

Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

Ciencias Biológicas y de la salud

Departamento de Sistemas Biológicos – Laboratorio de Biología Experimental

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Reporte de Servicio Social

Evaluación de la actividad antimicrobiana de Ajo y Jamaica

Alumna: Brenda Ivonne González Escobedo

Matrícula: 2142042655

Asesoras

M. en C. María Cristina Fresan Orozco

Dra. Ana Laura Esquivel Campos

No. Económico: 03829

No. Económico: 33148

Febrero 2020

INDICE

Introducción	2
Marco teórico	3
Allium sativum	3
Hibiscus sabdariffa L.	4
Bacterias	5
Pruebas de sensibilidad microbiana	7
Justificación	8
Objetivos	8
Metodología	9
Resultados	12
Discusión	15
Conclusión	17
Referencias bibliográficas	18
Resumen	22

INTRODUCCIÓN

Las infecciones más comunes se deben a microorganismos como lo son las bacterias Gram positivas y las Gram negativas, las cuales por el uso indiscriminado de antibióticos convencionales han adquirido resistencia; con el fin de encontrar alternativas terapéuticas que tengan menos efectos adversos, en el presente trabajo se evaluará la actividad antimicrobiana que presenta el ajo y la Jamaica frente a *E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella* y *Salmonella*, con el fin de presentar a estos productos naturales como alternativa terapéutica, realizando pruebas cualitativas de sensibilidad así como pruebas de sinergia. Los antimicrobianos, específicamente los antibióticos son un caso particular de los medicamentos, pues no sólo tienen un efecto terapéutico en el paciente, sino que también modifican la ecología de la flora bacteriana del cuerpo y del ambiente que rodea al individuo (Instituto nacional de salud pública, 2010).

La selección de bacterias resistentes a los antibióticos es exitosa debido a las altas tasas de crecimiento, capacidad de generar mutaciones genéticas e intercambiar material genético (como fragmentos del cromosoma, plásmidos, transposones e integrones) entre diferentes especies bacterianas. Esto permite una diseminación favorable de la resistencia a antibióticos. La resistencia ocasiona que estos medicamentos pierdan su efectividad, dando como resultado enfermedades más prolongadas, elevados índices de mortalidad y mayores costos en el cuidado de la salud. Por estos motivos, la Organización Mundial de la Salud considera a la resistencia antimicrobiana como un grave problema de salud pública global (Instituto nacional de salud pública, 2010). Existen pruebas estandarizadas *in vitro* conocidas como bioensayos de susceptibilidad antimicrobiana, las cuales son técnicas esenciales en busca de actividades biológicas de nuevos compuestos naturales (Cárdenas, Oranday et al., 2016). La actividad antimicrobiana de sustancias frente a un microorganismo se puede evaluar mediante métodos cualitativos y cuantitativos, como lo son la técnica de Kirby-Bauer y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), respectivamente (Aricapa, et al., 2009).

MARCO TEORICO

Según la Organización mundial de la salud (OMS), “la medicina tradicional es la suma total de conocimientos, habilidades y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias autóctonas de diferentes culturas que se utilizan para mantener la salud, así como para prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar la salud física y enfermedades mentales”. La herbolaria es la forma más común de medicina tradicional que utiliza plantas u otros materiales vegetales como ingredientes activos (OMS; 2008). Dentro de las estudiadas en este trabajo se hablará del ajo (*Allium sativum*) y Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*).

Allium sativum

El ajo es de origen oriental y forma parte de la especie *allium sativum*; es una planta monocotiledónea, de la familia de las liláceas y de porte herbácea, empleado como planta medicinal por sus propiedades tónicas, expectorantes y diaforéticas (Gutiérrez, H., 2018).

Una cabeza de ajo contiene aproximadamente 6g de proteínas, 9mg de calcio, 4mg de mg de fosforo y cantidades inferiores de hierro, sodio, azufre (parte indispensable de sus principios activos) y potasio. Al machacarlo y destilarlo se obtiene su aceite esencial, aunque se pierde buena parte de sus vitaminas, pero potencia más sus sales minerales y sus principios activos de olor, así como de corrosión, ya que el azufre que tiene da lugar a bisulfuros y trisulfuros, y libera la alicina y la aliína, sus verdaderos principios activos. También libera el bisulfuro de alilpropilo el cual es el mismo principio activo de la cebolla (Gutiérrez, H., 2018).

Efecto antimicrobiano

Actualmente el ajo es empleado como medicina naturista, al que se atribuyen múltiples efectos farmacológicos dentro de los cuales se destaca la actividad antibacteriana, que ha demostrado ser efectivo contra el Herpes hominis tipo I, y una sustancia llamada alicina presente en el aceite de ajo ha sido efectiva contra bacterias *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella*. En pruebas con

conejos diabéticos, la alicina ha bajado notablemente los niveles de azúcar en la sangre. Esta propiedad hace a esta sustancia efectiva al mismo tiempo contra las infecciones micóticas, ya que los hongos se alimentan básicamente de azúcar (Mujica Pons, X., 2012). La alicina ha confirmado que es capaz de acabar con diversos microorganismos, incluso estando muy diluida, lo que contradice las dosis usuales en la farmacopea oficial (Gutiérrez, H., 2018), ya que, en diversas preparaciones, ha demostrado que esta exhibe un amplio espectro de actividad antibacteriana contra bacterias gram-negativas y gram-positivas como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium* y *Mycobacterium tuberculosis* (Ramírez Concepción, H. R., et al, 2016).

