



**UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE
MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA, AGRONEGOCIOS
Y BIOTECNOLOGÍA**

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA ZOOTECNISTA**

**“EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL EXTRACTO
DE KION (*Zingiber officinale*) EN *Escherichia coli* y
Salmonella typhimurium EN CERDOS, CHACHAPOYAS –
AMAZONAS”**

Autor (a): Bach. Gleysi Acosta Lopez

Asesor (a): M.Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga.

Registro: (.....)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A mis padres Normando Acosta y María Mercedith Lopez ya que con su apoyo incondicional y desinteresado me llevaron de la mano hacia el camino del éxito con fines de verme cumplir mis metas.

A mis hermanos Beyman y Mayver Acosta Lopez quienes también me brindaron un apoyo desinteresado para llegar a la cima profesional con muchos triunfos.

A mis amigos y demás personas que me apoyaron en momentos críticos y me ayudaron a salir de esos momentos difíciles.

Gleysi Acosta Lopez

AGRADECIMIENTO

Ante todo, agradezco a Dios por concederme el mejor regalo de la vida, y por brindarme la fuerza necesaria para salir de cualquier situación que se me presente, lo que me permite cumplir todas mis metas trazadas.

A mis padres Normando Acosta y María Mercedith Lopez por inculcarme buenos valores y consejos que me ayudaron a centrarme en mi vida profesional, y por todo el apoyo brindado, ya que sin ellos no hubiese sido posible alcanzar mis metas planteadas.

A mis hermanos Beyman y Mayver Acosta Lopez, quienes me apoyaron moralmente y por todo lo indispensable que me procuraron en todo el proceso de mi educación.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, especialmente a la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología por la acogida para mis estudios y a los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Zootecnista que me ayudaron a lograr perfilar mis conocimientos.

Un agradecimiento especial al Instituto de Investigación en Ganadería y Biotecnología (IGBI) que a través del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos (PROSAN) me abrieron las puertas y me facilitaron todos los materiales e insumos necesarios para el desarrollo de la ejecución de mi proyecto de tesis.

A mi asesor M.Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga por su incondicional colaboración, interés y aporte de conocimientos durante la ejecución del proyecto y la elaboración de informe.

A todos mis colaboradores durante la ejecución del proyecto que me compartieron sus conocimientos.

Gleysi Acosta Lopez

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**Dr. Policarpio Chauca Valqui
RECTOR**

**Dr. Miguel Ángel Barrena Gurbillón
VICERRECTOR ACADÉMICO**

**Dra. Flor Teresa García Huamán
VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN**

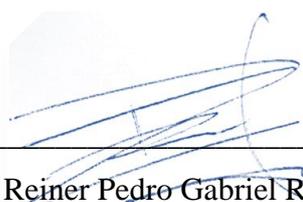
**M.Sc. Nilton Luis Murga Valderrama
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERIA ZOOTECNISTA
AGRONEGOCIOS Y BIOTECNOLOGÍA**

VISTO BUENO DEL ASESOR

Yo, M. Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga, docente a tiempo completo de la carrera profesional de Ingeniería Zootecnista, hace constar que he asesorado el proyecto de tesis titulado **“EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL EXTRACTO DE KION (*Zingiber officinale*) EN *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* EN CERDOS, CHACHAPOYAS – AMAZONAS”** presentado por la bachiller Gleysi Acosta Lopez, egresada de la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología, escuela profesional de Ingeniería Zootecnista de la UNTRM-A, dando el visto bueno a la presente tesis.

Se expide la presente, a solicitud de la interesada para los fines que se estime convenientes.

Chachapoyas 30 julio de 2020



M.Sc. Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga

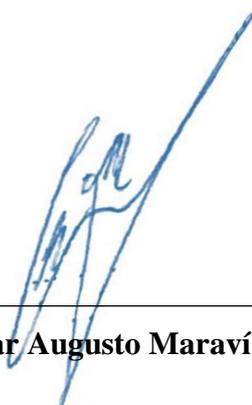
Asesor

JURADO EVALUADOR



M.Sc. Hugo Frías Torres

PRESIDENTE



M.Sc. César Augusto Maraví Carmen

SECRETARIO



Mg. Milton Jailer Trigos Yalta

VOCAL



ANEXO 3-K

**DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO DE TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL**

Yo Gleysi Acosta Lopez
identificado con DNI N° 73352865 Estudiante()/Egresado (X) de la Escuela Profesional de
Ingeniería Zootecnista de la Facultad de:
Ingeniería Zootecnista, Agonegocios y Biotecnología
de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

DECLARO BAJO JURAMENTO QUE:

1. Soy autor de la Tesis titulada: Efecto antibacteriano in vitro del extracto
de kion (Zingiber officinale) en Escherichia coli y Salmonella
typhimurium en cerdos, Chachapoyas - Amazonas.



que presento para
obtener el Título Profesional de: Ingeniero Zootecnista

2. La Tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, y para su realización se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La Tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. La Tesis presentada no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. La información presentada es real y no ha sido falsificada, ni duplicada, ni copiada.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la Tesis para obtener el Título Profesional, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la Tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que la Tesis para obtener el Título Profesional haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Chachapoyas, 02 de noviembre de 2020

[Firma]
Firma del(a) tesista



ANEXO 3-N

**ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL**

En la ciudad de Chachapoyas, el día 04 de agosto del año 2020, siendo las 11:00am horas, el aspirante Gleysi Acosta Lopez

defiende en sesión pública la Tesis titulada: Efecto antibacteriano in vitro del extracto de Kion (Zingiber officinale) en Escherichia coli y Salmonella typhimurium en cerdos Chachapoyas - Amazonas.

para obtener el Título Profesional de Ingeniero Zootecnista

a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: M.Sc. Hugo Frías Torres

Secretario: Ing. César Augusto Maraví Carmen

Vocal: Mg. Milton Jailer Triguero Jalta



Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado ()

Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:00pm horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

SECRETARIO

VOCAL

PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	iv
VISTO BUENO DEL ASESOR.....	v
JURADO EVALUADOR.....	vi
DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO	vii
ACTA DE EVALUACIÓN Y SUSTENTACIÓN DE TESIS.....	viii
ÍNDICE GENERAL	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUCCIÓN	16
II. MATERIAL Y MÉTODOS	19
2.1. Localización.....	19
2.2. Cepas bacterianas.....	19
2.3. Recolección de muestras de heces de cerdos.....	19
2.4. Preparación de medios de cultivo	20
2.5. Siembra de las bacterias en medios de cultivo	21
2.5.1. Enriquecimiento de muestras.....	21
2.5.2. Siembra de bacterias en medios de cultivo: Agar MacConkey y agar Salmonella Shiguela	22
2.5.3. Siembra de bacterias en medio de cultivo agar EMB.....	23
2.5.4. Siembra de bacterias en medios diferenciales para la identificación de las bacterias.....	23
2.5.5. Lectura de la identificación bioquímica de bacterias en medios diferenciales.....	25
2.6. Identificación de bacterias con tinción Gram	25
2.7. Obtención de los discos de sensibilidad	26
2.8. Procedencia y obtención del extracto de kion	26
2.9. Preparación de los tratamientos	26
2.10. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion	27

2.10.1. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion frente a <i>Escherichia coli</i>	27
2.10.2. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion frente a <i>Salmonella typhimurium</i>	29
2.11. Diseño experimental	30
2.12. Análisis de datos	31
III.RESULTADOS	32
3.1. Identificación de bacterias <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella typhimurium</i> con tinción Gram.....	32
3.2. Efecto antibacteriano del extracto de kion frente a <i>Escherichia coli</i>	32
3.3. Efecto antibacteriano del extracto de kion frente a <i>Salmonella typhimurium</i>	33
IV.DISCUSIÓN	34
V. CONCLUSIONES	37
VI.RECOMENDACIONES	38
VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Descripción de los agares utilizados.	41
Tabla 2. Descripción de los medios diferenciales utilizados.	42
Tabla 3. Resultado de datos obtenidos (crecimiento de halo en mm) para <i>Escherichia coli</i>	43
Tabla 4. Resultado de datos obtenidos (crecimiento de halo en mm) para <i>Salmonella typhimurium</i>	43
Tabla 5. Estadística descriptiva para <i>Escherichia coli</i>	44
Tabla 6. Estadística descriptiva para <i>Salmonella typhimurium</i>	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema de la evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion.	30
Figura 2. <i>Escherichia coli</i> observada microscópicamente.	32
Figura 3. <i>Salmonella typhimurium</i> observada microscópicamente.	32
Figura 4. Crecimiento del halo de inhibición en mm frente a <i>Escherichia coli</i>	32
Figura 5. Crecimiento del halo de inhibición en mm frente a <i>Salmonella typhimurium</i>	33
Figura 6. Condición de los cerdos del que se recolectó las muestras.	45
Figura 7. Presentación de los agares y medios diferenciales utilizados (izquierda) y reactivos utilizados para la tinción Gram (derecha).	45
Figura 8. Pesado de la cantidad necesaria de cada agar a preparar (izquierda) y preparación de agar (derecha).	46
Figura 9. Distribución de medios diferenciales en tubos de ensayo con tapa y de agares en placas Petri.	46
Figura 10. Enriquecimiento de muestras en agua peptonada (izquierda) y muestras enriquecidas listas para realizar la siembra en agar MacConkey y agar SS (derecha).	47
Figura 11. Siembra de muestras en agar MacConkey y agar SS para identificar el crecimiento de bacterias.	47
Figura 12. Resultado del crecimiento de <i>Salmonella ssp</i> en agar SS (izquierda) y de crecimiento de bacterias en agar MacConkey (derecha).	47
Figura 13. Siembra de bacterias extraídas de la placa de agar MacConkey y traspasadas en agar EMB para identificar <i>Escherichia coli</i> y de la placa de agar SS sembradas en tubos con medios diferenciales para identificar <i>Salmonella typhimurium</i>	48
Figura 14. Resultados de identificación de la bacteria <i>Escherichia coli</i> en agar EMB.	48
Figura 15. Resultados de identificación de la diferenciación de bacteria de <i>Escherichia coli</i> (izquierda) y de <i>Salmonella typhimurium</i> (derecha) en medios diferenciales.	49
Figura 16. Reacciones bioquímicas en SIM.	49
Figura 17. Reacciones bioquímicas en LIA y Citrato de SIMMONS.	50

Figura 18. Reacciones bioquímicas en TSI.	50
Figura 19. Reacciones bioquímicas en TSI, LIA, SIM, CITRATO DE SIMMONS. ...	51
Figura 20. Tratamientos preparados (Extracto de kion diluido en agua destilada).	52
Figura 21. Preparación de la suspensión bacteriana de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella typhimurium</i> para realizar la siembra en placas con agar Müller Hinton.	52
Figura 22. Siembra de bacterias en placas con agar Müller Hinton para evaluar el efecto antibacteriano del extracto de kion.	53
Figura 23. Empapado de los discos de sensibilidad en el contenido del tratamiento correspondiente y colocación del mismo en las respectivas placas Petri con agar Müller Hinton sembradas con las bacterias a evaluar.	53
Figura 24. Ubicación de las placas Petri con sus respectivos discos en una incubadora para incubar y luego evaluar el efecto antibacteriano del extracto de kion en sus diferentes porcentajes de concentración.	54
Figura 25. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion (concentración de 40 %: izquierda y concentración de 60 %: derecha) frente a <i>Escherichia coli</i>	54
Figura 26. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion (concentración de 20 %: izquierda y concentración de 60 %: derecha) frente a <i>Salmonella typhimurium</i>	55

RESUMEN

La porcicultura está relacionada con muchas enfermedades a causa de bacterias como la *Salmonella ssp.* y *Escherichia coli*; que ponen en peligro la producción, ante esto, en la presente investigación se evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de kion (*Zingiber officinale*) en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* en cerdos, en la Región Amazonas, provincia y distrito de Chachapoyas, cuyo objetivo fue evaluar el efecto del extracto de kion (EKJ) en el control *in vitro* de las bacterias mencionadas. Se ejecutó en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos del IGBI de la UNTRM-A, en las que se utilizó bacterias obtenidas de cerdos de entre 30 y 90 días de edad de la granja del señor Leonardo Mendoza que presentaron síntomas de tener alguna enfermedad causada por *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*, el principal síntoma a tomar en cuenta fue la presencia de diarrea. Los datos obtenidos fueron procesados en un análisis de varianza y comparación de medias con Tukey a una probabilidad de $p=0,05$. Obteniendo como resultado que el extracto de kion a concentraciones de 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% y 60% no muestran ningún efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* ya que el promedio del halo de inhibición fue de 6 mm, siendo este el tamaño de los discos de sensibilidad. Por lo tanto, se concluyó que el EK no cumple un efecto antibacteriano.

