



## **UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR**

**Facultad De Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales Y Del Ambiente**

**Carrera De Medicina Veterinaria**

Tema:

**“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA  
ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) SOBRE *Salmonella entérica* ATCC® 13076™ Y SU  
EFECTO EN EL CRECIMIENTO DE *Lactobacillus spp*”**

Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Médico Veterinario, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria.

Autores:

Ariel Josua Flores Herrera

Neyton Anibal Solano Liscano

Tutor:

Dr. Edison Rivieliño Ramón Curay M.Sc.

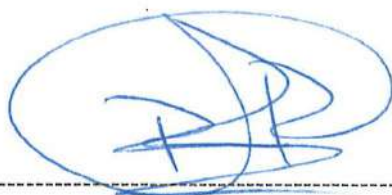
Guaranda – Ecuador

2024

**TEMA:**

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA  
ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) SOBRE *Salmonella entérica* ATCC®  
13076TM Y SU EFECTO EN EL CRECIMIENTO DE *Lactobacillus* spp.

**REVISADO Y APROBADO POR:**



---

DR. EDISON RIVELIÑO RAMÓN CURAY M.Sc.

**TUTOR**



---

DR. FAVIÁN BAYAS MOREJÓN PhD.

**PAR LECTOR**



---

DR. JAGGER SEGURA OCHOA PhD.

**PAR LECTOR**

## CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Yo, Ariel Josua Flores Herrera y Neyton Anibal Solano Liscano con C.I. 0604871152 y 0250134392 respectivamente, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



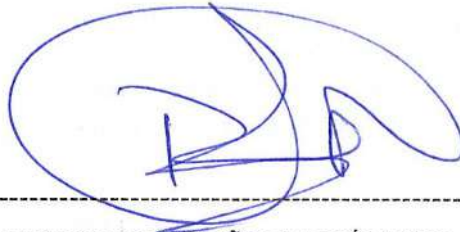
ARIEL JOSUA FLORES HERRERA

**AUTOR**



NEYTON ANIBAL SOLANO LISCANO

**AUTOR**



DR. EDISON RIVELIÑO RAMÓN CURAY M.Sc.

**TUTOR**

Se otorgó ante mi y en fe de ello confiero ésta ~~...Tercera...~~ copia certificada, firmada y sellada en Guaranda, 31 de Mayo del 2024.



20240201002P00759

DECLARACION JURAMENTADA  
OTORGAN: ARIEL JOSUA FLORES HERRERA Y OTRO  
CUANTIA: INDETERMINADA  
DI 2 COPIAS

En la ciudad de Guaranda, provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día viernes treinta y uno de mayo de dos mil veinticuatro, ante mí DOCTOR HERNÁN RAMIRO CRIOLLO ARCOS, NOTARIO SEGUNDO DE ESTE CANTÓN, comparecen los señores: Ariel Josua Flores Herrera, domiciliado en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, y de tránsito por este lugar, con celular número: cero nueve nueve siete nueve cero cinco uno uno cero, correo electrónico: floresariel1b@gmail.com; y, Neyton Anibal Solano Liscano, domiciliado en el cantón Chimbo, provincia Bolívar, y de tránsito por este lugar, con celular número: cero nueve seis ocho dos uno cinco cero uno ocho, correo electrónico: neytonsolano@gmail.com, por sus propios derechos. Los comparecientes son de nacionalidad ecuatoriana, mayores de edad, de estado civil solteros, a quienes de conocerlos doy fe en virtud de haberme exhibido sus cédulas de ciudadanía en base a la que procedo a obtener sus certificados electrónicos de datos de identidad ciudadana, del Registro Civil, mismos que agrego a esta escritura como documentos habilitantes; bien instruidos por mí el Notario en el objeto y resultados de esta escritura de Declaración Juramentada que a celebrarla proceden, libre y voluntariamente.- En efecto juramentado que fueron en legal forma previa las advertencias de la gravedad del juramento, de las penas de perjurio y de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud, declaran lo siguiente: "Que previo a la obtención del Título de Médicos Veterinarios, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, de la carrera de Medicina Veterinaria, manifestamos que los criterios e ideas emitidas en el presente Proyecto de investigación Titulado: "**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) SOBRE *Salomonella entérica ATCC® 13076TM Y SU EFECTO EN EL CRECIMIENTO DE *Lactobacillus spp****", es de nuestra exclusiva responsabilidad en calidad de autores, además autorizamos a la Universidad Estatal de Bolívar hacer uso de todos los contenidos que nos pertenece o parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación. Es todo cuanto tenemos que decir en honor a la verdad". Hasta aquí la declaración juramentada que junto con los documentos anexos y habilitantes que se incorpora queda elevada a escritura pública con todo el valor legal, y que los comparecientes aceptan en todas y cada una de sus partes, para la celebración de la presente escritura se observaron los preceptos y requisitos previstos en la Ley Notarial; y, leída que les fue a los comparecientes por mí el Notario, se ratifican y firman conmigo en unidad de acto quedando incorporada en el Protocolo de esta Notaría, de todo cuanto DOY FE.

  
Ariel Josua Flores Herrera  
C.C. 0604871152

  
Neyton Anibal Solano Liscano  
C.C. 0250134392

  
DR. HERNÁN RAMIRO CRIOLLO ARCOS  
NOTARIO SEGUNDO DE CANTÓN GUARANDA



NOMBRE DEL TRABAJO

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTR  
ACTO ETANÓLICO DE LA ALCACHOFA (   
Cynara scolymus) SOBRE Salmonella e**

AUTOR

**Ariel Josua, Neyton Anibal Flores Herr  
a, Solano Liscano**

RECuento DE PALABRAS

**19973 Words**

RECuento DE CARACTERES

**108469 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**90 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**2.2MB**

FECHA DE ENTREGA

**May 30, 2024 5:04 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**May 30, 2024 5:06 PM GMT-5**

● **6% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- Base de datos de Crossref
- Base de datos de contenido publicado de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Base de datos de Internet
- Base de datos de publicaciones
- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)
- Fuentes excluidas manualmente
- Bloques de texto excluidos manualmente



## **DEDICATORIA**

Es para mí un orgullo poder dedicar este proyecto que con mucho esfuerzo, esmero y trabajo lo he logrado

A mi madre Miriam Herrera y mi padre Geovanny Flores que supieron formar parte de toda mi vida y educarme con los mejores valores, sentimientos y principios, los cuales han sido pilares fundamentales para seguir adelante en momentos difíciles y poder plasmar este sueño, que gracias a su sacrificio y confianza en mí se cumplió.