Composición química

El ajo tiene distintos componentes entre ellos carbohidratos como la fructosa, compuestos azufrados, fibra y aminoácidos libres. Contiene altos niveles de vitamina C y A y bajos niveles de vitaminas del complejo B. Así mismo, posee un alto contenido de compuestos fenólicos, polifenoles y fitoesteroles. En cuanto a los minerales, tiene niveles importantes de potasio, fósforo, magnesio, sodio, hierro y calcio. También, presenta contenido moderado de selenio y germanio, pero la concentración de estos minerales va a depender del suelo donde crecen los bulbos (Bender Bojalil, D., et al 2013).

***Hibiscus sabdariffa* L.**

Desde el punto de vista morfológico, la jamaica es una planta arbustiva semileñosa anual o bianual que pertenece a la familia Malvacea y alcanza entre 1 y 3 m de altura. Sus tallos son abundantes, muy ramificados y de corteza roja, con hojas alternas de bordes irregularmente aserrados (Ortiz-Márquez, S., 2008).

A nivel internacional se distinguen seis variedades (diferenciadas por el color, apariencia, forma, peso, fruto y tamaño de la planta) destacándose el tipo *sabdariffa* de la cual se han identificado dos subtipos, una de ellas *Hibiscus sabdariffa* variedad *Altissima* y la otra, *Hibiscus sabdariffa* variedad *sabdariffa* L, la cual es una planta alta, vigorosa, poco ramificada y muy fibrosa. (Domínguez -Domínguez et al., 2007).

La Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una especia que destaca debido a los beneficios que produce como medicina alternativa atribuyéndole propiedades diuréticas, antifebriles, antimicrobianas, disminución del colesterol, presión arterial entre otras (Arisa, R., *et al.*, 2014).

Efecto antimicrobiano

Algunas especies de *Hibiscus sabdariffa* sintetizan a las saponinas, alcaloides, glucósidos y taninos, las cuales se han documentado por exhibir varias actividades biológicas, como son antiinflamatorio, antiarteroescleróticos, antitumoral, antimutagénico, anticarcinogénico, antibacterial y antivirales. (Ariza-Flores, R., *et al* 2017). La propiedad antimicrobiana de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) ha sido comparada con las del ajo (*Allium sativum* L.) y el jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), en el combate de especies bacterianas resistentes a antibióticos en infecciones urinarias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, donde la Jamaica demostró ser un potente antimicrobiano que inhibe el crecimiento de las especies bacterianas mediante concentraciones de 25 hasta 200 mg/mL (López-Nahuatt, G., *et al* 2017).

De acuerdo al color de los cálices de Jamaica se pueden distinguir tres tipos: verde, rojo y rojo oscuro. La composición de los cálices varía de acuerdo a la variedad, color y diferencias genéticas. Respecto al contenido de compuestos bioactivos (principalmente fenoles y antocianinas), este varía de acuerdo a la variedad de la flor de Jamaica, así como del método de extracción utilizado (Cid-Ortega, S., *et al* 2012).

Bacterias

Son microorganismos con material genético que no está encerrado por una membrana nuclear, recubiertas por una pared celular constituida por peptidoglucano (Tortora, G. J., *et al* 2007). La función principal de la pared celular consiste en evitar la ruptura de la célula bacteriana cuando la presión hidrostática intracelular es mayor a la presión hidrostática extracelular, desde la perspectiva clínica la pared celular reviste importancia porque contribuye a la virulencia de algunas especies

bacterianas y es el sitio de acción de algunos antibióticos, por lo que se distinguen dos tipos de bacterias; Gram positivas y Gram Negativas (Tortora, G. J., *et al* 2007).

Bacterias gram positivas

Poseen una pared celular gruesa que consta de varias capas formada principalmente por peptidoglucano (150 a 500 Å) que rodea la membrana citoplasmática. El peptidoglucano es un elemento clave para la estructura, la replicación y la supervivencia de las células en las condiciones normalmente hostiles en las que proliferan las bacterias (Murray, P. R., *et al* 2006). Entre las bacterias Gram positivas tenemos al *Staphylococcus aureus*.

S. aureus es uno de los microorganismos nosocomiales más aislado y muestra elevada resistencia a los antimicrobianos. Es una bacteria esférica, inmóvil, anaerobia facultativa, no esporulada, gram positiva, presenta catalasa positiva y es resistente a condiciones ambientales adversas. *Staphylococcus aureus* es agente etiológico de diversas patologías, incluyendo infecciones de piel y tejidos blandos, bacteremia, endocarditis e infección del tracto genitourinario (Pahissa-Berga, A., 2009).