Palabras clave: Extracto de kion, efecto antibacteriano, halo de inhibición.

ABSTRACT

Pig farming is related to many diseases caused by bacteria such as *Salmonella* ssp. and *Escherichia coli*; that endanger production, in view of this, in the present investigation the in vitro antibacterial effect of kion extract (*Zingiber officinale*) was evaluated in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in pigs, in the Amazon Region, province and district of Chachapoyas, whose The objective was to evaluate the effect of kion extract (EKJ) in the in vitro control of the mentioned bacteria. It was carried out in the Laboratory of Infectious and Parasitic Diseases of Domestic Animals of the IGBI of the UNTRM-A, in which bacteria obtained from pigs between 30 and 90 days old from Mr. Leonardo Mendoza's farm that presented symptoms of having symptoms were used. Some disease caused by *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, the main symptom to take into account was the presence of diarrhea. The data obtained were processed in an analysis of variance and comparison of means with Tukey at a probability of $p = 0.05$. Obtaining as a result that the kion extract at concentrations of 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% and 60% do not show any antibacterial effect against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* since the average halo of inhibition was 6 mm, this being the size of the sensitivity discs. Therefore, it was concluded that EK does not have an antibacterial effect.

Keywords: Kion extract, antibacterial effect, inhibition halo.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las ETAs (Enfermedades transmitidas por alimentos) representan un importante campo de estudio en la salud pública, dado que son enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos que contienen microorganismos perjudiciales vivos o sus toxinas para el consumo humano y animal, por otro lado la salmonelosis es una enfermedad causada por bacterias del género *Salmonella*, familia *Enterobacteriaceae*; siendo de gran importancia en los cerdos, la presencia de *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* que ocasiona enterocolitis necrosante y la *Salmonella choleraesuis* que provoca la forma septicémica caracterizada por hepatitis, neumonía y vasculitis cerebral, así lo describen Fierro et al., (2011).

Así mismo Betancur, (2018) nos describe sobre las ETAs , indicando que estas son la ingestión de un alimento contaminado con algún microorganismo el cual genera enfermedad en dos individuos o más. Del mismo modo menciona que las ETAs más comunes a nivel porcicultor son Colibacilosis, *Escherichia coli*, Triquinosis y *Salmonella*.

Blanco (como se citó en Lazo, 2010) nos indica que las colibacilosis causadas por *Escherichia coli* enterotoxigénicos (ECET) son muy frecuentes en los animales domésticos, que lleguen afectando básicamente a los animales que se encuentran a pocos días de nacido y a los recién destetados, ocasionando pérdidas económicas trascendentes en explotaciones porcinas de todo el mundo, además VuKhac y Col. (citada en Lazo, 2010) nos reafirma que las consecuencias presentadas por la diarrea postdestete en cerdos es a menudo el principal problema infeccioso de las granjas a gran escala, siendo responsable de pérdidas significativas a nivel mundial.

Bustos y Segura, (2005) explican que la *Salmonella ssp.* tiene como reservorio principal el intestino de los animales, teniendo como ruta de transmisión más común la manera fecal/oral para que se aloje allí, además forma parte una más de las causas de contaminación en los alimentos de origen animal debido al riesgo que presenta para la salud humana sobre todo por la presencia de la enfermedad diarreica aguda; a diferencia de *Escherichia coli* que esta hace parte del tracto intestinal del hombre y de los animales siendo parte de la micropoblación bacteriana, sin embargo su patogenicidad se alcanza con valores mayores a 10^6 UFC/ml² que es el rango normal en que se encuentran animales sanos.

Por otro lado Ñahuis y Enciso, (2018) hacen referencia a las plantas medicinales como un recurso de gran importancia como ingrediente alternativo para dar solución y mejoras en la salud. Los mismos mencionan que en la actualidad, las plantas medicinales, por sus biodiversidades y riquezas en metabolitos secundarios, nos ofrecen una fuente interesante de posibles sustancias activas que actúan en contra de muchas bacterias; por ello, en los últimos años, ha ido incrementado el interés en la buscar y encontrar distintas especies vegetales que tengan efectos benéficos; así mismo estos investigadores realizaron un trabajo con el *Zingiber officinale* (kion), en el cual encontraron que este producto tiene diferentes efectos positivos para la salud como por ejemplo, actúa como agente antibacteriano, efectos terapéuticos que se han dado a conocer gracias a los estudios e investigaciones que se realizan en el campo químico farmacéutico, así como también en distintas áreas de la salud; en la misma investigación descubrieron que al aplicar diferentes concentraciones de extracto etanólico del *Zingiber officinale* “kion” a 25%, 50% y 100% en bacterias, dieron resultados de crecimiento de halo de inhibición de 10 mm, 6 mm y 6 mm respectivamente, dichas concentraciones fueron comparados con controles de Gentamicina 10 µg y etanol, llegando a la conclusión que el extracto etanólico del *Zingiber officinale* “kion” a concentración del 25% presenta efecto antibacteriano en cepas de *Escherichia coli*.

Según Cañigüeral, como se citó en Zozoranga, (2014), el jengibre es una planta medicinal que contiene un 4-7,5% de oleorresina, en la que destacan el aceite esencial y las sustancias picantes: El aceite esencial (1,5-3% de la droga) tiene una composición variable según la procedencia. Los principales componentes son sesquiterpenos, como α -zingibereno, α -curcumeno, β -bisaboleno, β -bisabolona, (EE)- α -farneseno y β -sesquifelandreno, y monoterpenos, como alcanfor, β -felendreno, geranial, neral y linalol. Las sustancias picantes se trata de fenilalcanonas o fenilalcanonoles no volátiles con cadenas de diferentes longitudes, siendo los más importantes el [6]-gingerol y el [6]-sogaol. También el rizoma de jengibre contiene diarilheptanoides: difenilheptenonas, difenilheptanoles, difenilheptanodioles y sus acetatos; otros componentes de importancia son el almidón (aproximadamente un 50%), diterpenos, ácido 6-gingesulfónico y monoacil digalactosil gliceroles.

Rengifo, (2018) en su investigación titulada efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio *in vitro*, encontró que 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.

Observando la incidencia y problemas que presentan estas bacterias en las explotaciones, se propuso realizar ésta investigación con la finalidad antes mencionada y tener información para dar otras soluciones para erradicar o prevenir las diferentes enfermedades causadas por dichas bacterias, la causa también se dio a que no existen investigaciones suficientes sobre la utilización del extracto de kion (*Zingiber officinale*) utilizado como producto antibacteriano frente a la *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* en la producción porcina, ya que en gran mayoría de las investigaciones con este producto se han realizado en humanos.

Por otro lado se consideró la accesibilidad de los productores porcícolas al producto del *Zingiber officinale* “kion”, y se observó que dicho producto se puede obtener con gran facilidad en los diversos mercados de la ciudad, así mismo se puede considerar la producción a pequeña escala de este producto por cada productor como planta medicinal ya que este producto cuenta con diferentes propiedades para la salud.

En la presente investigación se trató con la siguiente hipótesis: El extracto de kion (*Zingiber officinale*) tendrá un efecto antibacteriano *in vitro* considerable en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* en cerdos, cuyo objetivo principal fue evaluar el efecto del extracto de kion (EK) en el control *in vitro* de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* en cerdos, Chachapoyas - Amazonas.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Localización

El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos (PROSAN) perteneciente a la Facultad de Ingeniería Zootecnista y Biotecnología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, la cual se encuentra en la provincia y distrito de Chachapoyas, dicha institución se encuentra ubicada a 6°13'57" sur y 77°51'11" norte a una altitud de 2334 msnm, a una temperatura anual promedio de 17°C, humedad relativa de 74% y una precipitación anual de 811 mm.

2.2. Cepas bacterianas

Según el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (2018), una cepa bacteriana es un conjunto de bacterias con igualdad en términos de sus características biológicas, es decir, bacterias de la misma especie que comparten ciertas características que no se encuentran en otros miembros de la especie, se llaman cepas o colonias bacterianas.

Las cepas bacterianas que se utilizó en la presente investigación sobre la actividad antibacteriana fueron adquiridas de las heces de los cerdos en etapa de crecimiento (de 30 a 90 días de vida) que presentaron síntomas de las enfermedades causadas por las bacterias *Escherichia coli* y *salmonella typhimurium* de la granja del señor Leonardo Mendoza ubicado en el km 4.05 de la carretera Chachapoyas – distrito de Huancas tomando como punto de referencia a la plaza de armas del distrito de Chachapoyas y a 1.1 km del borde de la carretera mencionada (anexo, figura 6).

2.3. Recolección de muestras de heces de cerdos

Las muestras de heces son la principal materia de la cual se obtiene cepas bacterianas de las que se desea evaluar, para la siguiente investigación se procedió a la recolección de las muestras de heces de la siguiente manera:

- Se realizó la identificación de los cerdos que presenten los síntomas de salmonelosis y colibacilosis en la granja.
- Después de la identificación se realizó el seguimiento de estos animales y al observar la defecación de los cerdos, con la ayuda de una espátula estéril se procedió a recoger las heces directamente del recto del cerdo, y luego se colocó en 6 envases de vidrio estériles, ocupando 250 g de heces aproximadamente en cada envase.
- Dichas muestras obtenidas transportamos a laboratorio a temperatura ambiente.

2.4. Preparación de medios de cultivo

El modo de preparación se realizó de acuerdo a lo indicado en los envases de cada uno de los productos (agares y medios diferenciales), Britania Lab. (2015) y con las indicaciones del personal experto en microbiología que labora en el laboratorio de PROSAN.

Previo a la preparación de los medios de cultivo se procede a esterilizar todos los materiales (frascos de vidrio, placas y tubos) a una temperatura de 100°C por un tiempo de 1 hora. Dichos materiales se esterilizan envolviendo en papel para mejorar los resultados de esterilización.

- En primer lugar se realizó el pesaje de cada producto de agar y medio diferencial a preparar (anexo, figura 8 izquierda).
- En un frasco de vidrio de 500 ml se puso la cantidad de agua destilada que se necesitó preparar con cada agar y medio diferencial.
- A cada frasco con la cantidad necesaria de agua destilada se agregó un contenido de agar y/o medio diferencial que pesamos en el primer paso. Es decir cada cantidad diferente pesada de cada uno de los agares se le agregó a un frasco de agua destilada diferente.
- Se homogeneizó y se disolvió calentando en un mechero y agitando suavemente (anexo, figura 8 derecha).
- En el caso del agua peptonada, se distribuyó en 7 pequeños frascos esterilizados, en cada frasco se distribuyó 50 ml.
- Los demás agregares ya diluidos en los frascos grandes, juntamente con los 7 frascos pequeños de agua peptonada, se llevó a autoclave por un tiempo de 1 hora a una temperatura de 121°C.
- Una vez cumplido el tiempo en autoclave, se lleva a cabina de seguridad juntamente con las placas Petri y tubos de ensayo para su respectivo llenado.
- Para los agares MacConkey, EMB y Müller Hinton se realizó su distribución en placas Petri agregando 25 ml en cada placa (anexo, figura 9).
- Para los medios diferenciales CITRATO DE SIMMONS, LIA, TSI y SIM se realizó sus distribuciones en pequeños tubos agregando 6.6 ml en cada uno, los tres primeros medios diferenciales se hizo el llenado y se inclinó el tubo para obtener una solidificación del medio de forma inclinada y el último medio (SIM) se hizo el llenado y se mantuvo el tubo recto para que su solidificación sea nivelado (anexo, figura 9).

- En el caso de la preparación del agar SS, primero se llenó el agua destilada con la cantidad de agar que se necesitó preparar en un frasco de vidrio, luego se llevó a autoclave por un tiempo de 1 hora a una temperatura de 121°C, retiramos del autoclave y se agregó la cantidad de agar pesado (primer paso) al frasco con agua destilada autoclavado y se disolvió agitando y calentando en un mechero para evitar el enfriamiento.
- Diluido por completo, sin presencia de pequeñas partículas se procedió a distribuir en placas Petri, colocando 50 ml en cada placa.
- Todos los agares y medios diferenciales preparados y distribuidos en placas Petri y tubos se llevó a su conservación en refrigeración para luego utilizar en el momento adecuado de la investigación.

2.5. Siembra de las bacterias en medios de cultivo

Todos los demás procesos se realizaron apoyándonos en los pasos descritos por Cruz et al., (2010), y con el apoyo del personal experto en microbiología que labora en el laboratorio de PROSAN.