A mis Abuelos, Amada Chacha y Mesias Herrera, los culpables de que corra por mis venas la pasión, amor y respeto por los animales. Por lo que me llena de entusiasmo poder dedicarles este logro, y así expresarles mediante este gesto, las gracias, el amor y lo mucho que significan en mi vida

A mis Hermanos: Geovanny Flores, Jordania Flores, Alejandro Flores; Abuelos: Olga Vásconez y José Flores, quienes siempre supieron estar presentes en momentos decisivos en mi vida y en mi carrera.

A mi enamorada Lexzy Monar la cual ha sido y será parte cardinal en mi vida universitaria con lo que gracias a su apoyo incondicional logramos dar un paso adelante.

Y por último y no menos importantes a todas mis mascotas que fueron, que son y que serán mi inspiración para lograr todas mis ideas propuestas y por enseñarme el mejor sentimiento que puede llegar a brindar una compañía sincera.

**Ariel Flores**

## **DEDICATORIA**

De la manera más vehemente y respetosa a mis padres Aníbal Edison Solano Gaibor y María Petronila Liscano Mendoza, por haber sido esos cimientos inquebrantables que estuvieron en cada uno de mis pasos, ayudándome en todo lo posible para lograr cada una de esas quimeras que hoy dejaron de ser sueños. Por ese inefable amor que me brindaron, por su esfuerzo, por sus valores y en especial por el ejemplo de jamás rendirse a pesar de las adversidades de la vida. Ustedes se merecen todo, este trabajo es la prueba de la constancia, la perseverancia y el fulgor de la superación.

Para mi padre que, a pesar de hoy no estar junto a mí en este mundo efímero, te dedicó el más profundo agradecimiento con ese inconmensurable amor de un hijo a un padre, el destino es sabio por haberme premiado con un padre como usted.

A mi hermana Jaire Solano Liscano, por haber sido mi luminiscencia en aquellos momentos donde la mente y el espíritu declinan a la incertidumbre.

Dedico a mi abuelita Flor María Gaibor Vargas, que a pesar de que ya no está a mi lado, fue parte fundamental en aquellas enseñanzas que son perennes y necesarias para que las semillas crezcan.

**Neyton Solano Liscano**

## **AGRADECIMIENTO**

De manera notable agradecemos a todas aquellas personas que fueron vitales durante este periodo, familiares, amigos, conocidos y compañeros etc., a quienes siempre será un honor recordarles con un profundo respeto y admiración por la ayuda brindada en este proyecto

De la manera más respetuosa gratificamos a todos los docentes, pasantes, laboratoristas, etc. Quienes fueron, son y serán verdaderos educadores a lo largo de este camino trabajoso, a los que no dudaron en compartir su conocimiento a sus discípulos. Aquellos Instructores que supieron ser amigos, cabe resaltar sus cualidades entre las más importantes su inteligencia, su honestidad, su bondad.

Para ellos reiteramos la mayor gratitud, no es necesario decir sus nombres porque sus actos viven en la memoria de sus gratos alumnos y así seguir formando mejores profesionales de esta noble institución.

## TABLA DE CONTENIDO

CONTENIDO	PAG.
CAPÍTULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivo específico	4
1.4. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II.	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. <i>Salmonella</i> spp	6
2.1.1. Reservorios	6
2.1.2. Clasificación de <i>salmonellas</i> spp	6
2.1.3. Patogenia y patogenicidad	7
2.1.4. Colonización del tracto intestinal y enfermedad entérica	8
2.1.5. Diagnóstico de laboratorio	11
2.2. <i>Lactobacillus</i> spp.	15
2.2.1. Clasificación taxonómica	15
2.2.2. Beneficios de los <i>lactobacillus</i>	17
2.3. Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana (RAM)	19
2.4. Fitoterapia	21
2.5. Extractos vegetales	22
2.5.1. Aceites esenciales	22
2.5.2. Actividad antimicrobiana de los extractos vegetales	22

2.6.	Alcachofa ( <i>Cynara scolymus</i> )	23
2.6.1.	Historia	23
2.6.2.	Descripción	24
2.6.3.	Taxonomía	24
2.6.4.	Principios medicinales de la alcachofa	24
	CAPÍTULO III.	27
3.	MARCO METODOLOGÍCO	27
3.1.	Ubicación de la investigación	27
•	Localización de la investigación	27
•	Situación geográfica y edafoclimática.	27
•	Zona de vida	27
3.2.	Metodología	28
3.2.1.	Material en estudio	28
3.2.2.	Factores en estudio	28
3.2.3.	Tratamientos	28
3.2.4.	Tipo de diseño experimental o estadístico	30
3.2.5.	Manejo de la investigación	30
3.2.6.	Métodos de evaluación (variables respuesta)	34
3.2.7.	Análisis de datos	35
	CAPITULO IV	36
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.	36
4.1.	Análisis de varianza de la susceptibilidad antimicrobiana	36
4.1.1.	Análisis de la escala de sensibilidad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa ( <i>Cynara scolymus</i> ) frente a <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076.	38

4.1.2. Análisis de sensibilidad antimicrobiana de <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076 frente a Enrofloxacina.	39
4.1.3. Porcentaje inhibitorio relativo de los tratamientos propuestos frente a <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076.	40
4.1.4. Análisis estadístico de la cinética de crecimiento de <i>Lactobacillus</i> sp mediante la suplementación con extracto etanólico.	41
4.1.5. Cinética de crecimiento de <i>Lactobacillus</i> sp, suplementado con diferentes concentraciones de extracto etanólico de alcachofa. <b>¡Error! Marcador no definido.</b>	
4.1.6. Estudio de los compuestos volátiles del extracto etanólico de alcachofa mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas..	46
4.2. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS	50
CAPÍTULO V.	51
5.1. CONCLUSIONES	51
5.2. RECOMENDACIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