Enterobacterias

Las paredes celulares Gram negativas son más complejas (tanto del punto de vista estructural como químico). Estructuralmente las Gram negativas contienen dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplasmática. Inmediatamente por fuera se encuentra una delgada capa de peptidoglucano que presenta tan solo un 5% a 10% del peso de la pared celular y no contiene ácidos ticónicos o lipoteicoicos. En la parte externa de la capa de peptidoglucano se halla la membrana externa, la cual es exclusiva de las bacterias Gram negativas (Murray, P. R., *et al* 2006). Dentro de esta clasificación se encuentran; *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella*.

E. coli es una de las principales enterobacterias no solo por su alta prevalencia, sino por la capacidad de generar resistencia a los diferentes antibióticos. Es un

bacilo Gram negativo que existe solo o en pares. E coli es un anaerobio facultativo con un tipo de metabolismo fermentador, son bacilos tanto móviles como no móviles por flagelos peritricosos (Flagelos distribuidos uniformemente en la superficie bacteriana) y es el mayor colonizador del intestino grueso (Aguilar-Zapata, D., 2015). Otro microorganismo es la *Salmonella*, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y está constituido por bacterias Gram negativas, intracelulares facultativas, que se han agrupado en las especies *S. enterica* y *S. bongori*. Sin embargo, el potencial patogénico está representado por *S. enterica* y por sus más de 2.600 serotipos descritos hasta la fecha. Se transmite por la ruta fecal-oral, ya sea directamente, o bien indirectamente, a través de los alimentos (Barreto, M., *et al* 2016). Finalmente la *Klebsiella* es un microorganismo anaerobio facultativo y con una prominente cápsula de polisacáridos. Cuenta con siete especies siendo *Klebsiella pneumoniae* la especie de mayor relevancia clínica identificada a partir de muestras clínicas, abarcando alrededor del 95% de los aislamientos; desempeña un importante papel como causa de infecciones oportunistas, implicada principalmente en infecciones nosocomiales (Expósito-Boue, L. M., *et al* 2017).

Pruebas de sensibilidad microbiana

Antibiograma de discos

Las técnicas de antibiogramas por difusión han sido normalizadas para microorganismos de crecimiento rápido, tales como *Staphylococcus* y *Enterobacteriaceae* pero no son confiables cuando se aplican a microorganismos de crecimiento lento (Bernal, M., *et al.* 1984). Los discos para antibiograma contienen una concentración de producto predeterminada que permite una correlación más o menos precisa con la concentración mínima inhibitoria que dicho antibiótico (Bernal, M., *et al.* 1984).

JUSTIFICACIÓN

La resistencia antimicrobiana resulta tan apremiante como otras enfermedades prioritarias como la malaria, tuberculosis, cáncer o SIDA. Algunos factores que deben tenerse en cuenta para abordar el grave problema de salud pública que representa la resistencia antimicrobiana en México son: la ausencia de un cuerpo regulatorio que controle eficazmente el uso y la venta de antimicrobianos; la prescripción inadecuada y la automedicación con estos medicamentos; y la escasa información disponible sobre resistencia antimicrobiana, incluyendo los reportes errados o poco confiables de identificación y susceptibilidad bacteriana (Instituto nacional de salud pública, 2010).

Debido a esto es necesario buscar alternativas para combatir la resistencia bacteriana, debido a esto el presente trabajo evaluó la actividad antimicrobiana del ajo y la jamaica frente a *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella*, con la finalidad de presentar a estos productos naturales como alternativa terapéutica.

OBJETIVOS

GENERAL

- Evaluar la actividad antimicrobiana de *Ajo* y *Jamaica*.

ESPECÍFICOS

- Determinar la susceptibilidad que presentan *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella* ante el extracto acuoso de ajo.
- Determinar la susceptibilidad que *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella* ante el liofilizado de Jamaica.
- Determinar si existe efecto sinérgico antimicrobiano del ajo y la Jamaica

METODOLOGÍA

Macerado acuoso de ajo

Se pesaron 112.03g de dientes de ajo pelados, con ayuda de un mortero con pistilo se maceraron adicionando 20mL de agua destilada, el macerado obtenido se filtró por gravedad y se almaceno en tubo de precipitado manteniéndolo en refrigeración.

Liofilizado de Jamaica

En dos vasos de precipitados de 1L se agregaron 50g de flor de Jamaica seca y 500mL de agua destilada a cada uno, se cubrieron con papel aluminio y se dejaron reposar por 24h a temperatura ambiente.

Se filtró a vacío el concentrado de Jamaica obteniendo 832mL. A 6 viales de cristal se le adicionaron 50mL del concentrado de Jamaica, se cubrieron con parafilm y se llevaron a congelación a -83°C durante 24h, una vez congeladas las muestras se llevaron a liofilizar durante 24h.

