anexo 05).

III. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto bactericida sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro.

Tratamiento	muestras	Efecto			
		Eficaz		No eficaz	
		n	%	N	%
Aceite esencial de jengibre 25%	10	0	0%	10	100%
Aceite esencial de jengibre 50%	10	4	40%	6	60%
Aceite esencial de jengibre 75%	10	10	100%	0	0%
Aceite esencial de jengibre 100%	10	10	100%	0	0%
Ciprofloxacino	10	10	100%	0	0%

Fuente: Ficha de observación de laboratorio

Interpretación:

En la tabla 1 se observa que el aceite esencial de jengibre al 75% y 100% de concentración fueron eficaces en su totalidad de las muestras analizadas, similares resultados se obtuvieron al aplicar ciprofloxacino, resultados totalmente opuestos evidenció el aceite esencial de jengibre al 25% de concentración mostrando 0% de eficacia.

Tabla 2. Efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” y del ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, medido a través del halo de inhibición.

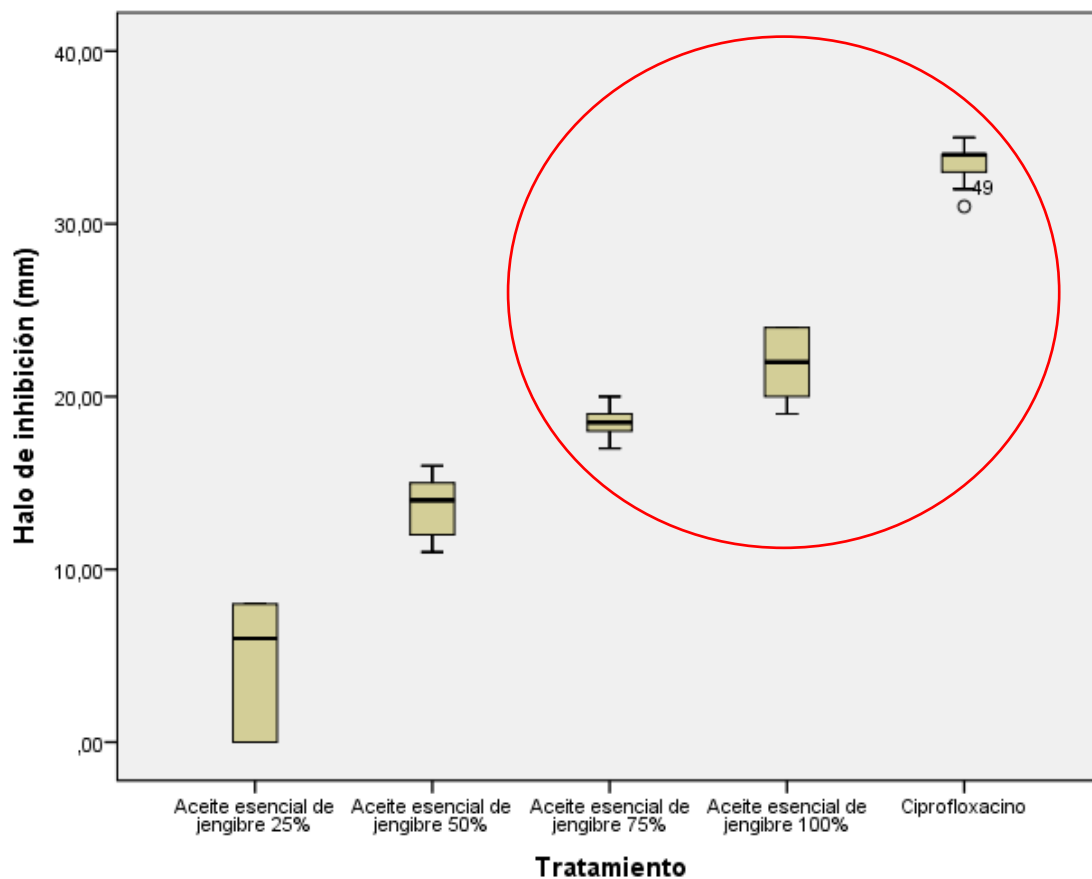
	N	Media	Desviación estándar	95% del I.C. para la media		Mín.	Máx.	Eficacia
				Lím. inferior	Lím. Superior			
Aceite esencial de jengibre 25%	10	4.9	3.5	2.4	7.4	0	8	No eficaz
Aceite esencial de jengibre 50%	10	13.6	2.0	12.2	15.0	11	16	No eficaz
Aceite esencial de jengibre 75%	10	18.5	1.1	17.7	19.3	17	20	Eficaz
Aceite esencial de jengibre 100%	10	21.9	1.9	20.6	23.2	19	24	Eficaz
Ciprofloxacino	10	33.5	1.2	32.7	34.3	31	35	Eficaz