Nº	Detalle	Pag.
1.	Taxonomía de la alcachofa.	24
2.	Tratamientos en estudio de la interacción de los factores A x B.	28
3.	Tratamientos en estudio de la interacción de los factores A x C.	29
4.	Características numéricas del diseño.	29
5.	Tabla de ANOVA de la interacción de dos factores.	30
6.	Escala de sensibilidad propuesta por Duraffourd <i>et al</i> (1987) para un fitofármaco mediante la técnica de difusión de disco	32
7.	Criterios interpretativos y puntos de interrupción del diámetro de zona (mm) de inhibición establecida por el CLSI para <i>Salmonella</i> spp frente a fluoroquinolonas.	32
8.	Análisis de varianza de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa frente a <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076...	36
9.	Comparación de los promedios de los tratamientos en estudio.	36
10.	Análisis de susceptibilidad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa frente a <i>S. entérica</i> ATCC 13076.	38
11.	Resultados del antibiograma de <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076 subsp. entérica serovar <i>Enteritidis</i> , frente a Enrofloxacin de 5µg .	39
12.	Resultado del porcentaje inhibitorio de los tratamientos planteados frente a <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076.	40
13.	Análisis estadísticos de la absorbancia de los tratamientos sobre la cinética de crecimiento de <i>Lactobacillus</i> sp mediante espectroscopia..	41
14.	Resultados del análisis de cromatografía de gases con espectrometría de masa (GC-MS) de los compuestos volátiles del extracto etanólico de la alcachofa ( <i>Cynara scolymus</i> ) macerado por 72 horas.	47

## ÍNDICE DE TABLA

Nº	Detalle	Pag.
1.	Árbol filogenético del genoma central de lactobacillaceae..	16
2.	Diagrama de cajas y bigotes del antibiograma del del extracto etanólico de la alcachofa frente a <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076.	37
3.	Porcentaje inhibitorio de los extractos etanólicos de la alcachofa frente a <i>Salmonella entérica</i> ATCC 13076.	41
4.	Cinética de crecimiento de <i>Lactobacillus</i> sp., suplementado con el extracto etanólico de alcachofa en el medio de cultivo..	44
5.	Cromatograma de los compuestos volátiles del extracto etanólico de la alcachofa mediante cromatografía de gases- espectrometría de masa (GC-MS)	46
6.	Porcentaje de los compuestos volátiles de mayor área del extracto etanólico de la alcachofa ( <i>Cynara scolymus</i> ) macerado por 72 horas.	47

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Nº</b>	<b>Detalle</b>
1.	Mapa de ubicación de la investigación
2.	Resultado de la cromatografía
3.	Base de datos
4.	Fotografías de la investigación
5.	Glosario de términos

## RESUMEN

La *Salmonella entérica* es una enterobacteria infectocontagiosa que posee una rápida propagación, esto propicia la diseminación de genes relacionados a la resistencia a los antimicrobianos (RAM). El objetivo de la presente investigación fue determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) sobre *Salmonella entérica* y su efecto en el crecimiento de *Lactobacillus* spp. Metodológicamente se evaluó la actividad antimicrobiana mediante la técnica de difusión de disco a concentraciones del 100% (T1), 50% (T2) y del 30% (T3), además de un testigo positivo a base de 5µg de enrofloxacin (T0) y un testigo negativo con un disco impregnado de cloruro de sodio (T4). Para evaluar el efecto sobre la cinética de crecimiento de *Lactobacillus* spp., se suplementó caldo de cultivo con el extracto en estudio a las concentraciones de 1% (T1), 5% (T2), 10% (T3), 15% (T4), 20% (T5), y un testigo (T0), midiendo cada 2 horas el porcentaje de absorbancia mediante espectrofotometría, como parte final se analizaron los compuestos volátiles que posee el extracto etanólico de la alcachofa macerado por 72 horas mediante GC-MS. Los resultados demostraron que existió diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.01$ ) entre las diferentes concentraciones del extracto en la actividad antimicrobiana sobre *Salmonella entérica*, ya que se evidenciaron valores de halos de inhibición  $> 8$  mm, sin embargo, solo la concentración del 100% posee una alta actividad antibacteriana reflejada por la estimación del porcentaje inhibitorio relativo, en el caso de la cinética de crecimiento de *Lactobacillus* spp., se evidenció diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.01$ ) entre los tratamientos, demostrando que la suplementación con nuestro extracto aceleró el crecimiento de dicha bacteria, impactando en la fase exponencial, sin embargo, las concentraciones del 15% y 20% propiciaron mayor absorbancia, lo que se correlacionó con mayor población bacteriana, en el caso de la GC-MS se comprobó que el extracto etanólico es rico en ácidos grasos de cadena larga, así como flavonoides y terpenos, a los que se les atribuye la actividad antimicrobiana y beneficia el crecimiento bacteria de *Lactobacillus*. Concluyendo que el extracto etanólico de la alcachofa puede ser una valiosa alternativa para mitigar la resistencia antimicrobiana o a las disbiosis bacterianas de tipo entérico.

**Palabra Claves:** Alcachofa, Antibiograma, Cinética de Crecimiento, GC-MS.

### SUMMARY

*Salmonella enterica* is an infectious enterobacterium that spreads rapidly, which favors the dissemination of genes related to AMR. Therefore, the objective of this research is to determine the antimicrobial activity of the ethanolic extract of artichoke (*Cynara scolymus*) on *Salmonella enterica* and its effect on the growth of *Lactobacillus* spp. Methodologically, the antimicrobial activity was evaluated using the disc diffusion technique at concentrations of 100% (T1), 50% (T2) and 30% (T3), in addition to a positive control based on 5µg enrofloxacin (T0) and a negative control with a disc impregnated with sodium chloride (T4). To evaluate the effect on the growth kinetics of *Lactobacillus* spp, the culture broth was supplemented with the extract under study at concentrations of 1% (T1), 5% (T2), 10% (T3), 15% (T4), 20% (T5), and a control (T0), measuring at intervals of every 2 hours the percentage of absorbance by spectrophotometry, as a final part, the volatile compounds in the ethanolic extract of artichoke macerated for 72 hours were analyzed by GC-MS. The results showed that there were significant statistical differences ( $p < 0.01$ ) between the different concentrations of the extract in the antimicrobial activity on *Salmonella enterica*, since there were values of inhibition halos  $> 8$  mm, however, only the 100% concentration has a high antibacterial activity reflected by the estimate of the relative inhibitory percentage, in the case of the growth kinetics of *Lactobacillus* spp, significant statistical differences were evidenced ( $p < 0.01$ ) between treatments, demonstrating that the supplementation of the culture medium with our extract accelerated the growth of the bacteria, impacting the exponential phase, however, the concentrations of 15% and 20% led to higher absorbance, which correlates with higher bacterial population, in the case of GC-MS it was found that the ethanolic extract is rich in long chain fatty acids, as well as flavonoids and terpenes, which are attributed with antimicrobial activity and benefits the bacterial growth of *Lactobacillus*. It is concluded that the ethanolic extract of artichoke can be a valuable alternative to mitigate antimicrobial resistance or enteric bacterial dysbiosis.