Preparación del inóculo

Se prepararon tubos con 3 mL de caldo BHI estéril adicionado con suero sanguíneo, para incubar *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella e* incubar 24h a 37°C.

Preparación de sensidiscos

Con ayuda de una perforadora y papel filtro se realizaron los sensidiscos, los cuales se esterilizaron para su posterior utilización.

Sensidiscos de ajo

- 1.- Se tomaron 250 μ L del concentrado de ajo y se diluyeron con 250 μ L de agua estéril, esto para obtener un stock de concentración 2.8006 mg/ μ L.
- 2.- En tubos eppendorf se realizaron 4 diluciones seriadas, con concentraciones de (1.4003 mg/ μ L, 0.7001mg/ μ L, 0.3501mg/ μ L y 0.1750 mg/ μ L), las cuales se homogeneizaron perfectamente en un agitador vórtex.

3.- Dentro de la zona estéril se etiquetaron 5 portaobjetos con el stock y las diluciones 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16, respectivas a las siguientes concentraciones (1.4003 mg/μL, 0.7001mg/μL, 0.3501mg/μL y 0.1750 mg/μL).

4.- Con ayuda de pinzas se colocaron 4 sensidiscos estériles en cada portaobjeto previamente rotulado y se impregnaron con 50 μL de la solución de ajo de la concentración respectiva.

Sensidiscos de Jamaica

1. Se tomó un vial de Jamaica previamente liofilizada y se resuspendió con 2mL de agua estéril para obtener un stock de concentración 2.5 mg/μL.
2. En tubos eppendorf se realizaron 4 diluciones seriadas 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16, con concentraciones respectivas de (1.25 mg/μL, 0.625 mg/μL, 0.3125 mg/μL y 0.1563mg/μL), las cuales se homogeneizaron perfectamente en un agitador vórtex.
1. Dentro de la zona estéril se etiquetaron 5 portaobjetos con el stock y las diluciones (1:2, 1:4, 1:8 y 1:16) con concentraciones respectivas de (1.25 mg/μL, 0.625 mg/μL, 0.3125 mg/μL y 0.1563mg/μL).
3. Con ayuda de pinzas para disección se colocaron 4 sensidiscos estériles en cada portaobjeto previamente rotulado y se impregnaron con 50 μL de la solución de Jamaica de la concentración respectiva.

Sensidiscos de Ajo + Jamaica

2. Se realizó un stock tomando 250 μL de la solución de Jamaica [2.5 mg/ μL] y 250 μL de la solución de ajo [2.8 mg/μL].
3. En tubos eppendorf se realizaron 4 diluciones seriadas Tomando 250 μL del stock y agregando 250 μL de agua estéril (1:2, 1:4, 1:8 y 1:16).
4. Dentro de la zona estéril se etiquetaron 5 portaobjetos con el stock y las diluciones respectivas de cada sensidisco (1:2, 1:4, 1:8 y 1:16).

5. Con ayuda de pinzas para disección se colocaron 4 sensidiscos estériles en cada portaobjeto previamente rotulado y se impregnaron con 50 μ L de la mezcla de Ajo y Jamaica de la dilución respectiva.

Antibiogramas

1. Se prepararon 12 placas de agar Müller-Hinton según el marbete.
2. Se rotularon las cajas con el nombre de cada bacteria a estudiar (*S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella*).
3. Dentro de zona estéril se realizó la siembra masiva del inóculo de cada bacteria con ayuda de un hisopo estéril.
4. Se procedió a colocar los sensidiscos dentro de la placa en lugares previamente identificados.
5. Se incubaron los antibiogramas en estufa bacteriológica durante 24h a 37°C.

RESULTADOS

Antibiogramas de Ajo




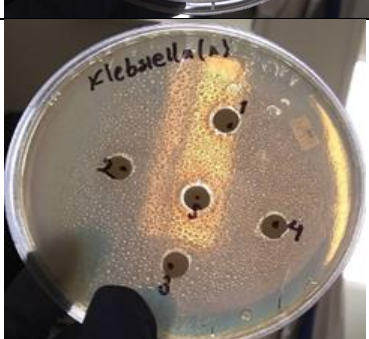
<i>Bacteria</i>	Concentración	Inhibición	
<i>S. aureus</i>	Prueba 1	0.8 cm I.T/ 1.5 cm I.P	
	Prueba 2	1.0 cm I.P	
	Prueba 3	Sn.I	
	Prueba 4	Sn.I	
	Prueba 1	1.1 cm I.T/ 2 cm I.P	
<i>E. coli</i>	Concentración	Inhibición	
	Prueba 1	0.8 cm, I.P	
	Prueba 2	0.8 cm, I.P	
	Prueba 3	Sn.I	
	Prueba 4	Sn.I	
Prueba 1	1 cm, I.P		
<i>salmonella</i>	Concentración	Inhibición	
	Prueba 1	1.1 cm I.P	
	Prueba 2	1.0 cm I.P	
	Prueba 3	Sn.I	
	Prueba 4	Sn.I	
Prueba 1	1.3 cm I:P		
<i>klebsiella</i>	Concentración	Inhibición	
	Prueba 1	Sn.I	
	Prueba 2	Sn.I	
	Prueba 3	Sn.I	
	Prueba 4	Sn.I	
Prueba 1	0.8 cm I.P		

Tabla 1. Diámetros de inhibición de antibiogramas de Ajo. Nomenclatura: Inhibición parcial (I.P), Inhibición total (I.T), sin inhibición (Sn.I).