Fuente: Ficha de observación de laboratorio

Interpretación:

La tabla 2 se muestra las zonas o halos de inhibición promedio mostrando que mayores halos se obtuvo con ciprofloxacino con 33.5 ± 1.2 mm seguido de aceite esencial de jengibre al 100% de concentración con 21.9 ± 1.9 mm y aceite esencial de jengibre en 75% de concentración con 18.5 ± 1.1 mm, en los casos antes mencionados todas las muestras resultaron tener efecto eficaz (≥ 15 mm).

Figura 01: Comparación del efecto bactericida de ambos tratamientos sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.



Fuente: Ficha de observación de laboratorio

La figura 01 muestra al ciprofloxacino como el mejor tratamiento bactericida sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 seguido del aceite esencial de jengibre al 100% de concentración.

Tabla 3. Comparación del efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” y del ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, usando la prueba de Kruskal Wallis.

Rangos		Prueba de Kruskal Wallis				
Halo de inhibición (mm)	Tratamiento	N	Rango promedio	Chi-cuadrado	Gl	Sig. asintótica
		Aceite esencial de jengibre 25%	10	5.50	46.75	4
	Aceite esencial de jengibre 50%	10	15.50			
	Aceite esencial de jengibre 75%	10	26.05			
	Aceite esencial de jengibre 100%	10	34.95			
	Ciprofloxacino	10	45.50			
	Total	50				

Fuente: Ficha de observación de laboratorio

Interpretación:

En la tabla 3 se pudo evidenciar que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos en aplicados sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, presentando mejores rangos promedio de zonas de inhibición el aceite esencial de jengibre 100% y el ciprofloxacino ($p = 0.000 < 0.05$).

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto bactericida del aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino a 5 µg, en un estudio in vitro. Para poder evaluar, en primer lugar, se identificó el diámetro de los halos de inhibición que se formaron como resultado de la actividad bactericida que ejerció el aceite esencial del jengibre en cuatro concentraciones distintas al 100%, 75%, 50%, 25% y el ciprofloxacino a 5 µg, sobre la bacteria sobres sepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, teniendo en consideración los procedimientos recomendados por el instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI).

Los resultados observados en la tabla 1 nos indica que el aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” a mayor concentración es decir al 100% y 75% fueron realmente eficaces sobre la totalidad de las muestras analizadas con dichas concentraciones, estos resultados obtenidos fueron similares, más no superiores que al aplicar el ciprofloxacino, caso contrario ocurre con el aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” el cual se evidenció que a menor concentración, al 50% y 25% se obtuvieron resultados no eficaces con dichas concentraciones.

En la tabla 2 se aprecia el promedio de diámetro de los halos de inhibición obtenidos respectivamente, ratificando al ciprofloxacino como gold standard frete a las cepas de *Escherichia coli* evidenciado porque muestra mayor promedio de diámetro de halo de inhibición con 33.5 ± 1.2 mm, seguido del aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” al 100% (21.9 ± 1.9 mm) y 75% (18.5 ± 1.1 mm) respectivamente, estos valores se considera que *Escherichia coli* es sensible a este agente al 75% y 100%, según lo establecido por el estándar M60 del instituto de estándares clínicos y de laboratorio CLSI (≥ 15 mm). los cuales superan el parámetro establecido del presente estudio para ser considerados como eficaces (≥ 15 mm).