**Keyword:** Artichoke, Antibiogram, Growth Kinetics, GC-MS.



## **CAPÍTULO I**

### **1.1. INTRODUCCIÓN**

La salud pública a nivel mundial se ha visto amenazada debido al aumento en los índices de resistencia antimicrobiana en microorganismos bacterianos, ya que en el tratamiento de enfermedades infecciosas los agentes farmacológicos de mayor uso son los antimicrobianos, esto bajo condiciones y lineamientos de uso que manifiestan el intervalo de dosis y el tiempo de empleo, estos antecedentes impulsan a la aparición de mecanismos de resistencia (Kewalramani & Chandi, 2021).

Los países de la Unión Europea como medidas de control para disminuir la generación de resistencias antimicrobiana por parte de los microorganismos infectocontagiosos prohibieron el uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento en animales de producción zootécnica, ya que el empleo de estos atribuía efectos beneficiosos como aumento de la absorción de nutrientes a nivel intestinal, disminución de la población bacterianas patógenas y maximización del metabolismo del animal (El-Hack *et al.*, 2021).

Medina *et al.* (2021) mencionan que la resistencia a los antimicrobianos en Latinoamérica está determinada por diversos factores, reconociéndose que el transporte de animales o la transferencia de determinantes bacterianas es el principal involucrado para la diseminación y aumento de la resistencia a los antimicrobianos, incluyendo el agua, el suelo y la agricultura, como factores involucrados de carácter ambiental que predominan para el aumento de este índice.

El Ecuador es un país de ingresos bajos a medianos, en donde en la práctica médica tanto humana como animal no se observa una regularización de la administración de antimicrobianos, esto debido a que no se auditan los protocolos antimicrobianos en base a las estrategias propuestas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), disminuyendo la tasa de curación de enfermedades bacterianas y aumentando la resistencia a los antimicrobianos de la población bacterianas en el país (Romo & Pazin, 2022).

Existe una necesidad urgente de descubrir nuevos compuestos o extractos antimicrobianos para abordar el problema crucial del aumento de la resistencia

microbiana contra los antibióticos actuales. La biodiversidad química vegetal es un recurso potencial valioso. Aunque los compuestos de las plantas se utilizan como base para varios medicamentos, aún no se ha descubierto ningún antibiótico comercialmente exitoso de las plantas, a pesar de más de mil publicaciones en este campo por año (Eloff, 2019).

La alcachofa (*Cynara scolymus*) es rica en principios bioactivos que le otorgan múltiples actividad farmacéuticas, incluidos flavonoides, ácidos fenólicos, derivados del ácido hidroxicinámico y lignanos de amplio espectro de aplicaciones médicas, adicionalmente es utilizada por sus propiedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas, inclusive en la microbiología se lo utiliza como un prebiótico (Ali *et al.*, 2021).

## 1.2. PROBLEMA

El uso irracional de los antibióticos comúnmente disponibles en los sectores de la salud humana, la higiene, la agricultura, la ganadería y la producción de alimentos es uno de los principales factores que conducen a la aparición y propagación de la resistencia antimicrobiana, Zumbado (2022) menciona que se prevé que las muertes a causa de las infecciones por resistencia antimicrobiana en todo el mundo alcancen los 10 millones para 2050, además de dejar una tremenda pérdida económica, si no se hace nada sustancial para contener la resistencia antimicrobiana y su etiología.

En Latinoamérica, el uso de antibióticos tanto en la medicina humana como veterinaria está poco regulado, los antibióticos están fácilmente disponibles para su obtención sin exigencia de receta médica. Existen determinados entornos que pueden ser una ecoesfera importante para la diseminación de enfermedades infecciosas de origen bacteriano que puede resultar incurables debido a la resistencia antimicrobiana de los agentes causales.

La acumulación de residuos de antibióticos en el ambiente, así como la presencia de bacterias resistentes o genes de resistencia a estos compuestos, puede resultar en una fuente potencial para la aparición de nuevas bacterias multirresistentes que vinculan el aumento de morbilidad y mortalidad en distintas especies animales, además, estas infecciones aumentan significativamente los costos del tratamiento, algunos de los microbios resistentes a los medicamentos más amenazantes son; *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, etc.

Algunas bacterias como la *Salmonella* spp., para sobrevivir al mecanismo de acción de los antibióticos han desarrollado diversos mecanismos de resistencia como: 1) cuando el antibiótico entra a la bacteria ésta lo expulsa antes de que ejerza algún efecto; 2) el antibiótico entra pero la bacteria lo modifica o lo destruye con sus enzimas; 3) la bacteria modifica el sitio de unión del antibiótico, por lo que no puede actuar y 4) se presenta una modificación en la permeabilidad de la membrana bacteriana.

Una posible solución a la problemática de la resistencia es la búsqueda de nuevos antimicrobianos tanto de fuentes convencionales como de fuentes no convencionales.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) sobre *Salmonella entérica* ATCC® 13076<sup>TM</sup> y su efecto en el crecimiento de *Lactobacillus* spp

#### **1.3.2. Objetivo específico**

Obtener el extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*).

Realizar procedimiento de reanimación de *Salmonella entérica* ATCC® 13076<sup>TM</sup> y *Lactobacillus* spp.

Establecer la actividad antimicrobiana in vitro mediante la técnica de Kirby-Bauer del extracto etanólico de la alcachofa sobre *Salmonella entérica* ATCC® 13076<sup>TM</sup>

Medir el crecimiento de *Lactobacillus* spp. mediante la adición del extracto etanólico de la alcachofa a distintas concentraciones.