Antibiogramas de Jamaica

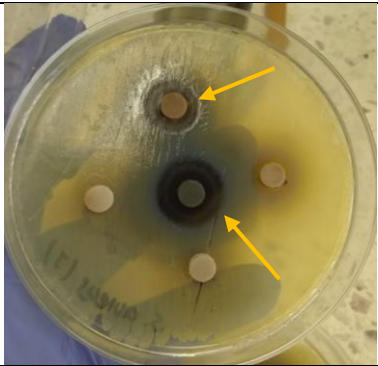
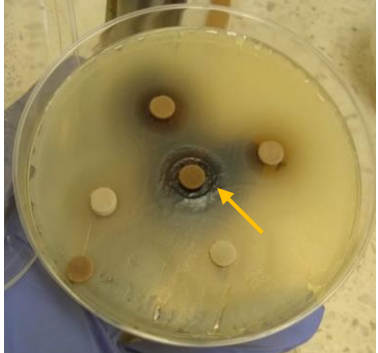

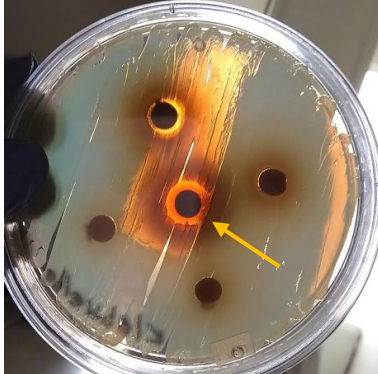
<i>Bacteria</i>	Concentración	Inhibición	
<i>S. aureus</i>	Prueba 1	0.9 cm I.T / 2 cm I.P	
	Prueba 2	1 cm I.P	
	Prueba 3	0.8 I.P	
	Prueba 4	Sn.I	
	Prueba 1	1.9 cm I.T / 3 cm I.P	
<i>E. coli</i>	Concentración	Inhibición	
	Prueba 1	0.8 cm I.T / 1.3 cm I.P	
	Prueba 2	1.3 cm I.P	
	Prueba 3	Sn.I	
	Prueba 4	Sn.I	
Prueba 1	1.1 cm I.T / 1.9 cm I.P		
<i>salmonella</i>	Concentración	Inhibición	
	Prueba 1	0.8 cm I.T / 1.1 cm I.P	
	Prueba 2	0.9 cm I.P	
	Prueba 3	Sn.I	
	Prueba 4	Sn.I	
Prueba 1	1.1 cm I.T / 1.16 I.P		
<i>klebsiella</i>	Concentración	Inhibición	
	Prueba 1	0.9 cm I.T	
	Prueba 2	0.8 cm I.T	
	Prueba 3	Sn.I	
	Prueba 4	Sn.I	
Prueba 1	1.1 cm I.T / 1.6 cm I:P		

Tabla 2. Diámetros de inhibición de antibiogramas de Jamaica. Nomenclatura: Inhibición parcial (I.P), Inhibición total (I.T), sin inhibición (Sn.I).

Antibiogramas de Ajo + Jamaica

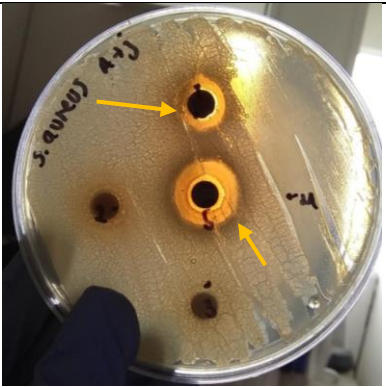
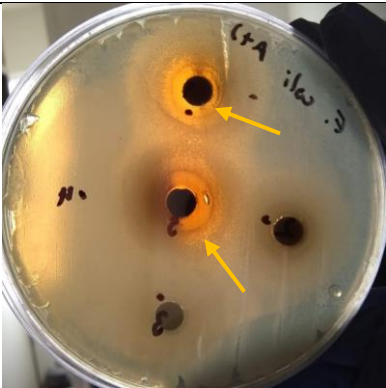