2.5.1. Enriquecimiento de muestras

Con la finalidad de aumentar el número de bacterias de una cierta cantidad de muestras de heces, se realizó el procedimiento de enriquecimiento de muestras de heces de cerdo colocando en la cabina de seguridad las muestras de heces, los frascos de agua peptonada preparada y todos los materiales necesarios para dicho procedimiento, se hizo siguiendo los pasos:

- Con la ayuda de una pinza, se extrajo 250 gramos de cada frasco las heces de las muestras de diferentes días de edad de los cerdos, así como también de diferentes corrales de la granja.
- Se sumergió dicha cantidad en los frascos de agua peptonada o caldo peptonado, cuyos frascos se encontraron etiquetados para cada una de las muestras.
- Una vez sumergidos, se pasó a homogeneizar bien para enriquecer mejor las muestras (anexo, figura 10).
- Luego se llevó a la estufa a incubar por un tiempo de 18 a 24 horas a una temperatura de 37°C.
-

2.5.2. Siembra de bacterias en medios de cultivo: Agar MacConkey y agar Salmonella Shiguella

Pasado ya el proceso de enriquecimiento de muestras, se realizó la siembra en los agares MacConkey (MC) y Salmonella Shiguella (SS) para obtener colonias de bacterias; en el agar MC se obtuvo diferentes bacterias y en el agar SS se obtuvo la bacteria Salmonella. Éste proceso se realizó de la siguiente manera:

- Colocamos los materiales a necesitar para la siembra en la cabina de seguridad y se coloca luz ultravioleta (UV) por un tiempo aproximado de 5 minutos, luego se colocó las muestras enriquecidas en caldo peptonado y las placas con agar MC y SS en dicha cabina de seguridad.
- Con un plumón indeleble se realizó el etiquetado correspondiente en cada placa de agar MC y SS con cada una de las muestras.
- Encendemos un mechero en la cabina y esterilizamos el asa bacteriológica en aro hasta formar un rojo vivo en el asa.
- Se dejó enfriar el asa para evitar la muerte de las bacterias al obtener la muestra, seguidamente se procedió a introducir el asa en el primer frasco de muestra de heces enriquecida por varias veces, eliminamos la burbuja que se forma y se procedió a realizar la siembra en forma de zigzag o conocido por el método de estrías en las placas con agar MC y SS. De la misma manera se procede a la siembra con cada una de las muestras enriquecidas y en cada placa de ambos agares ya mencionados, para cada muestra y cada placa de agar diferente se realizó la esterilización debida del asa bacteriológica (anexo, figura 11).
- Luego se llevó a la incubación de las placas sembradas en una estufa a una temperatura de 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas.
- Finalmente pasado la incubación se procedió a la identificación de la bacteria *Salmonella* en el agar SS (anexo, figura 12 izquierda) y el crecimiento de bacterias en agar MacConkey (anexo, figura 12 derecha), luego para la identificación de *Escherichia coli* se siguió la siembra en el medio de cultivo específico de agar EMB.

2.5.3. Siembra de bacterias en medio de cultivo agar EMB

El siguiente proceso se realiza para identificar a la bacteria *Escherichia coli* ya que el agar EMB es un medio específico para dicha bacteria, por lo tanto a partir de la siembra en agar MC pasado las horas de incubación en dicho agar se realizó la siembra en el agar EMB de la siguiente manera:

- Colocamos todos los materiales necesarios para dicho proceso en la cabina de seguridad y se puso luz ultravioleta por 5 minutos.
- Una vez pasado los 5 minutos colocamos en la cabina la placa con agar EMB y la placa sembrada e incubada en agar MC.
- Luego se observó bien las colonias de bacterias formadas en la placa de agar MC, se seleccionó una colonia de color rojo y otra de color blanco.
- De las colonias seleccionadas se procedió a tomar la colonia de color rojo con un asa bacteriológica en aro esterilizada al rojo vivo con un mechero, se dejó enfriar para evitar la muerte de bacterias al tomar la colonia y se realizó la siembra por el método de estrías o en zigzag en la placa con agar específico de EMB.
- Se volvió a esterilizar el asa bacteriológica y de la misma manera se realizó la siembra con la colonia de color blanco seleccionada en una placa con agar específico de EMB, para poder determinar cuál de las colonias seleccionadas con bacterias de *Escherichia coli*.
- Finalmente se llevó a incubar las placas con agar EMB sembradas en una estufa a 37°C de temperatura por 18 a 24 horas. Pasado las horas de incubación se hizo la identificación de la bacteria, un color verde brillante nos confirmó la presencia de la bacteria en interés (anexo, figura 14).

2.5.4. Siembra de bacterias en medios diferenciales para la identificación de las bacterias

Se realizó ésta siembra en medios diferenciales para determinar si las bacterias en interés corresponden a *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. Éste proceso se hizo siguiendo los pasos:

- Se colocó todos los materiales correspondientes para éste proceso en la cabina de seguridad y se puso 5 minutos de luz ultravioleta con el motivo de desinfectar dichos materiales.

- Luego colocamos las placas de agar MC y SS con las colonias de bacterias formadas y los tubos con medios diferenciales en dicha cabina de seguridad.
- Esterilizamos en el mechero el asa bacteriológica en punta a color rojo vivo y dejamos enfriar, mientras que de la placa con agar MC con las colonias de bacterias, se seleccionó dos colonias una de color rojo y otra de color blanco, de las cuales se tomó una muestra de la colonia de color rojo de la placa y se procedió a sembrar en 4 tubos con un medio diferencial cada uno de la siguiente manera:

LIA: Se profundizó el asa hasta el fondo del agar, se retiró a la parte superficial y se hizo movimientos en zigzag por la superficie del agar.

CITRATO DE SIMMONS: Se realizó la siembra solo en la parte superficial del tubo en forma de zigzag.

SIM: Se realizó una punzada hasta el fondo del agar y se retiró el asa.

TSI: Se profundizó el asa hasta el fondo del agar, se retiró a la parte superficial y se hizo movimientos en zigzag por la superficie del agar.

Cabe resaltar que para cada siembra en cada uno de los 4 tubos se realizó la esterilización del asa bacteriológica y la muestra para la siembra en cada tubo se tomó de la misma colonia de color rojo de la cual se extrajo la muestra para la primera siembra en el primer tubo.

- Luego se hizo la siembra con la colonia seleccionada de color blanco del mismo agar MC y se ejecutó los mismos pasos, con cada uno de otros 4 tubos de medios diferenciales. De ésta siembra se obtuvo la identificación para la bacteria de *Escherichia coli*.
- Para el caso de identificación de la bacteria *Salmonella typhimurium* en los medios diferenciales se procedió a realizar la siembra con el mismo método para *Escherichia coli*. Al igual se seleccionó una colonia roja y una colonia blanca del agar SS y se sembró con cada colonia en 4 tubos contenidos los medios diferenciales.
- Finalmente se obtuvo la siembra en 16 tubos, de los cuales 8 para la identificación de *Escherichia coli* y 8 para *Salmonella typhimurium*, éstos tubos con los medios diferenciales sembrados con las colonias seleccionadas se llevó a incubación en una estufa a 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas para luego realizar la lectura de identificación de bacterias. (anexo, figura 13).

2.5.5. Lectura de la identificación bioquímica de bacterias en medios diferenciales

Este es el paso dónde a través de las pruebas bioquímicas se descarta el tipo de bacterias obtenidas en nuestros cultivos, de tal manera se realizó la lectura de identificación de dichas pruebas con la ayuda de un manual de microbiología básica proporcionada por el personal que labora en el laboratorio de PROSAN, lugar dónde se ejecutó la investigación, en la lectura logramos obtener los siguientes resultados:

- Para *Escherichia coli*:
 - Reacción bioquímica en SIM: H₂S (+) e Indol (+)
 - Reacción bioquímica en SIMMONS: Citrato (-)
 - Reacción bioquímica en LIA: Lisina descarboxilasa (-) y H₂S (-)
 - Reacción bioquímica en TSI: Lactosa (+), Sacarosa (+), Glucosa (+) y H₂S (+)
- Para *Salmonella typhimurium*:
 - Reacción bioquímica en SIM: H₂S (-) e Indol (-)
 - Reacción bioquímica en SIMMONS: Citrato (-)
 - Reacción bioquímica en LIA: Lisina descarboxilasa (+) y H₂S (+)
 - Reacción bioquímica en TSI: Lactosa (+), Sacarosa (-), Glucosa (-) y H₂S (+)

Para verificar los resultados véase en anexos la figura 15 (fotos de la investigación para *Escherichia coli* izquierda y para *Salmonella typhimurium* derecha) y las figuras 16, 17, 18 y 19 (recortes del manual con la que nos regimos para la lectura de la identificación bioquímica de las bacterias cultivadas).

2.6. Identificación de bacterias con tinción Gram

Para determinar la pureza de los cultivos, así mismo para identificar a las bacterias requeridas por la investigación se realizó la prueba de tinción o coloración Gram, para ello se siguió los siguientes pasos explicando a criterio personal, y siguiendo los procesos descritos por Torres, (1996) en su manual práctico de bacteriología médica.

- En una lámina se colocó una gota de agua destilada, con la ayuda de un asa bacteriológica esterilizada a través de un mechero se enfría en el mismo agar del cultivo para evitar la muerte de las bacterias por el calor del asa.
- Se toma una bacteria de la siembra y se procede a realizar una suspensión sobre la gota de agua destilada en la lámina.
- Luego se realizó la fijación al calor en el mechero.
- En un soporte de coloración se coloca la lámina y se agrega cristal violeta dejando reposar por 1 minuto, pasado en minuto se lava a agua corriente y se agrega el

mordiente o lugol por 1 minuto el cual sirve para fijar el colorante, lavar en agua corriente y se vuelve a agregar el decolorante Gram por 1 minuto, realizar el mismo procedimiento lavando y agregando safranina por 1 minuto y luego lavar.

- Finalmente una vez realizado el procedimiento con los 4 reactivos, procedemos a agregar 1 gota de aceite de inmersión y se lleva a microscopio a observar o identificar con el lente de inmersión a las bacterias de interés.

2.7. Obtención de los discos de sensibilidad

Para evaluar el efecto antibacteriano se opta por elaborar discos de sensibilidad el cual nos permitirá identificar el crecimiento del halo, estos discos fueron elaborados de papel filtro de la siguiente manera:

- Se tomó el papel filtro y se procedió a cortar en forma circular con un diámetro de 6 mm con una perforadora de escritorio.
- Luego se colocó en un vaso de precipitación para llevar a esterilizar en incubadora a 150 °C por un tiempo de 1 hora.

2.8. Procedencia y obtención del extracto de kion

Para evaluar el efecto antibacteriano del kion se hizo un extracto, el producto o materia prima fue procedente de la ciudad de Chiclayo, cuyo procedimiento se realizó de la siguiente manera:

- El kion fue obtenido en el mercado local mayorista de la ciudad de Chachapoyas ubicado a la salida al distrito de Jazán – Pedro Ruiz Gallo.
- Una vez obtenido se dio lugar al transporte al laboratorio de PROSAN de la UNTRM-A dónde se realizó la investigación.
- En el laboratorio de PROSAN se procedió al lavado, pesado de 500 gramos y al pelado del producto (kion).
- Luego se realizó la extracción del jugo de kion usando una extractora de uso doméstico.
- Recibido el extracto de kion en un vaso precipitado esterilizado se realizó un filtrado con papel filtro para obtener el extracto de kion con mayor pureza evitando el paso de pequeñas partículas que forman parte de la raíz del producto.
- Finalmente se procedió a la preparación de los tratamientos respectivos a evaluar.

2.9. Preparación de los tratamientos

En la cabina de seguridad se coloca todos los materiales a utilizar y se desinfecta colocando luz ultravioleta por 3 a 5 minutos, luego colocamos nuestros insumos y

trabajamos en la preparación de los tratamientos. En ésta investigación como insumos se utilizó extracto de kion (*Zingiber officinale*) y agua destilada esterilizada.

Con la ayuda de una pipeta se procede a medir los insumos con las siguientes cantidades:

- T0 (0% EK) : 25 ml de agua destilada
- T1 (10% EK) : 22,5 ml de agua destilada + 2,5 ml de extracto de kion
- T2 (20% EK) : 20 ml de agua destilada + 5 ml de extracto de kion
- T3 (30% EK) : 17,5 ml de agua destilada + 7,5 ml de extracto de kion
- T4 (40% EK) : 15 ml de agua destilada + 10 ml de extracto de kion
- T5 (50% EK) : 12,5 ml de agua destilada + 12,5 ml de extracto de kion
- T6 (60% EK) : 10 ml de agua destilada + 15 ml de extracto de kion

Una vez colocados las cantidades en los frascos respectivos a cada tratamiento se procede a homogeneizar las cantidades a través de movimientos circulares suaves. (anexo, figura 20).

2.10. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion

El proceso para esta etapa se realizó teniendo en cuenta a Cruz et al., (2010) y con las indicaciones previas de un personal biólogo que asistió de apoyo.