Realizar el ensayo de cromatografía del extracto etanólico de la alcachofa

#### **1.4. HIPÓTESIS**

**HO:** No existe actividad antimicrobiana del extracto etanólico de alcachofa sobre *Salmonella entérica* ATCC® 13076<sup>TM</sup> con halos > 8 mm y su efecto no favorece en el crecimiento del *Lactobacillus* spp.

**HI:** Existe actividad antimicrobiana del extracto etanólico de alcachofa sobre *Salmonella entérica* ATCC® 13076<sup>TM</sup> con halos > 8 mm y su efecto favorece en el crecimiento del *Lactobacillus* spp.

## **CAPÍTULO II.**

### **2. MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. *Salmonella* spp**

Las enterobacterias son un grupo de microbios considerablemente importante desde el punto de vista clínico, dentro del cual se encuentran las especies de *Salmonella*, siendo reconocidas como las de mayor relevancia a *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*, por su potencial zoonótico, además algunas especies son móviles y otras no, son considerados anaerobios facultativos cuyas características microscópicas las identifican como bacilos Gram negativos (Knodler & Elfenbein, 2019).

##### **2.1.1. Reservorios**

Este microorganismo es reconocido como perteneciente a la flora saprofita de los mesófilos que habitan los intestinos tanto de animales como de humanos, se considera inofensiva hasta cuando ocurre una disbiosis en la microbiota del huésped, lo que ocasiona un cuadro de gastroenteritis de gravedad variable, la resistencia de esta bacteria de igual forma es variable y dependerá de las características individuales de la especie, pudiendo provocar cuadros clínicos como subclínicos, además posee una gran capacidad de sobrevivir en diversos nichos durante al menos nueve meses o inclusive más en el medio ambiente como el suelo, agua, materia orgánica de origen fecal, alimentos contaminados, materias primas altamente degradables como piensos, harinas de sangre, pescado y huesos, etc. Aunque existen casos especiales en donde los vectores suelen comportarse como reservorios de este patógeno (Walch *et al.*, 2021).

##### **2.1.2. Clasificación de *salmonellas* spp**

Existen 6 subespecies de *Salmonella entérica* identificadas, dentro de las cuales están; *S. entérica*, subsp. *salamae*, subsp. *arizonae*, subsp. *diarizonae*, subsp. *houtenae* y subsp. *Índica*, considerando que *Salmonella entérica* subespecie *entérica* a su vez se puede dividir en serovares con diferencias patogénicas únicas y con diferenciación entre sus factores de virulencia y la respuesta que provocan en el huésped (Lamas *et al.*, 2018).

La serotipificación de este microorganismo se fundamenta en la presencia y caracterización de los diversos antígenos encontrados en diferentes estructuras microbianas, teniendo en cuenta que la mayoría de estos poseen el antígeno termoestable O, así como ciertas endotoxinas altamente inmunógenas como los LPS que se encuentran en la membrana externa de la bacteria, incluyendo también proteínas del flagelo o también denominado antígeno H termolábil, dentro de este procedimiento la enterobacteria en cuestión también posee el antígeno polisacáridos capsulares denominado Vi termolábil, sin embargo, la serotipificación antigénica cada vez está siendo más descontinuada y resulta ser menos sensible frente a la identificación molecular y secuenciación de ácidos nucleicos (Ferrari *et al.*, 2019).

A comparación de los análisis moleculares, La serotipificación de *Salmonella* resulta sumamente eficiente y rápida para la identificación específica de algunos serotipos como *Salmonella Typhi*, asociada a los cuadros patológicos más graves, que clínicamente se denomina fiebre tifoidea, cuyos síntomas variarán en dependencia de la respuesta del huésped, incluyendo desde dolores de cabeza, abdomen agudo, hipertermia de 40°C, erupciones cutáneas, desorientación espacial, etc. Siendo estos signos y síntomas observables tanto en humanos como en animales (García *et al.*, 2019).

Además, la serotipificación permite el reconocimiento y caracterización de un segundo serotipo clínicamente importante de esta especie bacteriana, la cual es *Salmonella enteritidis* la cual suele ser comúnmente encontrada en alimentos contaminados para consumo de animales y humanos, y es responsable de gran parte de los casos de gastroenteritis, y en casos crónicos inclusive la infección puede extrapolarse de forma sistémica, como sepsis, peritonitis, osteomielitis, itu, etc., los principales signos y síntomas de mayor percepción son la fiebre, diarrea, dolor abdominal, etc. (García *et al.*, 2019).

### **2.1.3. Patogenia y patogenicidad**

La patogenia de la salmonelosis, en la mayoría de los casos depende estrictamente de la subespecie y del huésped, aunque también existe influencia de los factores de virulencia propios de cada especie bacteriana, así como la respuesta inmune del

huésped como, por ejemplo, *S. Typhi* suele provocar enfermedad gastroentérica en humanos, *S. Choleraesuis* en cerdos, cronificándose siempre que exista un compromiso inmunológico, en el ganado vacuno *S. Dublin* tiene la capacidad de causar gastroenteritis hemorrágica en rumiantes jóvenes, enteritis en adultos incluyendo mastitis en hembras lactantes inmunodeficientes (Quesada *et al.*, 2016).

Dependiendo de la agudeza del caso, y la translocación de la infección a nivel sistémico, puede ocurrir desde abortos en animales preñados, así como enteritis de tipo hemorrágica en animales jóvenes en un amplio abanico de especies, incluyendo el humano, la transmisión de esta enteropatía infecciosa se da por vía fecal-oral, sin embargo, la adquisición de la enfermedad también puede deberse a través de las membranas mucosas o vías respiratorias superiores (Peña *et al.*, 2014).

#### **2.1.4. Colonización del tracto intestinal y enfermedad entérica**

Para que ocurra la enfermedad entérica deben suceder una serie de acontecimientos de forma consecutiva, considerando que *Salmonella* spp. deben llegar colonizar el intestino delgado distal o la porción proximal del colon, siempre y cuando la disbiosis ocasione una disminución considerable de la población de bacterias ácido-lácticas profilácticas consideradas habitantes normales en esta parte del tracto gastrointestinal, además de que esto propicia a una mayor disponibilidad de los sitios de unión en el epitelio intestinal para los microorganismos patógenos provocando así una respuesta de tipo inflamatorio en el huésped que desencadena una cascada de acontecimientos que provocan los signos y síntomas antes mencionados (Velasco *et al.*, 2019).