<i>Bacteria</i>	Concentración	Inhibición	
<i>S. aureus</i>	(1) 1:2	0.7 cm I.T / 1.2 I.P	
	(2) 1:4	0.9 cm I.P	
	(3) 1:8	Sn.I	
	(4) 1:16	-	
	(5) Stock	0.9 cm I.T / 1.6 cm I.P	
<i>E. coli</i>	Concentración	Inhibición	
	(1) 1:2	1.15 cm I.P	
	(2) 1:4	0.8 cm I.P	
	(3) 1:8	0.8 cm I.P	
	(4) 1:16	-	
(5) Stock	1.2 cm I.P		
<i>salmonella</i>	Concentración	Inhibición	
	(1) 1:2	1.1 cm I.P	
	(2) 1:4	0.9 cm I.P	
	(3) 1:8	Sn.I	
	(4) 1:16	-	
(5) Stock	0.9 cm I.T / 1.3 cm I.P		
<i>Klebsiella</i>	Concentración	Inhibición	
	(1) 1:2	Sn.I	
	(2) 1:4	Sn.I	
	(3) 1:8	Sn.I	
	(4) 1:16	Sn.I	
(5) Stock	0.8 cm I.T / 1.1 cm I.P		

Tabla 3. Diámetros de inhibición de antibiogramas de mezcla de Ajo + Jamaica. Nomenclatura: Inhibición parcial (I.P), Inhibición total (I.T), sin inhibición (Sn.I).

Resistencia de las bacterias frente a los extractos

Extracto	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>salmonella</i>	<i>Klebsiella</i>
Ajo	Inhibición total con concentración 1 y stock	Inhibición parcial	Inhibición parcial	No presenta inhibición
Jamaica	Inhibición total con concentración 1 y stock	Inhibición total con concentración 1 y stock	Inhibición Total con Stock	Inhibición total con concentraciones 1 y stock
Ajo + Jamaica	Inhibición parcial	Inhibición parcial	Inhibición parcial	No presenta inhibición

Tabla 4. Comparación de la actividad antimicrobiana que presentan los diferentes extractos, así como la mezcla sinérgica frente a las bacterias.

DISCUSION

El uso indiscriminado de los antibióticos ha generado un gran desarrollo de resistencia bacteriana y con la finalidad de hallar nuevas alternativas se presta más atención al estudio de las plantas medicinales de forma etnofarmacológica, como es el caso del ajo y la Jamaica.

En la Tabla 1, se aprecia que para el caso de *S. aureus* la prueba de sensibilidad fue muy gratificante ya que a una concentración de 2.80 mg/ μ L de ajo presentó un halo de inhibición total de 1.1 cm frente a esta bacteria, por lo que se puede decir que el ajo tiene un efecto antimicrobiano total utilizándolo en esta concentración.

Chalar Vargas L.R., et al. (2014). Investigo la Función antimicrobiana de la alicina de ajo en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, en este estudio obtuvieron la alicina del ajo mediante un proceso de trituración para luego exponer a las tres cepas en tres diferentes concentraciones (0.5, 1,5 y 3 mL) y a partir de ello determinar su capacidad antimicrobiana. Los resultados evidenciaron que: *S. aureus* y *P. aeruginosa* se inhibían totalmente a una concentración de 3 mL, mientras que *E. coli* no se inhibió ante ninguna concentración.

Lo que respalda los resultados obtenidos en el presente estudio para *S. aureus*; sin embargo, al realizar la prueba en *E. coli* con una concentración de 2.80 mg/ μ L presentó inhibición parcial lo cual es similar a lo reportado por Mamani Quiñonez, F. (2016), en su estudio demostró que el extracto de ajo frente a *E. coli* si presenta inhibición, teniendo halos de 12 mm. Por lo que se confirma que el ajo tiene actividad antimicrobiana frente a bacterias gram negativas.

Al realizar la prueba con el liofilizado de Jamaica se obtuvieron resultados positivos, ya que se formaron halos de inhibición total frente a las 4 bacterias analizadas, como se muestra en la Tabla 2, *S. aureus* presentó halos de 1.9 cm al utilizar una concentración de 2.5 mg/ μ L de la Jamaica y halos de 0.9 cm al bajar la concentración a 1.25 mg/ μ L.

El uso de 2.5 mg/ μ L del liofilizado de Jamaica produjo halos de inhibición de 1.1 cm en las bacterias Gram negativas (*E. coli*, *Salmonella* y *Klensiella*), estas fueron más resistentes que *S. aureus*, este resultado podría estar asociado con la susceptibilidad de la bacteria debido a la estructura de su membrana exterior (Malanovic, N., & Lohner, N., 2016) que proporcionan fácil penetración para algunas moléculas antimicrobianas. Las bacterias Gram positivas tienden a ser más susceptibles al poseer una pared celular menos compleja y de filtración menos efectiva contra grandes moléculas, como las de los fenoles polimerizados, ya que poseen poros más amplios y, por ende, menos selectivos (Díaz Solares, M., et al., 2017), como lo es el caso de *S. aureus*.

Por otra parte en un estudio realizado por Salazar Bermeo, J. E. (2018) demostró que al utilizar 30 μ L del extracto reconstituido del caliza de jamaica se obtuvieron halos de inhibición de 1.0 cm para *E. coli*, 1.2 cm para *Salmonella* y 1.9 cm para *S. aureus*, los cuales son muy similares a los resultados obtenidos en esta investigación, por lo que se sustenta la efectividad de la Jamaica como antimicrobiano.