En la tabla 3 se evidenció que mediante la aplicación de la prueba estadística escogida para el presente estudio (Prueba de Kruskal Wallis), se concluye que existe realmente diferencia estadística significativa entre ambos tratamientos escogidos por el presente

estudio, los cuales fueron aplicados de igual forma sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, presentando mejores diámetros promedio de halos de inhibición para el aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” al 100%, la eficacia del aceite esencial del jengibre va aumentando, mostrando que tiene cierto grado de efecto bactericida pero no supera al ciprofloxacino a 5µg ($p = 0.000 < 0.05$).

Los resultados obtenidos en el presente estudio tienen valores mayores que los obtenidos por Ayala D.⁵ un halo de inhibición de 11.5 mm, con aceite esencial de jengibre al 100%, el cual considero el mayor efecto antibacteriano de su estudio frente a cepas de bacterias gram negativas, Sharma P.⁶ quien Investigó la actividad antimicrobiana del aceite esencial del jengibre a diversas diluciones encontrando un diámetro de halo promedio de 17.8 ± 1.2 para *Escherichia coli*, dicho halo supera a lo encontrado por Ayala D.⁵ pero dichos datos no superan a los obtenidos en el presente estudio a la misma concentración 100% (21.9 ± 1.9 mm) y por el mismo método de obtención del aceite esencial.

Así mismo Rone A. et al.⁸ comparó la actividad antibacteriana de la raíz de *Zingiber officinale Roscoe* “jengibre”, en diversas diluciones (100%, 50%, 25% y 12.5%) obteniendo un halo promedio de inhibición de 8 mm, halo muy por debajo de lo obtenido en el presente estudio con diluciones similares a pesar de utilizar el mismo método de disco difusión para la prueba de susceptibilidad, los resultados difieren grandemente.

La diferencia encontrada de los resultados del presente estudio con los otros estudios se debe a diferentes aspectos y propiedades de la planta estudiada, como son los componentes fitoquímicos los cuales varían de acuerdo con el medio ambiente donde se cultivan y esto en gran manera afecta o potencia su acción bactericida o antimicrobiana. Razón por la cual se aprecia grandes diferencias en los resultados del presente estudio con los otros estudios, el cual implica también las diferentes zonas geográficas ya que poseen diferentes características en relación con el terreno, Estos compuestos antimicrobianos son principalmente los sesquiterpénicos¹³ que se forman de varias unidades de isopreno, que van a actuar directamente a nivel de la pared celular, síntesis de proteínas, reduciendo los niveles de intracelulares de ATP, reducen el pH intracelular y cambios en el citoplasma. A estos se suma la influencia de diversas características del medio ambiente como son la temperatura, humedad, altitud, entre otras, que influyen

directamente sobre el potencial y la riqueza de los diferentes nutrientes que va a aportar cada zona geográfica específica y esto determina en gran medida la calidad de las plantas que se cultivan en los diversos terrenos geográficos, los cuales serían los responsables del efecto bactericida contra *Escherichia coli*.

VI. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” tiene efecto bactericida sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 in vitro, pero no supera la eficacia bactericida del ciprofloxacino.
- En relación con las concentraciones del aceite esencial de la raíz *Zingiber officinale roscoe* “jengibre”, se encontró que, a mayor concentración de este, el halo de inhibición se incrementa evidenciándose que al 100% el halo de inhibición fue de 21.9 mm.
- Las concentraciones del aceite esencial de *Zingiber officinale roscoe* “jengibre” al 25% y 50% no fueron eficaces, mostrando menor efecto bactericida sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, con halos de inhibición de 13.6 mm y 4.9 mm respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

Estos tipos de investigaciones generan inquietudes de diversos indoles, las cuales pueden ser tema de trabajo de estudios posteriores.