Existen una serie de factores que contribuyen para el desarrollo de salmonelosis, así como también influyen para aumentar la susceptibilidad del huésped a la patogenia de la bacteria en cuestión, entre estos se destacan la terapia mal con agentes antibióticos, dieta que no cumple con los requerimientos nutricionales mínimos para mantener la homeostasis, estrés oxidativo, disminución del peristaltismo, disminución en el consumo de agua, inmunodeficiencia, alimentos contaminados, etc., en conjunto contribuyen para que *Salmonella* spp. se una de preferentemente a los folículos linfáticos del epitelio intestinal o a células epiteliales aisladas en el lumen del epitelio intestinal (Costa *et al.*, 2021).

En el intestino delgado existen porciones de tejido epitelial adyacente que recubren las placas de Peyer las cuales están recubiertas por folículos especializados, los cuales son un área susceptible para la difusión de *Salmonella* spp. hacia los enterocitos y células de la cripta, donde inicia la interacción patogénica (Velasco *et al.*, 2019).

Los principales factores de virulencia que desencadena *Salmonella* spp. son las adhesinas fimbriales las cuales actúan como mediadores primordiales entre el contacto de este patógeno con los enterocitos y las células de las criptas intestinales, este es el primer paso para el reconocimiento del patógeno por parte de las células inmunitarias locales, lo que desencadena una respuesta de tipo inflamatorio, que a su vez origina los signos patognomónicos de salmonelosis, incluyendo signos sistémicos (Velasco *et al.*, 2019).

La transgresión del epitelio intestinal inicia tras la adhesión de la bacteria a este, sin embargo, este proceso patológico solamente se limita de forma local en el intestino grueso o en la porción distal del intestino delgado, las cepas mas virulentas son aquellas que por su conjugación y transcripción de genes de virulencia logran una infección mas sistémica cuya capacidad es denominada islas de patogenicidad de *Salmonella* spp. hasta la fecha se han logrado identificar 17 diferentes islas de patogenicidad, sin embargo, su papel en el desarrollo de la enfermedad gastroentérica aún no está definido exactamente. Siendo reconocido que los genes SPI1 son los principales involucrados en la invasión del tracto digestivo, resistencia a los mecanismos defensivos del huésped y el establecimiento de la infección en el epitelio y los tejidos linfoides del intestino, en tanto que los genes SPI2 se encuentran vinculados para evadir las defensas celulares y originar la fase patogénica de tipo sistémica de la infección (Lustosa *et al.*, 2021).

Las células epiteliales poseen un sistema secretor de tipo II, el cual actúa de forma especializada en la secreción de proteínas permitiendo así que ciertas proteínas efectoras bacterianas sean translocadas en respuesta al contacto con los aparatos fimbriales de las bacterias. A nivel celular esto provoca un arrugamiento de la membrana que es acompañada de la endocitosis, activación de factores de transcripción e internalización de estas bacterias, donde se replican en las vesículas

mientras se traslada hasta la porción basal y luego hacia la lamina propia debajo del epitelio cilíndrico (Bilbao *et al.*, 2019).

La patogénesis se ve inducida por la liberación de quimiocinas proinflamatorias y prostaglandinas por parte de las células epiteliales que se encuentran invadidas por *Salmonella*, las cuales dan la señalización para la migración de polimorfonucleares hacia el foco de la infección, al mismo tiempo *Salmonella* libera ciertos factores de virulencia que les permiten inhibir la respuesta inmunitaria del huésped lo que exagera su patogenia y provoca una masiva migración de neutrófilos hacia el epitelio intestinal (Carvajal *et al.*, 2019).

Las células inmunitarias de tipo polimorfonuclear, específicamente los neutrófilos son los que se vinculan en mayor medida ante una activación y señalización antigénica por parte de *Salmonell* spp., este tipo de células juegan un papel importante en la patogénesis de la diarrea inducida por dicha bacteria, sin embargo, se debe tener en cuenta que esta interacción está mediada por el LPS (endotoxina), el que exagera la inflamación y contribuye a la evasión de la respuesta de los neutrófilos (Carvajal *et al.*, 2019).

La fagocitosis ocurre de forma más activa en la lámina propia del intestino, desempeñando dicho proceso los neutrófilos y los macrófagos, cuyos productos de la fagocitosis como los radicales libres y sustancias toxicas pueden ocasionar efectos oxidativos, sin embargo, se ven minimizados por efecto de la catalasa bacteriana y la superóxido dismutasa, lo que reduce al mínimo el impacto de la respuesta de las células mencionadas (Serrano *et al.*, 2022).

De forma más sistémica las cepas de *Salmonell* spp., suelen regionalizarse en los ganglios linfáticos locales y placas de peyer, donde se internalizan en los macrófagos residentes, los cuales mantienen limitada al tubo digestivo la infección, solamente aquellas cepas que logran resistir el procesos de lisis fagocitaria suelen migrar hacia otros órganos como el hígado y el bazo donde invaden a los macrófagos de dichos órganos y los circulantes lo que propicia a la generalización de la infección y al desencadenamiento de la sepsis. (Mejía *et al.*, 2019).

La invasión intracelular de ciertos tipos de células inmunitarias por parte de *Salmonell* spp., es prescindible para evadir la respuesta multimodal del huésped, lo

que facilita la diseminación hacia otros tejidos, en este vínculo se encuentra enlazado ciertos genes que codifican la función de algunos factores de virulencia como el caso del gen SP12 el cual codifica la función de un TTSS que le permite a esta bacteria ser imperceptible por parte de las células inmunitarias invadidas contribuyendo así en la patogénesis intracelular y provocando una autólisis de la célula invadida, tras la replicación de una proteína de virulencia (Mejía *et al.*, 2019).

A nivel de los nódulos linfáticos mesentéricos se encuentra la mayor cantidad de conglomerados bacterianos, antes de que ocurra la generalización de la bacteria y la sepsis como tal, esta bacteria cuando se establece de forma sistémica ocasiona que exista una eliminación del hierro por parte de las proteínas de unión al hierro en el huésped ocasionando así una reducción en la biodisponibilidad de este elemento requerido para potencializar la respuesta inmune del portador así como entre otros procesos fisiológicos relevantes (Mejía *et al.*, 2019).