De igual forma, en la Tabla 2 se aprecian halos con una coloración oscura, esto debido a que los sensidiscos están impregnados con Jamaica los cuales difundieron el pigmento en agar y así coloraron el medio de cultivo, lo cual se puede apreciar hasta el fondo de la caja Petri.

Al observar el comportamiento individual del ajo y la jamaica se confirma su efectividad para inhibir el crecimiento bacteriano, por lo que surgió la duda de, “si al combinas ambos extractos (ajo y Jamaica) estos en conjunto presentarían efecto sinérgico frente a las bacterias estudiadas”, por lo que se tomaron volúmenes iguales de ajo y Jamaica con concentración igual para formar una mezcla 1:1 y así repetir la prueba de sensibilidad.

Como se muestra en la Tabla 3, esta mezcla no tuvo el efecto esperado ya que los halos obtenidos para *S. aureus* fueron de 0.9 cm que en comparación con los obtenidos para ajo y Jamaica fueron de 1.1 cm y 1.9 cm respectivamente para esta bacteria utilizando la concentración del stock, por lo que el efecto antimicrobiano no aumento, sino que disminuyo.

Para *Salmonella* y *klebsiella* se observa el mismo comportamiento antimicrobiano, se obtuvieron halos de tan solo 0.9 cm y 0.8 cm respectivamente utilizando la concentración del stock, los cuales no son mayores a los obtenidos en las Tablas 1 y 2. En el caso de *E. coli*, esta no presento inhibición total con la mezcla de ajo y Jamaica. A la fecha no existen articulo donde se pruebe el efecto sinérgico de ajo y Jamaica frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.

CONCLUSIÓN

S. aureus es inhibido parcialmente con el extracto de ajo, mientras que Jamaica inhibe en su totalidad *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella*. Sin embargo, la mezcla de ajo y Jamaica solo inhibió de manera parcial a *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella*, y no presento inhibición frente a *klebsiella*; lo que sugiere que la mezcla de Ajo y Jamaica no tiene efecto sinérgico frente a estas bacterias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Zapata, D. (2016). E. coli BLEE, la enterobacteria que ha atravesado barreras. *Médica Sur*, 22(2), 57-63.
- Aricapa Barrera, D. P. (2009). Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos.
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A., & Otero-Sánchez, M. A. (2014). Variedades mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) 'Alma Blanca' y 'Rosalíz' de color claro, y 'Cotzaltzin' y 'Tecoanapa' de color rojo. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(2), 181-185.
- Ariza Flores, R., Serrano Altamirano, V., Aceves, M., Casimiro, A., Barrios Ayala, A., Otero Sánchez, M. A., & Noriega Cantú, D. H. (2017). Características bioquímicas y calidad nutracéutica de cinco variedades de jamaica cultivadas en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(2), 269-280.
- Barreto, M., Castillo-Ruiz, M., & Retamal, P. (2016). Salmonella enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Revista chilena de infectología*, 33(5), 547-557.
- Bender, D., & Bárcenas, M. E. (2013). El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7, 25-36.
- Bernal, M., & Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica*, 4(3-4), 112-121.
- Chalar Vargas, L. R., Moya Mamani, J. C., Vargas Alvarez, E., Sejas Rebollo, M., & Romero, B. (2014). Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. *Revista científica ciencia médica*, 17(1), 26-28.
- Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 47-48.

- Díaz Solares, M., Lugo Morales, Y., Fonte Carballo, L., Castro Cabrera, I., López-Vigoa, O., & Montejo Sierra, I. L. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos frescos de hojas de *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 40(1), 43-48.
- Domínguez-Domínguez, S., Domínguez-López, A., González-Huerta, A., & Navarro-Galindo, S. (2007). Cinética de imbibición e isothermas de adsorción de humedad de la semilla de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Revista mexicana de ingeniería química*, 6(3), 309-316.
- Expósito Boue, L. M., Alvarez Massó, L., Bermellón Sánchez, S., Morales del Castillo, Y., & Drullet Pérez, M. (2017). *Klebsiella pneumoniae* aisladas de pacientes con neumonía adquirida en la comunidad. *Revista información científica*, 96(4), 658-666.
- Gutiérrez, H. (2018). *Vida saludable con: Cebolla y Ajo: Beneficios, propiedades curativas y recetario práctico*. Plutón ediciones.
- Instituto nacional de salud pública. (2010). Resistencia antimicrobiana. Octubre 09/2015, de Secretaria de salud Sitio web: <https://www.insp.mx/lineas-de-investigacion/medicamentos-en-salud-publica/investigacion/resistencia-antimicrobiana.html>
- Nahuatt, G. L., Martínez, M. T. S., Jiménez-Ruiz, E. I., Balois-Morales, R., Carrillo, R. E. M., & Ceferino, J. G. (2017). Propiedades antimicrobianas y antioxidantes de Jamaica. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 3(3), 61-69.
- Malanovic, N., & Lohner, K. (2016). Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1858(5), 936-946.
- Mamani Quiñonez, F. (2016). Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Allium Sativum* (ajo) y el aceite esencial de *Origanum Vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia Coli* Juliaca–2016.
- Mujica Pons, X. (2012). *Hierbas que curan. Recetas naturales y efectivas, catálogo de hierbas medicinales y curas para cada enfermedad*. Ediciones LEA.

- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2017). *Microbiología médica*. Elsevier Health Sciences.
- Moll, M. C. N. (2007). Posibilidades terapéuticas del bulbo de ajo (*Allium sativum*). *Revista de fitoterapia*, 7(2), 131-151.
- Organización mundial de la salud (OMS), 2008.
- Ortiz-MARquéz, S. (2008). Composición en macronutrientes, minerales y metales pesados en cálices de jamaica cultivada en el estado Monagas. *Tecnología y pensamiento*, 3(1-2), 61-75.
- Berga, A. P. (2009). *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus*. Marge Books.
- Berga, A. P. (2009). *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus*. Marge Books.
- Ramírez-Concepción, H. R., Castro-Velasco, L. N., & Martínez-Santiago, E. (2016). Efectos terapéuticos del ajo (*Allium sativum*). *Revista Salud y Administración*, 3(8), 39-47.
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A., & Verde-Star, M. J. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. OmniaScience.
- Salazar Bermeo, J. E. (2019). *Análisis de actividad antimicrobiana del extracto de flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) sobre microorganismos indicadores de contaminación en alimentos* (Bachelor's thesis, CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E INDUSTRIAS FACULTAD: INGENIERÍA DE ALIMENTOS).
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Ed. Médica Panamericana.
- Victoriano S., (2000). *Cultivo de ajo*. Revista Fundación de desarrollo agropecuario.

Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

Ciencias Biológicas y de la salud

Departamento de Sistemas Biológicos – Laboratorio de Biología Experimental

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

PROYECTO: Evaluación de la actividad antimicrobiana de Ajo y
Jamaica

PROYECTO GENÉRICO: Evaluación de productos relacionados con la
salud

ALUMNA: Brenda Ivonne González Escobedo

MATRÍCULA: 2142042655

DIRECCIÓN: Calle Bravo #8, barrio juchi, Juchitepec estado de México, México.

TELÉFONO: 597 97 7 08 63

TELÉFONO CELULAR: 669 16 28 3 53

CORREO ELECTRÓNICO: brendagl678@gmail.com

ASESORAS

M. en C. María Cristina Fresan Orozco

Dra. Ana Laura Esquivel Campos

RESUMEN

Según la Organización mundial de la salud (OMS), “la medicina tradicional es la suma total de conocimientos, habilidades y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias autóctonas de diferentes culturas que se utilizan para mantener la salud, así como para prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar la salud física y enfermedades mentales”. La herbolaria es la forma más común de medicina tradicional que utiliza plantas u otros materiales vegetales como ingredientes activos (OMS; 2008). Dentro de las estudiadas en este trabajo se hablará del ajo (*Allium sativum*) y Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Las infecciones más comunes se deben a microorganismos como lo son las bacterias Gram positivas y las Gram negativas, las cuales por el uso indiscriminado de antibióticos convencionales han adquirido resistencia; con el fin de encontrar alternativas terapéuticas que tengan menos efectos adversos. La actividad antimicrobiana de sustancias frente a un microorganismo se puede evaluar mediante métodos cualitativos y cuantitativos, como lo son la técnica de Kirby-Bauer y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), respectivamente (Aricapa, *et al.*, 2009).

Las técnicas de antibiogramas por difusión han sido normalizadas para microorganismos de crecimiento rápido, tales como *Staphylococcus* y *Enterobacteriaceae* pero no son confiables cuando se aplican a microorganismos de crecimiento lento (Bernal, M., *et al.* 1984). Los discos para antibiograma contienen una concentración de producto predeterminada que permite una correlación más o menos precisa con la concentración mínima inhibitoria que dicho antibiótico (Bernal, M., *et al.* 1984).

En el presente trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana que presenta el ajo y la Jamaica frente a *E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella* y *Salmonella*, utilizando la prueba de Kirby-Bauer con modificación de difusión de discos, con el fin de presentar a estos productos naturales como alternativa terapéutica, realizando pruebas cualitativas de sensibilidad, así como pruebas de sinergia.

S. aureus es inhibido parcialmente con el extracto de ajo, mientras que Jamaica inhibe en su totalidad *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* y *Klebsiella*. Sin embargo, la mezcla de ajo y Jamaica solo inhibió de manera parcial a *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella*, y no presento inhibición frente a *Klebsiella*; lo que sugiere que la mezcla de Ajo y Jamaica no tiene efecto sinérgico frente a estas bacterias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aricapa Barrera, D. P. (2009). Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos.
- Bernal, M., & Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica*, 4(3-4), 112-121.
- Organización mundial de la salud (OMS), 2008.