- Se puede ampliar el estudio combinando el aceite esencial de jengibre con el ciprofloxacino para potenciar el mayor efecto bactericida.
- Se puede estudiar otras formas adicionales al aceite esencial, como extracto alcohólico, acuoso sobre bacterias gran positivas, gran negativas y hongos.
- Aplicar el tratamiento y comparar los resultados en condiciones in vitro con los resultados in vivo, en modelos roedores.
- Realizar comparaciones del efecto antimicrobiano del aceite esencial del jengibre con otros extractos similares.
- Ampliar los trabajos de investigación orientados hacia la determinación de la concentración mínima inhibitoria de aceite esencial con resultados verificados.
- Investigar en los métodos de aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios de *Zingiber officinale roscoe*, para su inclusión en productos farmacéuticos y alimenticios

VIII. REFERENCIAS

1. Arias I, Cáceres O, Figueroa M, Huguet J, Camiña M. *Escherichia coli* enteroagregativa en niños con diarrea de un hospital de Lima. Rev Perú Med Exp 2004; Salud Pública 21(3):176 – 178.
2. Ochoa T, Mercado E, Durand D, Rivera F, Contreras C. Frecuencia y patotipos de *Escherichia coli* diarrogénicas en niños peruanos con y sin diarrea. Rev Perú Med Exp 2011; Salud Pública 28(1):13-20.
3. Wong C, Galvis V, Tello A, Villareal D, Rey J. Susceptibilidad antibiótica in vitro a fluoroquinolonas Arch Soc Esp Oftalmol 2012; 87(3):72–78.
4. Propiedades del jengibre, Beneficios de las propiedades del jengibre [Internet]. España; botanical-online.com.
5. Ayala D. 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 [tesis pregrado]. Quito - Ecuador. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Odontología. 2016
6. Sharma P, Singh V, Ali M. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Fresh Rhizome Essential Oil of *Zingiber Officinale* Roscoe. Pharmacong J Issue 2016; 8(3):185-190 May-Jun.
7. Hamad A, Alifah A, Permadi A, Hartanti, D. Chemical constituents and antibacterial activities of crude extract and essential oils of *Alpinia galanga* and *Zingiber officinale*. I F R J 2016; 23(2):837-841.
8. Rone A, Heloisa F, Maiza E, Perina S, Aparecida F, Bauad T, et all. Avaliação da Atividade Antibacteriana do Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e do Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Sims). Rev Ciênc Farm Básica Apl 2015; 36(1):77-82
ISSN 1808-4532

9. Majolo C, Nascimento V, Chagas E, Chaves F. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. Rev Bras plantas Med 2014; 16(3):505-512 Botucatu July/Sept.
10. Yuba B. Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. Asian Pac J Trop Dis 2014; 4(1):40-44.
11. Gao D, Zhang Y. Comparative antibacterial activities of extracts of dried ginger and processed ginger. Pharmacong J 2 2010; (15):41-44.
12. WHO. Monographs on selected medicinal plants. Vol. 1. Ginebra: OMS Library Cataloguing in Publication Data; 1999. p. 277.
13. Berdones J. Gran enciclopedia de las plantas medicinales. España: MMX editorial Océano; 2015.
14. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 25ª ed. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V; 2011.
15. Kenneth J, George R. Sherris. Microbiología Médica. 5ª ed. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V; 2011. p. 444 - 445.
16. Llop, Valdés, Zuazo. Microbiología y parasitología médicas. Tomo I. La Habana – Cuba: Editorial ciencias médicas; 2001.
17. Susan B., Anthony J. Katzung Farmacología Básica y Clínica. 12ª ed. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V; 2013.
18. Lorenzo, Moreno, Lizasoain. Velázquez Farmacología Básica y clínica. 18ª ed. Buenos Aires: Editorial médica panamericana; 2008.

- 19.** Laurence L., Bruce A., Björn C. Goodman & Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 12^a ed. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V; 2012.

- 20.** Paskovaty A, Pflomm J, Myke N, Seo S. A multidisciplinary approach to antimicrobial stewardship: evolution into de 21st century. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25(1):1-10.