Tras la inhibición de la respuesta inmunológica de huésped ocurre la cronificación del cuadro endotoxémico con una variabilidad patogénica dependiente de algunos serotipos que son comúnmente más invasivos que otros, por ejemplo, en cuadros sépticos las especies mayormente reconocidas son *S. Typhi*, *S. Dublin* y *S. Typhimurium*

### **2.1.5. Diagnóstico de laboratorio**

#### **2.1.5.1. Aislamiento**

Dentro de los procesos microbiológicos de rutina para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp., debemos saber que las especies asociadas a cerdos y aves son mucho más exigentes que la colectividad de otros serotipos, incluyendo los zoonóticos, y es importante tomar en consideración que estas cepas exigentes no toleran de forma adecuada el caldo selenita, o también el caldo con tetrionato, lo cual puede ser un orientativo para el aislamiento inicial y la presuntiva identificación de la cepa, sin embargo, en el agar verde brillante se puede obtener un patrón de crecimiento estable de *S. Choleraesuis* siempre y cuando se trate del medio modificado que permita su crecimiento y reconocimiento (Ramírez *et al.*, 2019).

#### 2.1.5.1.1. Muestras de agua, ambientales y de alimentos

Al tratarse de un microorganismo altamente contaminante, puede encontrarse contaminando agua, materias primas utilizadas para la elaboración de los alimentos que consumen tanto animales como humanos. Para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp., de forma rutinaria se utiliza medios selectivos y diferenciales, como el Agar MacConkey el cual permite diferenciar a esta especie bacteriana debido a su incapacidad de fermentar la lactosa presente en este medio de cultivo, además se puede utilizar Rappaport-Vassiliadis, SS Agar, XLD Agarm etc., siguiendo las recomendaciones e instructivo de los fabricantes de los medios de cultivo y respetando los procesos de incubación de 18 a 24 horas. La temperatura de pre-enriquecimiento debe oscilar entre 35 °C y 37 °C, que es la temperatura óptima de crecimiento de *Salmonella* spp (Jaimes *et al.*, 2022).

- **Muestras de agua.** Esta bacteria puede contaminar afluentes de agua y reservorios destinados al consumo de animales y humanos, para lo cual se realiza su aislamiento e identificación a partir de muestras de agua, inicialmente se debe enriquecer la muestra de agua agregando 100mL de agua presuntamente contaminada en una cantidad de caldo peptonado a una doble concentración, este se debe incubar por 48 horas y subsembrar en medios sólidos específicos y diferenciales, si existe un considerable grado de turbidez en la muestra de agua, se deberá tamizar en una micromembrana estéril con un poro de 0.45 $\mu$  de diámetro, y esta membrana se colocará en un medio de cultivo sólido e incubará por 24 horas a 37°C, este análisis permite realizar el conteo de UFC/cd 100mL de muestra de agua (Montoya *et al.*, 2022).

- **Muestras de alimentos:** son altas las probabilidades de que las materias primas y los alimentos procesados se encuentren contaminados también por este microorganismo, el diagnóstico oportuno de *Salmonella* spp., puede ser realizado de manera rápida utilizando el agar verde brillante o medio XLD, considerando que se debe tomar 1 gramo de alimento y colocar en 9mL de caldo enriquecido con sales biliares, y cloruro de sodio para inhibir el crecimiento de flora acompañante, luego se subcultiva en los medios de cultivo diferenciales y específicos antes mencionados, en muchos países es posible que se requiera el cumplimiento obligatorio de ciertos protocolos estandarizados (Borges & Weber, 2022).

## **2.1.5.2. Identificación**

### **2.1.5.2.1. Morfología colonial en medios selectivos/indicadores**

Las características metabólicas de la *Salmonella* spp., permite diferenciarla de otras enterobacterias, esta especie bacteriana al no ser fermentadora de la lactosa en el Agar MacConkey, se originan colonias pequeñas, circulares, de color ámbar pálido, que no suelen cambiar de apariencia el medio de cultivo, sin embargo, los estudios moleculares han definido que *S. Typhimurium* y *S. entérica* subespecie *arizonae* tienen capacidad fermentativa de la lactosa, lo que originaría variaciones en los medios donde dicho carbohidrato es la principal fuente de carbono (Diep *et al.*, 2019).

Las variaciones en los otros medios de cultivo dependerán de los componentes que cada medio de cultivo contenga, y las reacciones y metabolitos secundarios producto de la nutrición microbiana, por ejemplo, en el agar verde brillante las colonias de *Salmonella* spp se observan de una coloración roja, así mismo en el agar XLD, gran parte de las especies de *Salmonella* como producto de su nutrición producen sulfuro de hidrógeno, el cual reacción y origina colonias negruzcas con un centro oscuro. Así mismo en la prueba de identificación de utilización de carbohidratos, con la fermentación de 3 azúcares denominado como triple sugar iron, donde se observa una reacción mixta con evidencia de un pico de flauta rojo (alcalino), porción media amarilla (ácida) y en ocasiones la producción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) (Diep *et al.*, 2019).

### **2.1.5.2.2. Serotipificación de *Salmonella***

La serotipificación es un procedimiento microbiológico que permite discernir entre los tipos de salmonelas en función a las estructuras y sustancias antigénicas que poseen, para este procedimiento se debe tener en cuenta un cultivo previo en agar inclinado o nutriagar, ya que los medios selectivos y diferenciales no suelen categorizarse como óptimos para la tipificación (Borges & Weber, 2022).

Los principales antígenos reconocidos en la serotipificación de *Salmonella* spp., son; el antígeno O somático, H flagelar, los que se identifican, en función al grado de aglutinación, aunque algunas cepas como *S. Dublin* poseen un antígeno capsular Vi (virulencia) que enmascaran otros antígenos (Ramírez *et al.*, 2019).

El procedimiento inicia con la colocación de una proporción de bacterias cultivadas previamente, sobre un portaobjetos y en una gota de solución salina 0.85%, se emulsiona con los reactivos correspondientes y se observa la aglutinación al añadir una gota de antisuero, homogenizando bien en un lapso de 2 a 3 minutos se observa la aglutinación de las colonias hacia la parte externa de la gota (Montoya *et al.*, 2022).