Para la evaluación se necesitó materiales estériles por lo que se colocó todos los materiales a utilizar para la siembra y evaluación de efecto antibacteriano del kion en una estufa para esterilizar a una temperatura de 150°C por un tiempo de 1 hora.

2.10.1. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion frente a *Escherichia coli*

- Se empezó el procedimiento colocando los materiales e insumos en la cabina de seguridad.
- Luego para hacer la siembra y evaluar el efecto antibacteriano del extracto de kion se realizó una suspensión con la bacteria de *Escherichia coli* colocando 1 ml de agua destilada esterilizada en un tubo de ensayo.
- En el mechero se esterilizó un asa bacteriológica en aro a rojo vivo, se enfrió y se cogió una cantidad de bacterias de *Escherichia coli* del agar EMB y se agregó al tubo que contenía el agua destilada esterilizada, luego se homogeneizó bien con el asa bacteriológica y obtuvimos nuestra suspensión bacteriana de *Escherichia coli* (anexo, figura 21).

- En el tubo con la suspensión bacteriana se introdujo un hisopo con el que también homogeneizamos para obtener una buena muestra y dicho hisopo escurrimos bien en las paredes del tubo.
- Una vez escurrido, sembramos con el hisopo inclinado en las placas contenidas con agar Müller Hinton en todas las direcciones realizando una vuelta entera a los bordes del interior de la placa para obtener un crecimiento de la bacteria en toda la superficie del agar y tapamos la placa (anexo, figura 22).
- Con el mismo hisopo para cada siembra en cada una de las placas con agar Müller Hinton se introdujo en el tubo con la suspensión bacteriana, se escurrió bien y se realizó la siembra con los mismos pasos. Obtuvimos 7 placas con agar Müller Hinton sembradas con bacterias de *Escherichia coli* para realizar la evaluación de los 7 tratamientos respectivos.
- Con un plumón indeleble y una regla se dividió cada una de las 7 placas sembradas en 4 partes iguales, las cuales se rotuló el nombre de la bacteria, tipo de tratamiento y número de repeticiones, éste último en cada uno de los cuadrantes.

➤ **Inserción de los discos de sensibilidad**

- En la cabina de seguridad, en el frasco de cada tratamiento, con la ayuda de una pinza se introdujo un disco de sensibilidad, el cual se humedeció en el primer tratamiento que fue el T₀: que solo contenía agua destilada esterilizada, se extrajo del frasco y se colocó en la primera placa y en el primer cuadrante (anexo, figura 23).
- De la misma forma se realizó la inserción de todos los discos del primer tratamiento, los cuales fueron 4 discos, 1 disco para cada repetición.
- Para las demás inserciones de los discos de sensibilidad se hizo el mismo procedimiento y con su respectivo tratamiento.
- Una vez terminada la inserción de dichos discos a cada una de las 7 placas con su tratamiento correspondiente, se llevó a incubación en una estufa a una temperatura de 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas (anexo, figura 24).
- Pasado el tiempo de incubación, se realizó la respectiva lectura del efecto antibacteriano del extracto de kion en sus 7 diferentes porcentajes de concentración (anexo, figura 25).

2.10.2. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion frente a *Salmonella typhimurium*

- Se empezó el procedimiento colocando los materiales e insumos en la cabina de seguridad.
- Luego para hacer la siembra y evaluar el efecto antibacteriano del extracto de kion se realizó una suspensión con la bacteria de *Salmonella typhimurium* colocando 1 ml de agua destilada esterilizada en un tubo de ensayo.
- En el mechero se esterilizó un asa bacteriológica en aro a rojo vivo, se enfrió y se cogió una cantidad de bacterias de *Salmonella typhimurium* del agar SS y se agregó al tubo que contenía el agua destilada esterilizada, luego se homogeneizó bien con el asa bacteriológica y obtuvimos nuestra suspensión bacteriana de *Salmonella typhimurium* (anexo, figura 21).
- En el tubo con la suspensión bacteriana se introdujo un hisopo con el que también homogeneizamos para obtener una buena muestra y dicho hisopo escurrimos bien en las paredes del tubo.
- Una vez escurrido, sembramos con el hisopo inclinado en las placas contenidas con agar Müller Hinton en todas las direcciones realizando una vuelta entera a los bordes del interior de la placa para obtener un crecimiento de la bacteria en toda la superficie del agar y tapamos la placa (anexo, figura 22).
- Con el mismo hisopo para cada siembra en cada una de las placas con agar Müller Hinton se introdujo en el tubo con la suspensión bacteriana, se escurrió bien y se realizó la siembra con los mismos pasos. Obtuvimos 7 placas con agar Müller Hinton sembradas con bacterias de *Salmonella typhimurium* para realizar la evaluación de los 7 tratamientos respectivos.
- Con un plumón indeleble y una regla se dividió cada una de las 7 placas sembradas en 4 partes iguales, las cuales se rotuló el nombre de la bacteria, tipo de tratamiento y número de repeticiones, éste último en cada uno de los cuadrantes.

➤ Inserción de los discos de sensibilidad

- En la cabina de seguridad, en el frasco de cada tratamiento, con la ayuda de una pinza se introdujo un disco de sensibilidad, el cual se humedeció en el primer tratamiento que fue el T₀: que solo contenía agua destilada esterilizada, se extrajo del frasco y se colocó en la primera placa y en el primer cuadrante (anexo, figura 23).

- De la misma forma se realizó la inserción de todos los discos del primer tratamiento, los cuales fueron 4 discos, 1 disco para cada repetición.
- Para las demás inserciones de los discos de sensibilidad se hizo el mismo procedimiento y con su respectivo tratamiento.
- Una vez terminada la inserción de dichos discos a cada una de las 7 placas con su tratamiento correspondiente, se llevó a incubación en una estufa a una temperatura de 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas (anexo, figura 24).
- Pasado el tiempo de incubación, se realizó la respectiva lectura del efecto antibacteriano del extracto de kion en sus 7 diferentes porcentajes de concentración (anexo, figura 26).

2.11. Diseño experimental

Ésta investigación se realizó con 6 tratamientos y un grupo testigo, cada una con 4 repeticiones (figura 1), las cuales fueron planteados en un diseño completo al azar (DCA). Cada uno de los tratamientos se colocó en una placa Petri, en donde se dividió las placas en cuadrantes para obtener las 4 repeticiones para cada tratamiento (figura 1), para facilitar la evaluación correspondiente.

En el proceso de ejecución se tuvo en cuenta programar la temperatura y tiempo adecuado para su incubación y luego proceder a la lectura de placas.

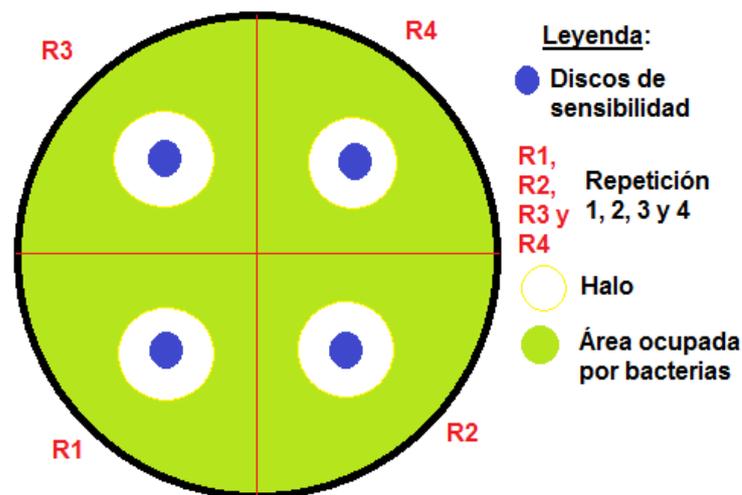


Figura 1. Esquema de la evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion.

En la figura 1 se observa la distribución de las repeticiones por tratamiento en cada placa, es decir una placa representa un tratamiento en dónde cada cuadrante que se muestra representa una repetición de dicho tratamiento, observamos también que el área coloreada de verde es el área ocupada por las bacterias, el área de color blanco representa el tamaño del halo y el área de color azul representa a los discos de sensibilidad hechos de papel

filtro. La evaluación del efecto antibacteriano del kion (*Zingiber officinale*) se realizó efectuando la medición del área coloreada de blanco que es el crecimiento del halo por el efecto antibacteriano del extracto de kion sobre las bacterias investigadas.

2.12. Análisis de datos

Los datos obtenidos en la siguiente investigación fueron procesados en el análisis de varianza, dónde también se analizaron con la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 0.05 para determinar las diferencias entre tratamientos.

III. RESULTADOS

3.1. Identificación de bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* con tinción Gram

En las figuras 2 y 3 se muestran imágenes de las bacterias en estudio, observadas microscópicamente a través del proceso de tinción Gram, de éstas se observa bacterias Gram negativas de forma bacilar teñidas de color rosado características específicas de las bacterias Gram negativas de *Escherichia coli* a la izquierda y de *Salmonella typhimurium* a la derecha.

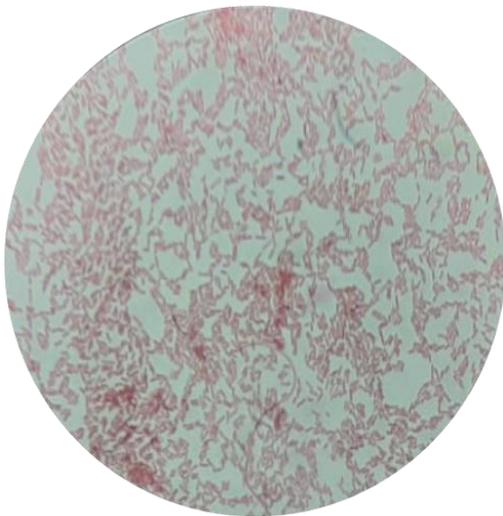


Figura 2. *Escherichia coli* observada microscópicamente.

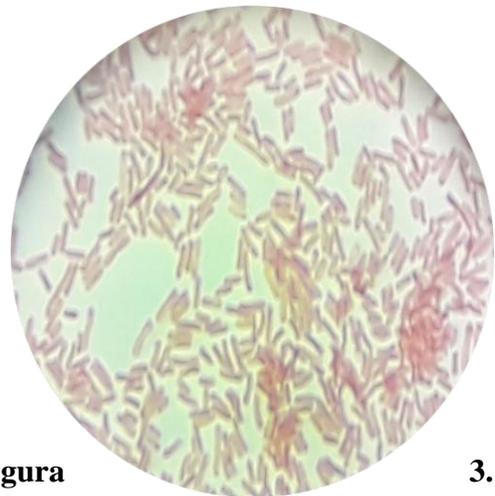


Figura 3. *Salmonella typhimurium* observada microscópicamente.

3.2. Efecto antibacteriano del extracto de kion frente a *Escherichia coli*

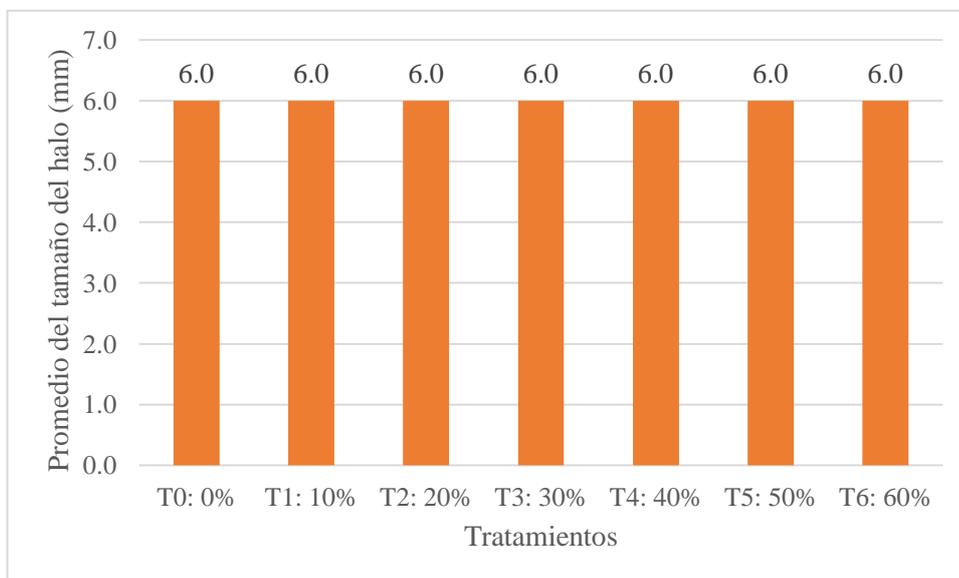


Figura 4. Crecimiento del halo de inhibición en mm frente a *Escherichia coli*.