- 21.** Quintans J, Antonioli A, Almeida J, Santana V, Quintans L. Natural Products Evaluated in Neuropathic Pain Models - A Systematic Review. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2013; 114(6):442-500.

- 22.** Dawson B, Rober D, Trapp R, Bioestadística médica. Manual moderno 3^a ed. 2002.

IX. ANEXOS

ANEXO 1

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Aceite esencial de jengibre				Ciprofloxacino	DMSO
	100%	75%	50%	25%		
1	24	19	16	8	34	0
2	20	20	11	6	35	0
3	19	17	15	6	32	0
4	22	18	12	8	34	0
5	23	17	16	0	33	0
6	22	18	14	7	34	0
7	21	18	14	6	34	0
8	24	20	11	0	34	0
9	20	19	12	0	31	0
10	24	19	15	8	34	0

ANEXO 2

PRUEBAS DE NORMALIDAD Y HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

Pruebas de normalidad

Tratamiento	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Aceite esencial de jengibre 25%	0.754	10	0.004
Aceite esencial de jengibre 50%	0.887	10	0.158
Halo de inhibición (mm) Aceite esencial de jengibre 75%	0.907	10	0.258
Aceite esencial de jengibre 100%	0.905	10	0.247
Ciprofloxacino	0.802	10	0.016

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

Prueba de homogeneidad de varianzas

Halo de inhibición (mm)

Estadístico de Levene	gl ₁	gl ₂	Sig.
7.254	4	45	0.000

De la prueba de normalidad mostrada se concluye que no todos los datos de las muestras recolectadas tienen un comportamiento normal, por lo cual se sugiere el uso de pruebas no paramétricas como la prueba de Kruskal Wallis que evidencie si existe diferencia estadística entre los tratamientos en estudio.

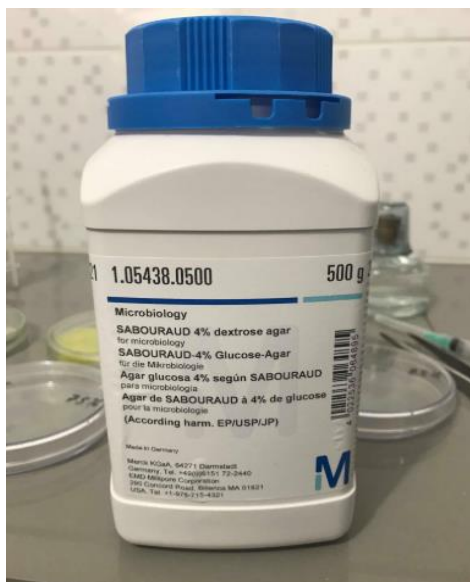
Por otro lado, la prueba de Levene muestra que las varianzas no son iguales, lo que condiciona las pruebas estadísticas que se analizarán y que se deberá tener en cuenta a la hora de realizar el análisis.