Como se puede observar en la figura 4, el promedio del tamaño del halo de inhibición en todos los tratamientos evaluados es de 6 mm, lo que demuestra que en la presente investigación el efecto antibacteriano del extracto de kion frente a *Escherichia coli* es nulo ya que no hubo ningún crecimiento de halo, por lo que significa que los 6 mm es el tamaño del disco de sensibilidad.

3.3. Efecto antibacteriano del extracto de kion frente a *Salmonella typhimurium*

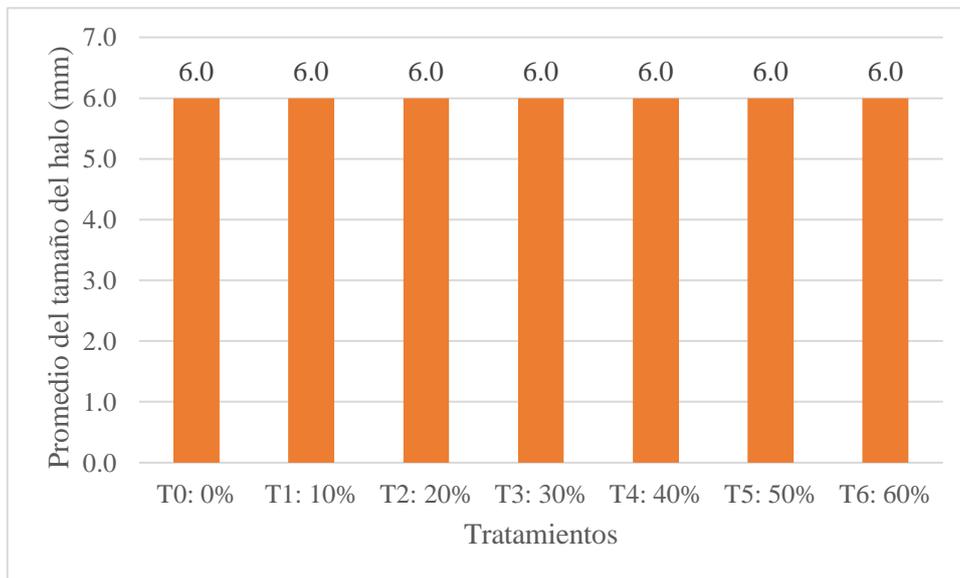


Figura 5. Crecimiento del halo de inhibición en mm frente a *Salmonella typhimurium*.

Como se puede observar en la figura 5, el promedio del tamaño del halo de inhibición en todos los tratamientos evaluados es de 6 mm, lo que demuestra que en la presente investigación el efecto antibacteriano del extracto de kion frente a *Salmonella typhimurium* es nulo ya que no hubo ningún crecimiento de halo, por lo que significa que los 6 mm es el tamaño del disco de sensibilidad.

IV. DISCUSIÓN

Se realizó la evaluación microscópica a través de la tinción Gram de las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* para lo que se observó la morfología celular y coloración con la que se muestran estas bacterias en un microscopio, obteniéndose para *Escherichia coli* una forma bacilar alargada y de color rosado, así como para la *Salmonella typhimurium* se observa forma bacilar más pequeña que la *Escherichia coli* pero de color rosado; resultados similares o iguales según estudio de Romeu (2012) que ha identificado *Escherichia coli* de forma bacilar y color rosado; lo mismo para *Salmonella typhimurium*, Quiles y Hevia (2006) observan a esta bacteria con la forma bacilar y color rosado.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación se observa que el extracto de kion (*Zingiber officinale*) no muestra ningún efecto antibacteriano frente a las bacterias de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* de los cerdos, ya que en los resultados de crecimiento del halo de inhibición se obtiene 6 mm en todos los tratamientos, los que son el tamaño de los discos de sensibilidad; para comprender Bernal y Guzman, (1984) nos explican que la toma de medidas de los halos de inhibición se realiza incluyendo los 6 mm del disco de sensibilidad, lo que significa que una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición. Por lo tanto a base de esta definición, en esta investigación concluimos que el extracto de kion no muestra ningún efecto antibacteriano frente a las bacterias evaluadas.

La investigación realizada presentó resultados similares a los de Ñahuis y Enciso, (2018) en los que evaluaron el efecto antibacteriano aplicando tres niveles de concentración del extracto etanólico del *Zingiber officinale* “kion”, dichos niveles fueron de 25 %, 50 % y 100 %, cuyos resultados mostraron un halo de inhibición de 10 mm, 6 mm y 6 mm respectivamente, comparados con controles de Gentamicina 10 µg y etanol, llegando a la conclusión que el extracto etanólico del *Zingiber officinale* “kion” a concentración del 25% tiene un efecto antibacteriano en cepas de *Escherichia coli*, ante estos resultados podemos afirmar que nuestra investigación mostró resultados iguales pero con aplicación de concentraciones de extracto de kion diferentes y exceptuando el resultado de la concentración del 25 %.

Los datos de todos los tratamientos realizados presentan un tamaño nulo de crecimiento de halo de inhibición con el uso del extracto de kion, los que nos demuestran ser inferiores a los reportados por Rengifo, (2018) en su investigación, en la cual obtuvo resultados de (21,9 ± 1,9 mm) al 100% y (18,5 ± 1,1 mm) al 75% al usar aceite esencial de la raíz

Zingiber officinale roscoe “jengibre o kion”, ante los resultados, consideraron 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).

Así mismo Rengifo, cita a Ayala y a Sharma dónde muestran los resultados de sus investigaciones siendo en estas un crecimiento promedio del diámetro del halo de inhibición de 11,5 mm para bacterias Gram negativas y $17,8 \pm 1,2$ mm para *Escherichia coli*, respectivamente, ambas con la utilización de aceite esencial de jengibre al 100%, el cual sigue siendo bastante superior al de nuestra investigación.

Observamos también que Rone, et al. (2015) realizaron un estudio en la cual hizo una comparación de la actividad antibacteriana de la raíz de *Zingiber officinale Roscoe* “jengibre”, en la que utilizó diferentes diluciones de 100%, 50%, 25% y 12,5% como tintura, consiguiendo el crecimiento promedio del halo de inhibición de 8 mm para *Escherichia coli* y de 10 mm para *Salmonella spp*, dicho resultado nos muestra que los resultados de nuestra investigación es menor aunque las diluciones realizadas para nuestro estudio fueron similares pero no iguales, difiriendo en los resultados.

De acuerdo a los resultados se puede inferir que el crecimiento nulo del halo de inhibición con el uso del extracto de kion se debe a la resistencia bacteriana de las bacterias estudiadas, así nos explican FDA, 2013; OMS, 2014 y CDC, 2016 citados por Ríos et al., (2019) que la resistencia de las cepas de *Salmonella* está asociada a enzimas que modifican los grupos amino o hidroxilo de la molécula del antibiótico lo que impiden la unión del antibiótico al ribosoma y por lo tanto bloquean su actividad antibacteriana; así mismo se apoyan en el tema de que en la actualidad, los espectros de resistencia de las cepas MDR (resistencia a más de tres familias de antibióticos importantes en la clínica humana) de las serovariedades de *Salmonella* se han expandido en los últimos años, ante el uso excesivo de antibióticos en animales de producción y a la transmisión de elementos genéticos entre poblaciones microbianas de los mataderos. Por lo tanto, teniendo en cuenta los estudios y resultados se observa la necesidad de establecer un monitoreo continuo en la cadena de suministro y en las granjas para determinar si los antibióticos se están usando de manera adecuada en países como el Perú.

Explicando la resistencia bacteriana ante los antimicrobianos tenemos también el respaldo de Vargas, como se citó en Gaspar (2018), el que en su estudio ha determinado la transferencia *in vitro* de resistencia antibiótica entre miembros comensales y patogénicos del grupo Enterobacteriaceae en íleo de porcino, demostrando que el material genético que confiere resistencia es absolutamente transmisible entre cepas de *Escherichia coli* y

Salmonella spp., notoriamente los miembros de este grupo de bacterias fueron capaces de intercambiar genes dentro de la micro flora intestinal del cerdo incrementando el riesgo de una posible falla en la terapia veterinaria.

Para nuestra investigación se utilizó la prueba de difusión en agar la que muestra resultados generalmente cualitativos. Reyes et al., (2005) nos explican que la susceptibilidad del microorganismo en prueba se relaciona con el tamaño de la zona de inhibición en milímetros. Los microorganismos se denominan susceptibles cuando el diámetro de la zona es mayor a 30-35 mm, intermedios cuando el diámetro de la zona varía entre 20 y 30 mm, o resistentes con una zona cuyo diámetro es menor a 15-20 mm. Por lo expuesto en este párrafo, se define que nuestros resultados no se encuentran en los rangos establecidos y se puede confirmar que las bacterias estudiadas son resistentes frente al extracto de kion ya que no muestra crecimiento del halo.

V. CONCLUSIONES

Se obtuvo la diferenciación microscópica de las bacterias de *Escherichia coli*, en la cual se observa la característica típica de ésta bacteria Gram negativa de forma bacilar de coloración rosada.

Se obtuvo la diferenciación microscópica de las bacterias de *Salmonella typhimurium*, en la cual se observa la característica típica de ésta bacteria Gram negativa de forma bacilar de coloración rosada.

La utilización del extracto de kion como efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* no es eficaz debido a que no mostró crecimiento del halo de inhibición con ningún porcentaje de concentración de dicho extracto en el experimento.

La utilización del extracto de kion como efecto antibacteriano frente a *Salmonella typhimurium* no es eficaz debido a que no mostró crecimiento del halo de inhibición con ningún porcentaje de concentración de dicho extracto en el experimento.

En esta investigación podemos afirmar que la *Escherichia coli* y la *Salmonella typhimurium* no son sensibles ante los componentes del extracto de kion, al contrario se pudo observar la resistencia bacteriana de estos al extracto en sus diferentes concentraciones (T0 0%: 0 ml., T1 10%: 2.5 ml., T2 20%: 5 ml., T3 30%: 7.5 ml., T4 40%: 10 ml., T5 50%: 12.5 ml., y T6 60%: 15 ml.) los cuales no tienen crecimiento de halo de inhibición a las 24 horas de incubación ya que los promedios nos muestran tan solo el tamaño del disco de sensibilidad.

VI. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones *in vivo* con el uso de extracto de kion para determinar la efectividad de éste y comparar con resultados *in vitro*.

Se recomienda realizar otras investigaciones evaluando efecto antibacteriano de extracto de kion utilizando otros productos diluyentes para la preparación de los tratamientos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernal, M. y Guzman, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomedica* 4(3 y 4), 112–121.
- Betancur, E. (2018). Control de Salmonellosis en cerdos con uso de aditivos y sin el uso de antibióticos en el alimento, en cinco granjas porcícolas del municipio de Santa Rosa de Osos. (Tesis de titulación). Antioquia: Corporación Universitaria Lasallista. Ciencias Administrativas y Agropecuarias Medicina Veterinaria Caldas - Antioquia.
- Britania Lab. (2015a). T.S.I Agar: Triple Sugar Iron Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a297d2411990.pdf
- Britania Lab. (2015b). Lisina Hierro Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a282fb7b6204.pdf
- Britania Lab. (2015c). MacConkey Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2ed674cf661.pdf
- Britania Lab. (2015d). Mueller Hinton Agar. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2843836ddd8.pdf
- Bustos, P. A., & Segura, C. A. (2005). Incidencia de salmonella (*Salmonella ssp*) y E. Coli en tres granjas porcícolas ubicadas en los municipios de Fómeque y Sibaté. (Tesis de titulación). Bogotá: Universidad de La Salle Ciencia Unisalle, Facultad de Zootecnia.
- Cruz, A., Rodríguez, N., & Rodríguez, C. E. (2010). In vitro evaluation of the antibacterial effect of *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* and *Silybum marianum*. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 117-124.
- Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, infoSIDA. (2018). Glosario de infoSIDA: Términos relacionados con el VIH/SIDA. 9na edición. New York, Estados Unidos.
- Fierro, M., Osorio, C., Fandiño, L. y Rondón, I. (2011). Resistencia Antibiótica en *Salmonella* entérica serovar Typhimurium aisladas de granjas porcícolas en el departamento del Tolima. *Orinoquia*, vol. 15, núm. 1, pp. 71-78.
- Gaspar, J. (2018). Caracterización genética de cepas de *Salmonella enterica* aisladas desde planteles porcinos. (Tesis de Grado a Maestro). Santiago, Chile: Universidad de Chile.
- Lazo, L. (2010). Comportamiento epidemiológico de la colibacilosis entérica porcina en la provincia de Villa Clara, patotipos, genes de virulencia y resistencia a antibióticos en los aislados de *Escherichia coli*. (Colibacilosis entérica porcina). *Revista de Salud Animal*, 30(3), 000-195.
- Ñahuis, L. G., y Enciso, N. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *zingiber officinale* (kión) en cepas de *escherichia coli*. (Tesis de titulación). Lima, Perú.

- Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Recuperado de <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/3507>
- Quiles, A. y Hevia, M.L. (2006). *Control de la salmonelosis en las explotaciones porcinas*. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/324030222>
- Rengifo, R. F. (2018). Efecto bactericida del aceite esencial de la raíz del *Zingiber officinale* roscoe sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparada con ciprofloxacino, estudio in vitro. (Tesis de Titulación). Trujillo, Perú: Universidad César Vallejo.
- Reyes, F., Palou, E. y López, A. (2005). Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla. C.P.72810. México.
- Ríos, A., Morales-Cauti, S., Vilca, M., Carhuallanqui, A., & Ramos, D. (2019). Determinación del perfil de resistencia antibiótica de *Salmonella enterica* aislada de cerdos faenados en un matadero de Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(1), 438-445.
- Romeu, B. (2012). Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la Habana. (Tesis de doctorado). La Habana, Cuba: Universidad de La Habana.
- Rone A, Heloisa F, Maiza E, Perina S, Aparecida F, Bauad T, et al. 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
- Torres, M. (1996). *Manual práctico de bacteriología médica*. Guatemala, Guatemala: Serviprensa C.A.
- Zozoranga, R. (2014). Estudio de las aplicaciones terapéuticas del jengibre. (Tesis de titulación). Cuenca, Ecuador: Universidad Católica Cuenca.

ANEXOS

A. Descripción de agares y medios diferenciales utilizados.

Tabla 1. Descripción de los agares utilizados.

NOMBRE DEL AGAR	COMPOSICIÓN	DOSIS DE PREPARACIÓN
CALDO PEPTONADO	Peptona, ClNa, agua destilada	25.5 gramos en un litro de agua desmineralizada
MACCONKEY	Peptona, lactosa, cloruro de sodio, sales biliares, cristal violeta, rojo neutro	50.0 gramos en un litro de agua desmineralizada
EMB	Digerido pancreático de gelatina, lactosa, sacarosa, fosfato dipotásico, agar, eosina y, azul de metileno	36.0 gramos en un litro de agua desmineralizada
SS	Extracto de carne, hidrolizado pancreático de caseína, hidrolizado peptico de tejidos animales, lactosa, sales biliares, citrato sódico, tiosulfato sódico, citrato férrico, rojo neutro, verde brillante, agar	60.0 gramos en un litro de agua desmineralizada
MÜLLER-HINTON (Antibiograma)	Extracto de carne, hidrolizado de caseína, almidón, agar	34.0 gramos en un litro de agua desmineralizada

Tabla 2. Descripción de los medios diferenciales utilizados.

NOMBRE DEL MEDIO DIFERENCIAL	COMPOSICIÓN	DOSIS DE PREPARACIÓN
TSI (Triple sugar iron)	Extracto de carne, cloruro de sodio, glucosa, lactosa sacarosa, sulfato de hierro y amonio, tiosulfato de sodio, rojo de fenol	65.0 gramos en un litro de agua desmineralizada
LIA (Lysine iron agar)	Peptona, extracto de levadura, glucosa, lisina, citrato de hierro y amonio, tiosulfato de sodio, púrpura de bromocresol	32.0 gramos en un litro de agua desmineralizada
CITRATO DE SIMMONS	Citrato de sodio, cloruro de sodio, fosfato dipotásico, fosfato monoamónico, sulfato de magnesio, azul de bromotimol	24.28 gramos en un litro de agua desmineralizada
SIM (Sulfide, indole, motility)	Tripteína, peptona, sulfato de hierro y amonio, tiosulfato de sodio	30.0 gramos en un litro de agua desmineralizada

B. Descripción de datos obtenidos.

Tabla 3. Resultado de datos obtenidos (crecimiento de halo en mm) para *Escherichia coli*.

Repeticiones	Tratamientos						
	T0:	T1:	T2:	T3:	T4:	T5:	T6:
	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%
R 1	6	6	6	6	6	6	6
R 2	6	6	6	6	6	6	6
R 3	6	6	6	6	6	6	6
R 4	6	6	6	6	6	6	6
Promedio	6	6	6	6	6	6	6

Tabla 4. Resultado de datos obtenidos (crecimiento de halo en mm) para *Salmonella typhimurium*.

Repeticiones	Tratamientos						
	T0:	T1:	T2:	T3:	T4:	T5:	T6:
	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%
R 1	6	6	6	6	6	6	6
R 2	6	6	6	6	6	6	6
R 3	6	6	6	6	6	6	6
R 4	6	6	6	6	6	6	6
Promedio	6	6	6	6	6	6	6

C. Descripción estadística de datos

Tabla 5. Estadística descriptiva para *Escherichia coli*.

	N	Media	Desviación estándar	Varianza	Coef. de variación	Mínimo	Máximo
T0: 0%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T1: 10%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T2: 20%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T3: 30%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T4: 40%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T5: 50%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T6: 60%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6

Tabla 6. Estadística descriptiva para *Salmonella typhimurium*.

	N	Media	Desviación estándar	Varianza	Coef. de variación	Mínimo	Máximo
T0: 0%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T1: 10%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T2: 20%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T3: 30%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T4: 40%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T5: 50%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6
T6: 60%	4	6.0000	0.0000	0.0000	0	6	6

D. Panel fotográfico



Figura 6. Condición de los cerdos del que se recolectó las muestras.

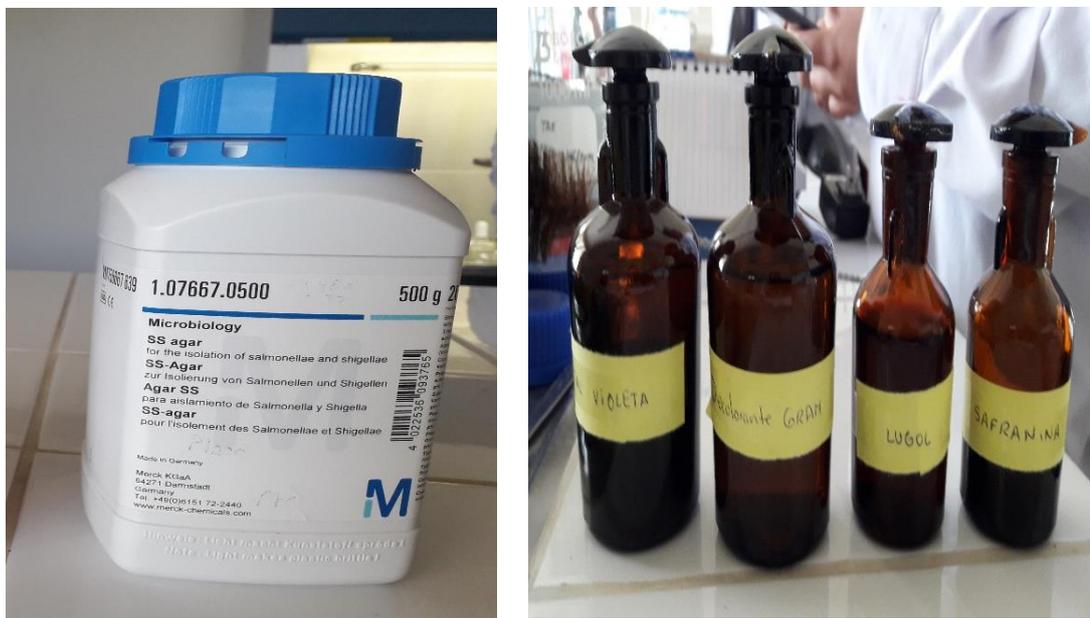


Figura 7. Presentación de los agares y medios diferenciales utilizados (izquierda) y reactivos utilizados para la tinción Gram (derecha).



Figura 8. Pesado de la cantidad necesaria de cada agar a preparar (izquierda) y preparación de agar (derecha).

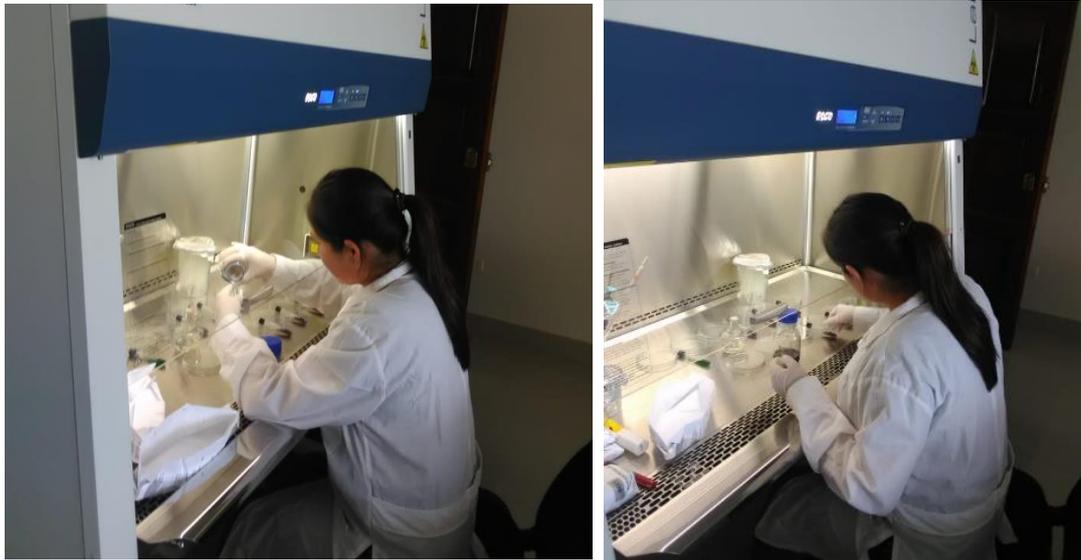


Figura 9. Distribución de medios diferenciales en tubos de ensayo con tapa y de agares en placas Petri.



Figura 10. Enriquecimiento de muestras en agua peptonada (izquierda) y muestras enriquecidas listas para realizar la siembra en agar MacConkey y agar SS (derecha).

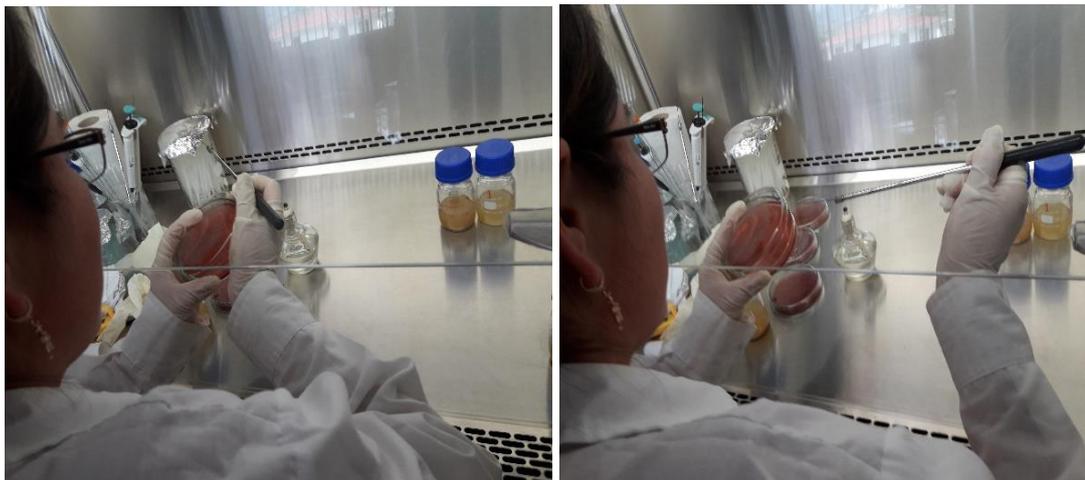


Figura 11. Siembra de muestras en agar MacConkey y agar SS para identificar el crecimiento de bacterias.

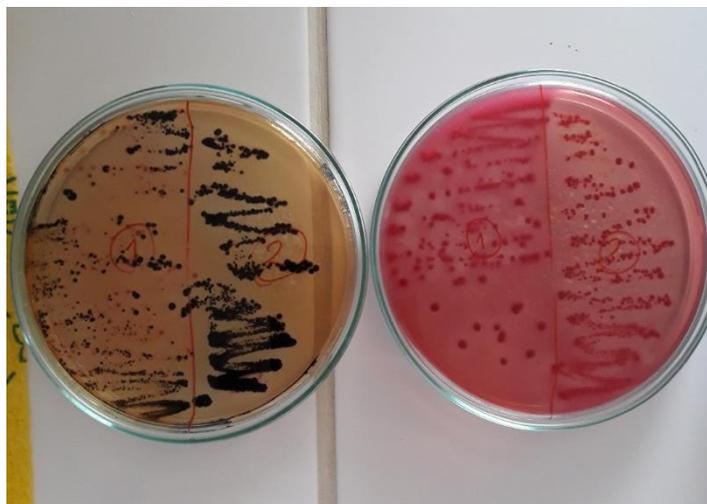


Figura 12. Resultado del crecimiento de *Salmonella ssp* en agar SS (izquierda) y de crecimiento de bacterias en agar MacConkey (derecha).