ANEXO 3

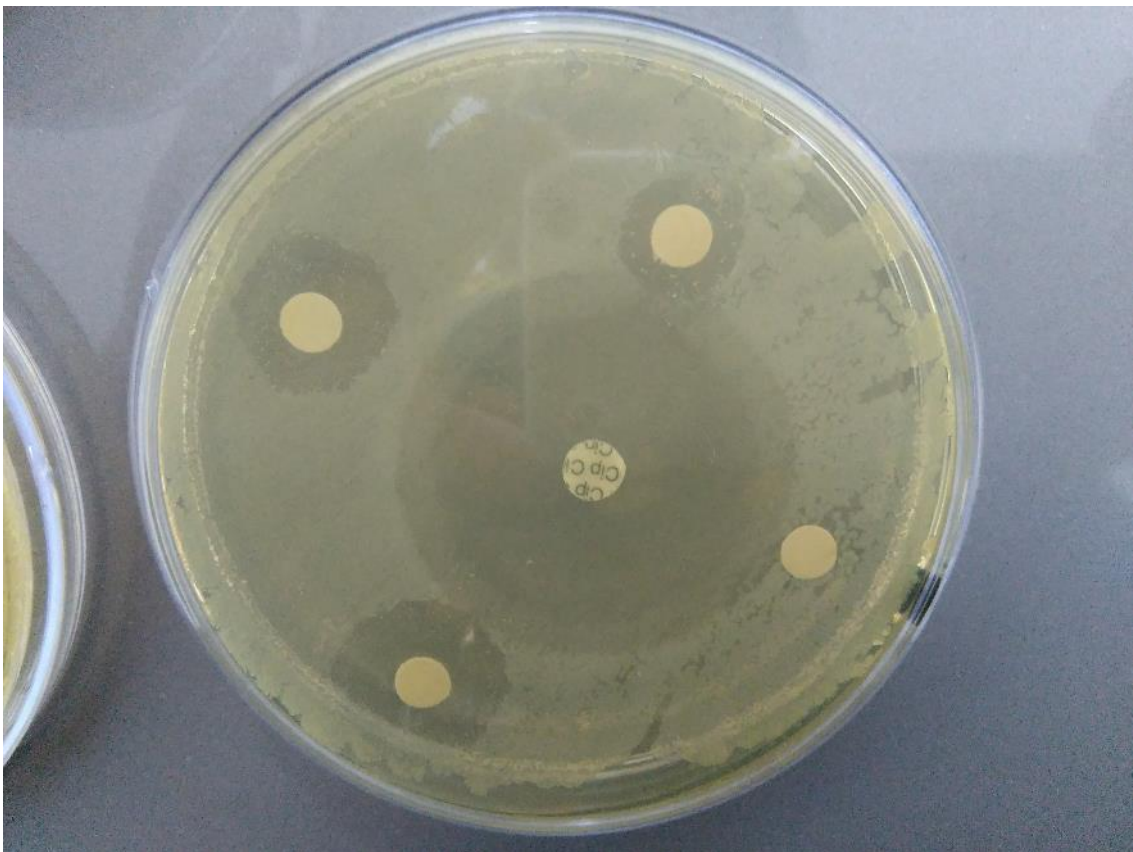
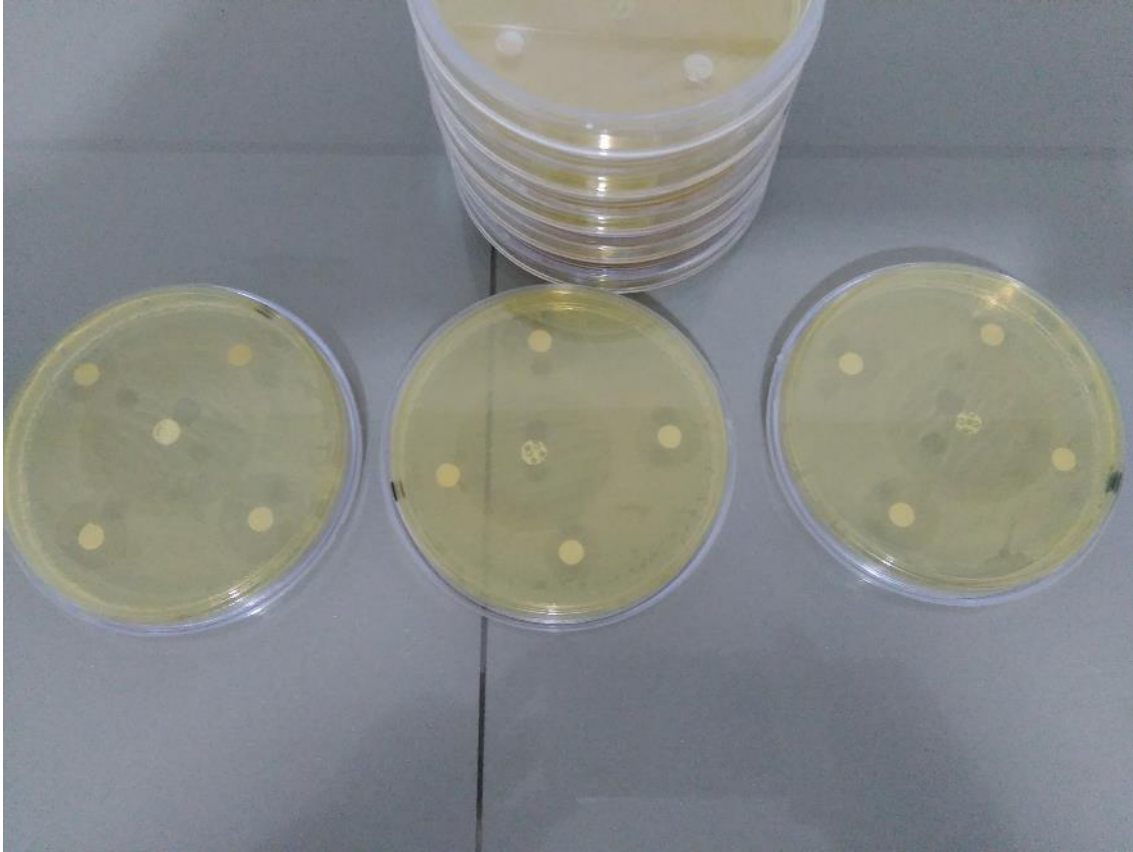
- A. Para la obtención del aceite esencial de *Zingiber officinale roscoe* se utilizó el método de extracción por arrastre de vapor de agua, a partir del cual, se hizo las diluciones.