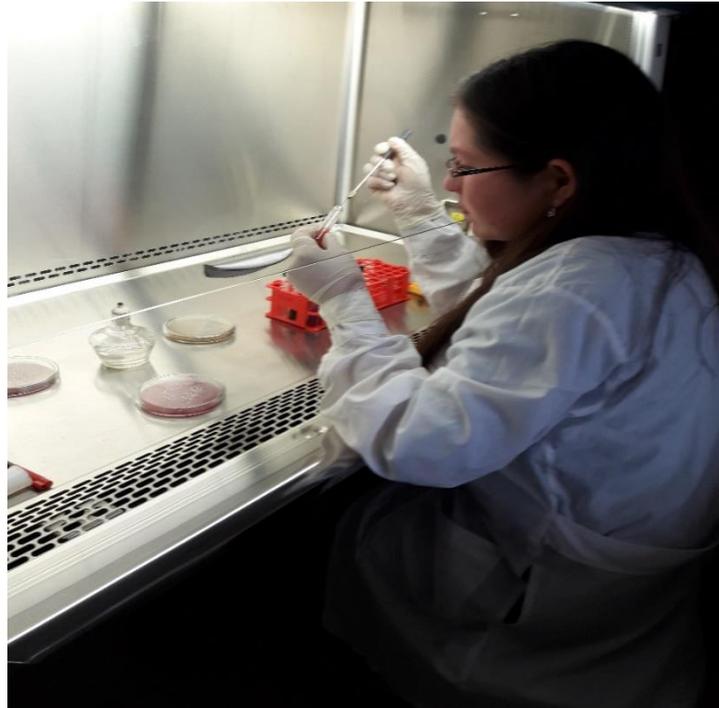


Figura 13. Siembra de bacterias extraídas de la placa de agar MacConkey y traspasadas en agar EMB para identificar *Escherichia coli* y de la placa de agar SS sembradas en tubos con medios diferenciales para identificar *Salmonella typhimurium*.

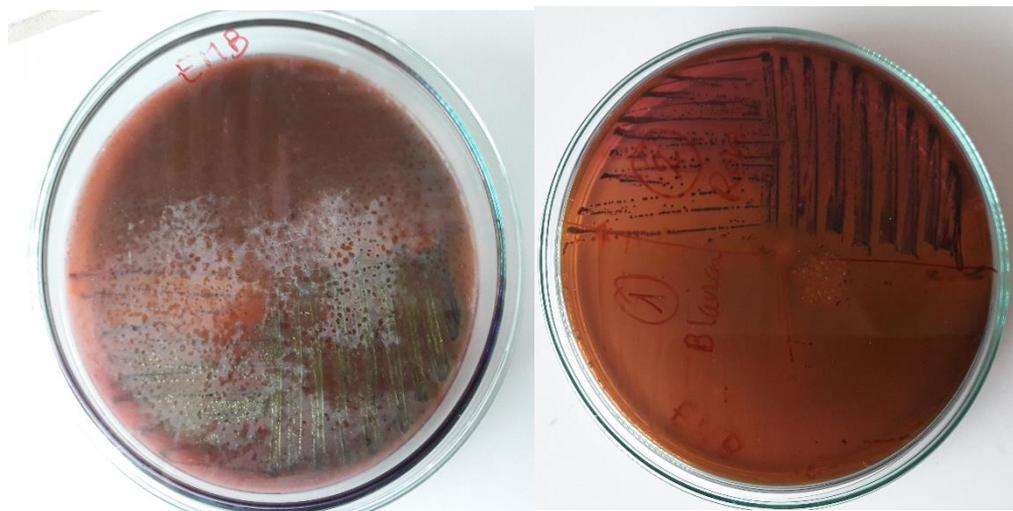


Figura 14. Resultados de identificación de la bacteria *Escherichia coli* en agar EMB.



Figura 15. Resultados de identificación de la diferenciación de bacteria de *Escherichia coli* (izquierda) y de *Salmonella typhimurium* (derecha) en medios diferenciales.

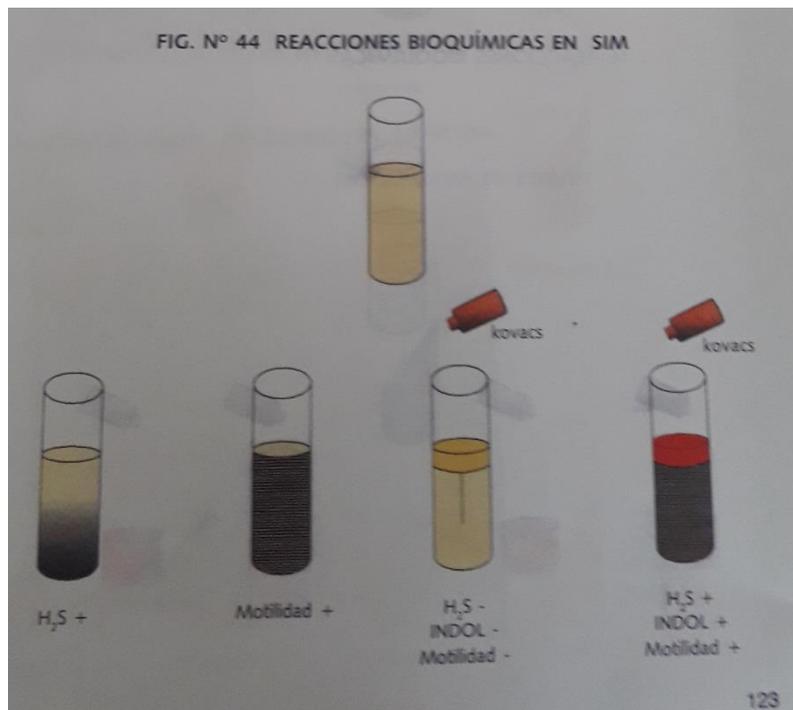


Figura 16. Reacciones bioquímicas en SIM.

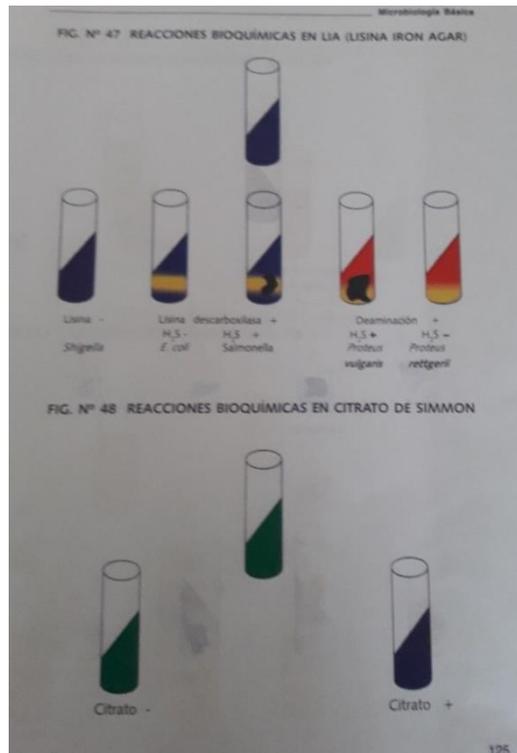


Figura 17. Reacciones bioquímicas en LIA y Citrato de SIMMONS.

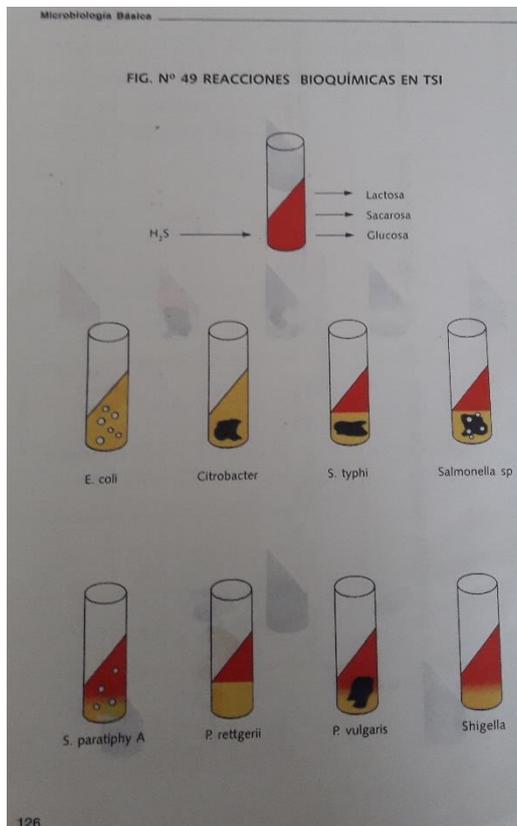


Figura 18. Reacciones bioquímicas en TSI.

CUADRO N° 11 REACCIONES BIOQUÍMICAS EN TSI – LIA – SIM – CALDO GLUCOSADO – CITRATO – ÚREA

Reacciones	Microorganismos								
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella ParatyphiA</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Morganella</i>
Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acidez									
CO ₂	+	-	-	+	+	+	+	+	v
Lactosa	+	-	-	-	-	+	+	-	-
Sacarosa	+	-	-	-	-	+	+	v	v
H ₂ S	-	-	+	-	+	-	-	+	-
Indol	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Motilidad	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Lisina descarboxilasa	+	-	+	+	+	-	-	+	+
Lisina deaminasa	-	-	-	-	-	-	-	+	+
MR	+	+	+	+	+	-	+	-	-
VP	-	-	-	-	+	+	+	v	-
Citrato	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Úrea	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Microbiología Básica

127

Figura 19. Reacciones bioquímicas en TSI, LIA, SIM, CITRATO DE SIMMONS.

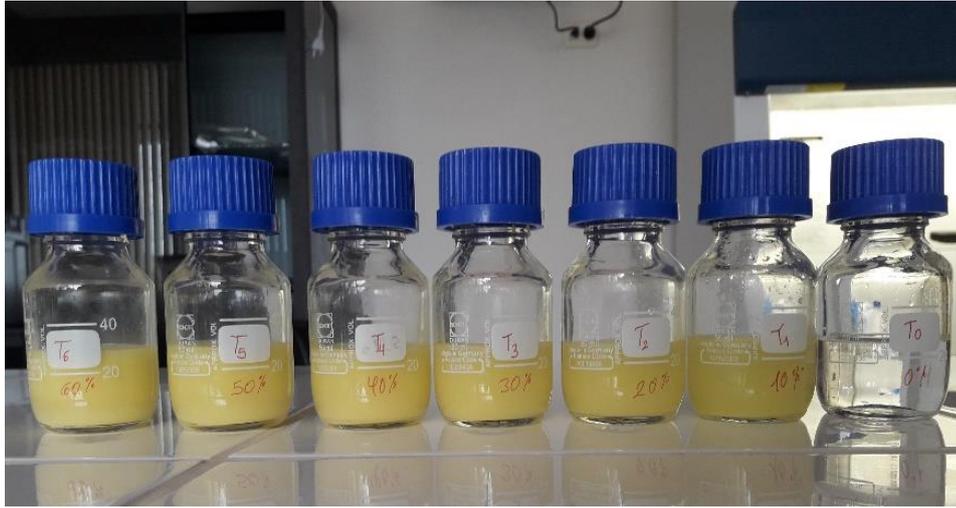


Figura 20. Tratamientos preparados (Extracto de kion diluido en agua destilada).

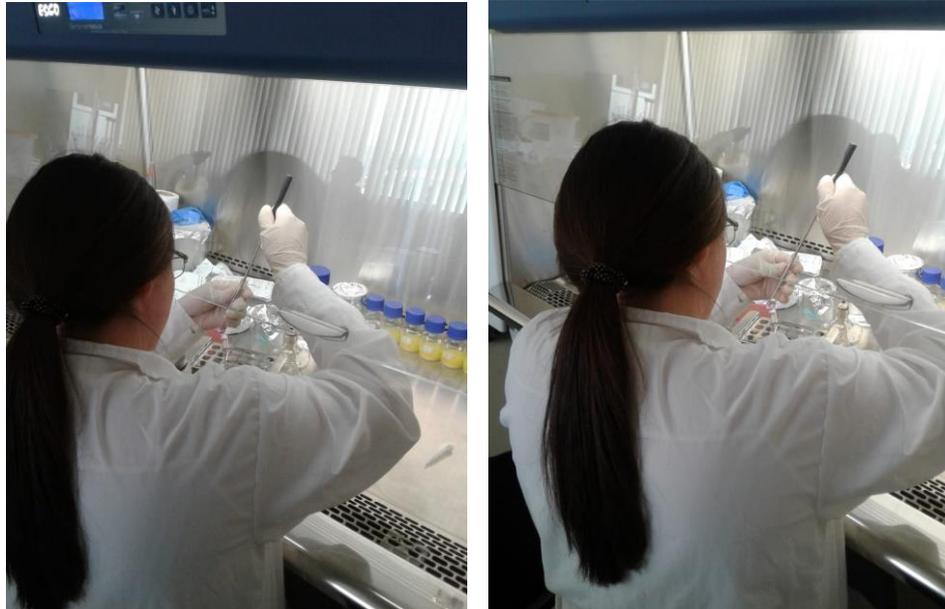


Figura 21. Preparación de la suspensión bacteriana de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* para realizar la siembra en placas con agar Müller Hinton.

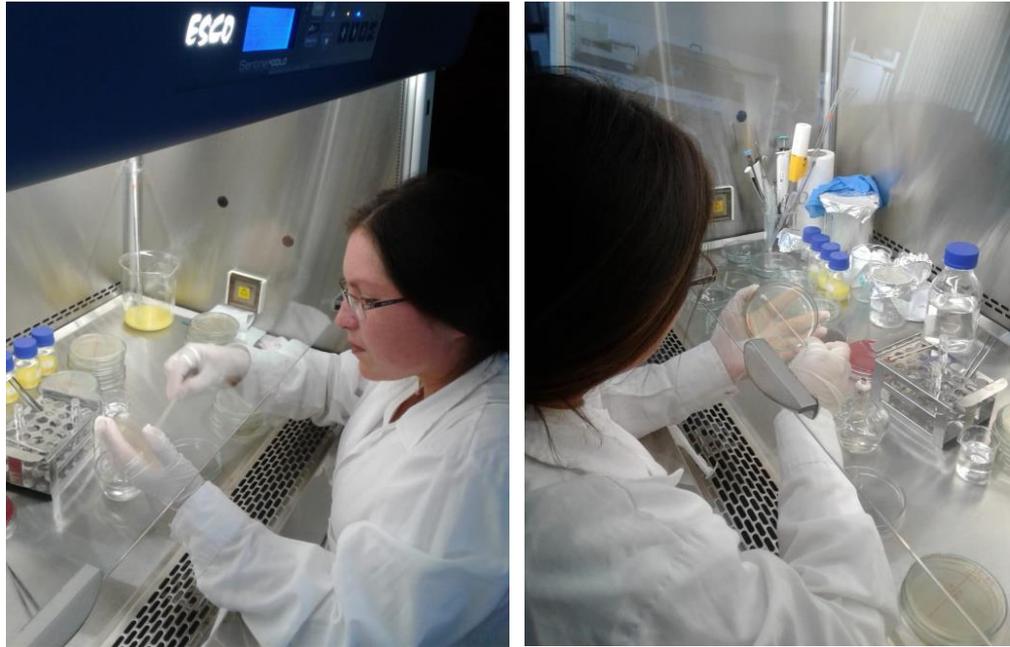


Figura 22. Siembra de bacterias en placas con agar Müller Hinton para evaluar el efecto antibacteriano del extracto de kion.

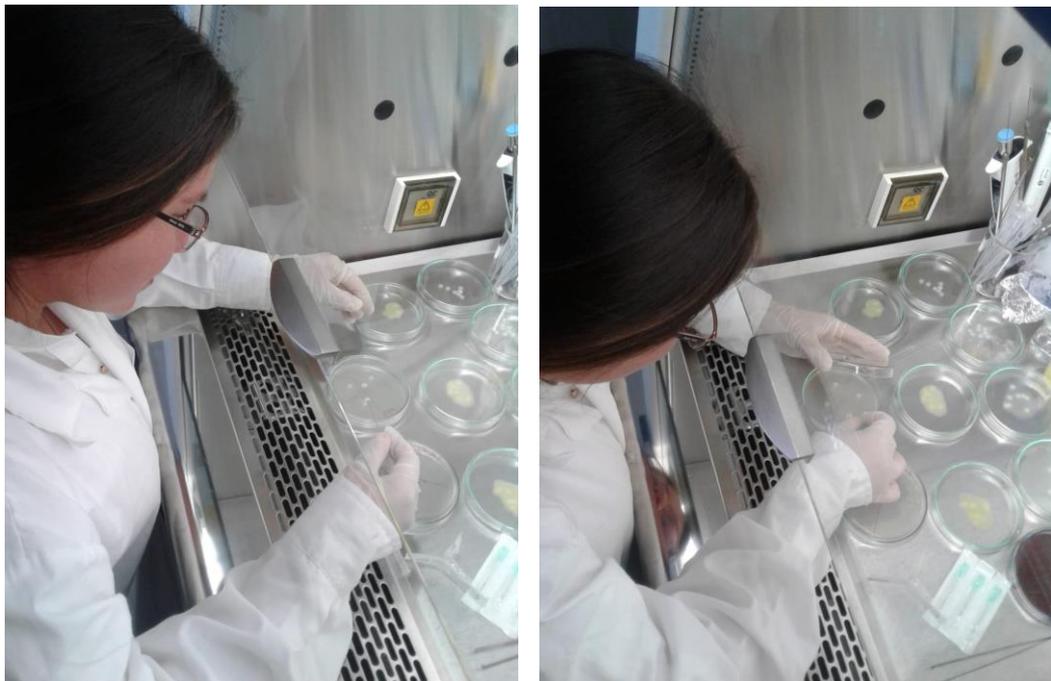


Figura 23. Empapado de los discos de sensibilidad en el contenido del tratamiento correspondiente y colocación del mismo en las respectivas placas Petri con agar Müller Hinton sembradas con las bacterias a evaluar.

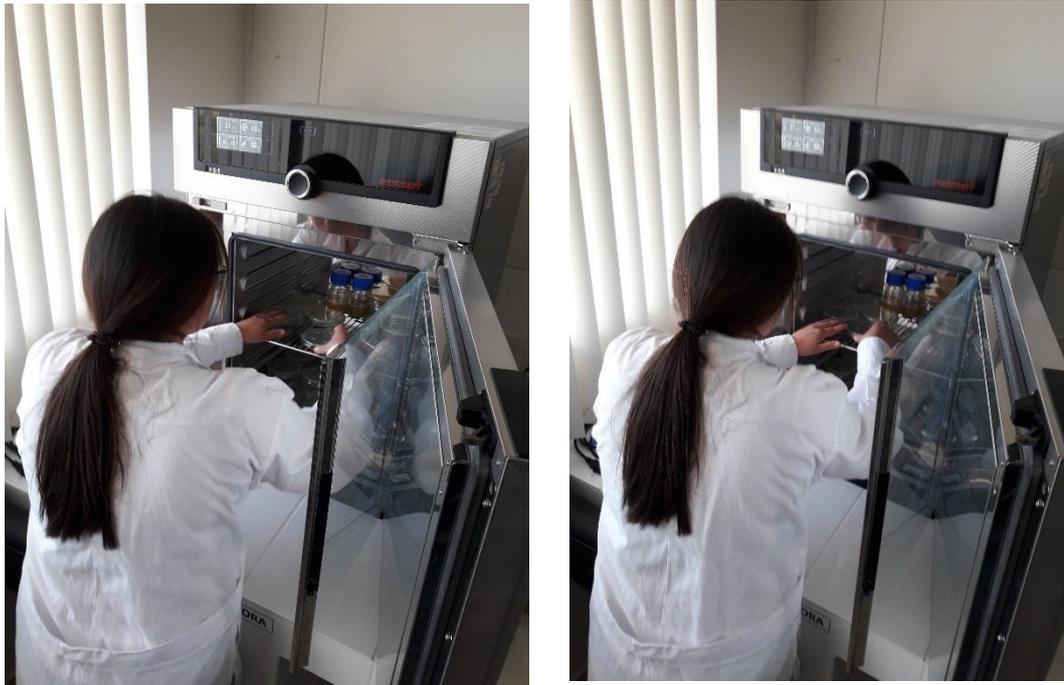


Figura 24. Ubicación de las placas Petri con sus respectivos discos en una incubadora para incubar y luego evaluar el efecto antibacteriano del extracto de kion en sus diferentes porcentajes de concentración.

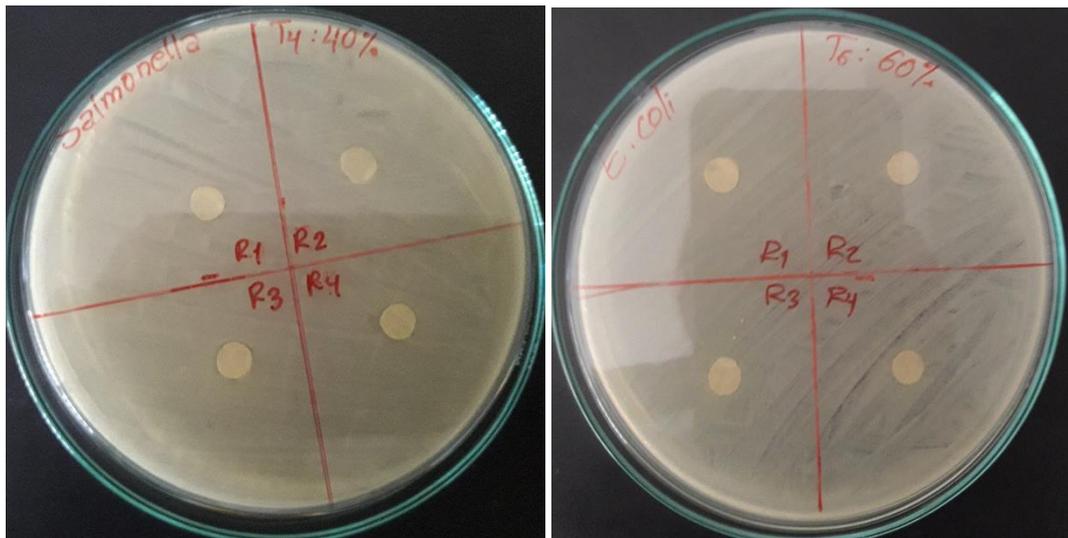


Figura 25. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion (concentración de 40 %: izquierda y concentración de 60 %: derecha) frente a *Escherichia coli*.

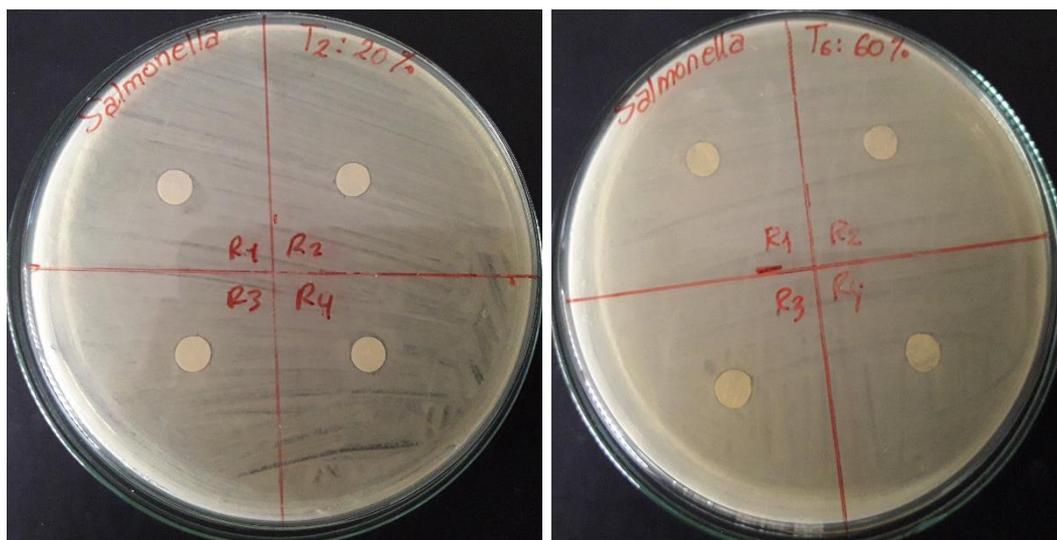


Figura 26. Resultado final sobre la evaluación del efecto antibacteriano del extracto de kion (concentración de 20 %: izquierda y concentración de 60 %: derecha) frente a *Salmonella typhimurium*.