- B. La bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922 se cultivó en el medio de agar Sabouraud Glucosado.



C. La susceptibilidad del patógeno se evaluó según el método de disco difusión en agar, considerando lo establecido por el Estándar M44-A2 del CLSI.



PROCEDIMIENTO

1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Zingiber officinale roscoe* “jengibre”, se obtuvieron en el mercado La Hermelinda de Trujillo, en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).

2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Zingiber officinale roscoe* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.

3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15

minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.

4. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de AE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 μ L de AE al 50% en otro

disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con ciprofloxacino (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Escherichia coli* ATCC 25922 y para el ciprofloxacino. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

ANEXO 04

CRITERIOS INTERPRETATIVOS DE HALO DE INHIBICIÓN Y CMI PARA *Escherichia coli*

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
FLUOROQUINOLONES									
C	Ciprofloxacin or	5 µg	≥21	16–20	≤15	≤1	2	≥4	
C	levofloxacin	5 µg	≥19	16–18	≤15	≤1	2	≥4	
C	Moxifloxacin	5 µg	≥24	21–23	≤20	≤0.5	1	≥2	
U	Norfloxacin	10 µg	≥17	13–16	≤12	≤4	8	≥16	
O	Enoxacin	10 µg	≥18	15–17	≤14	≤2	4	≥8	(28) FDA approved for <i>S. saprophyticus</i> and <i>S. epidermidis</i> (but not for <i>S. aureus</i>).
O	Gatifloxacin	5 µg	≥23	20–22	≤19	≤0.5	1	≥2	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥18	15–17	≤14	≤1	2	≥4	
O	Lomefloxacin	10 µg	≥22	19–21	≤18	≤2	4	≥8	
O	Ofloxacin	5 µg	≥18	15–17	≤14	≤1	2	≥4	

ANEXO 05

COMITÉ NACIONAL DE ESTÁNDARES DE LABORATORIO CLÍNICO (NCCLS)

- ✓ M2: Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por disco.
- ✓ M7: Métodos para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por dilución para bacterias aeróbicas.
- ✓ M23: Desarrollo de criterios y parámetros de control de calidad para pruebas de susceptibilidad in vitro.
- ✓ M100: Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

ANEXO 06




San José
LABORATORIO CLÍNICO
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde el Sr. ROBERT FRANCISCO RENGIFO PAIMA estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto bactericida del aceite esencial de la raíz de *Zingiber officinale Roscoe* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacina, estudio in vitro", durante los días 28 de agosto al 2 de setiembre de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 10 días del mes de setiembre de 2018.


José Luis Cuello Quivesa
BIOLOGO - MICROBIOLOGO
C.O.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - 📠 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/