#### **2.1.5.2.3. Diagnóstico Molecular y Métodos de Tipificación**

La variedad genética de las *Salmonella* spp., es muy amplia y las técnicas moleculares también son varias las que pueden ser utilizadas para el diagnóstico a partir de muestras clínicas y de alimentos, en términos generales la mayoría de estos procesos se basan en el desarrollo de PCR incluyendo las diferentes maneras de transcripción, que permite observar la divergencia entre cepas y especies (Santos *et al.*, 2020).

El empleo de la reacción en cadena a la polimerasa con la transcripción múltiple de ácidos nucleicos y el mapeo de diferentes genes permite detectar una diversidad amplia de microorganismo encontrados en las muestras clínicas y en las muestras de productos contaminados por *Salmonella* spp. (Shang *et al.*, 2021).

La identificación específica de *Salmonella* spp., puede realizarse mediante diferenciación bioquímica, fenotípica, serotipificación y análisis molecular, donde se utilizan métodos como la digestión con endonucleasas de restricción, amplificación de genes y nucleótidos específicos de forma aleatorizada (RAPD-PCR) o secuenciada (secuencia multilocus) ya que son de los métodos mas sensibles y específicos (Shang *et al.*, 2021).

#### **2.1.5.2.4. Resistencia antimicrobiana**

*Salmonella* spp. posee diversos niveles de resistencia, incluyendo cepas multirresistente a cuatro o mas agentes antimicrobianos, dentro de las cuales *S. Typhimurium* la cual presenta la mayor divergencia en genes de resistencia y fue la primera especie de esta bacteria a la cual se le identificó como multirresistente en Reino Unido en la década de 1960 en pruebas de susceptibilidad rutinarias (McMillan *et al.*, 2020).

En el ganado bovino la principal especie de este patógeno asociado con cuadros entéricos es *Salmonella Typhimurium* la misma que es caracterizada como resistente a las aminopenicilinas como la ampicilina, a los aminoglucósidos como la estreptomicina, también se puede manifestar resistentes a las sulfonamidas, tetraciclinas y furazolidona, aproximadamente para 1994, gran parte de los aislados de *S. Typhimurium* se presentaban como multirresistentes en un 62% de las pruebas de susceptibilidad (McMillan *et al.*, 2020).

*S. Typhimurium* aislada de diferentes nichos también puede presentar diversidad en su comportamiento de resistencia a los antimicrobianos, como ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas y tetraciclina. En contraste su resistencia puede variar en dependencia de la fuente de aislamiento, la región, la prevalencia, los genes asociados a la resistencia, etc. (Castro *et al.*, 2020).

## **2.2. *Lactobacillus* spp.**

### **2.2.1. Clasificación taxonómica**

El género *Lactobacillus* fue descrito por primera vez en 1901 por Beijerinck, quien lo caracterizó como una bacteria gram positiva productora de ácido láctico, el cual se diferenciaba de otros por ser anaerobio facultativo con capacidad de formar esporas, estas características permitieron dividirlo en el filo Firmicutes, clase Bacilli, orden; *Lactobacillales*, familia; *Lactobacillaceae*, de los cuales se pueden observar y diferenciar tres géneros definidos, *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* y *Pediococcus*, incluyendo *Leuconostocaceae*, clasificando a los géneros *Convivina*, *Fructobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* y *Weissella* (Dashtbani & Keshtmand, 2023).

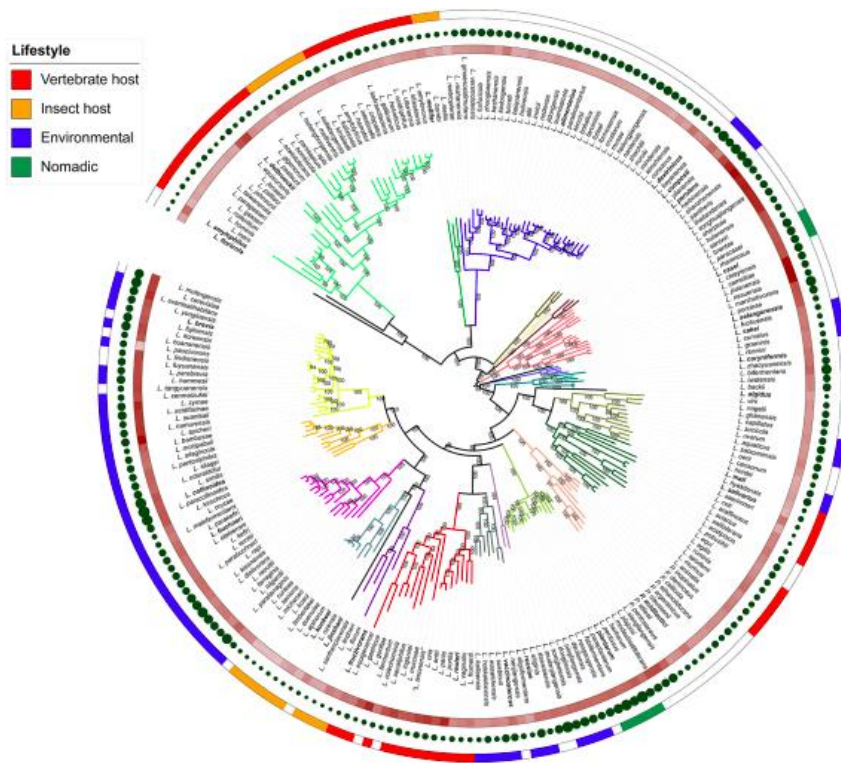
Hasta la actualidad el término genérico Lactobacilli, sigue siendo útil para definir a todas las bacterias que cumplan con el perfil de *Lactobacillaceae* desde el punto de vista la filogenética microbiana agrupa a este tipo de microorganismos en clados con propiedades metabólicas únicas y compartidas, este tipo de bacterias abarca muchas especies adaptadas a diversos procesos biológicos como; *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensensii*, *Lactobacillus johnsonii* y *Lactobacillus acidophilus* o invertebrados como; *Lactobacillus apis* y *Lactobacillus bombicola* (Zheng *et al.*, 2020).

El blast de diferenciación permite observar alrededor de más de 315 especies pertenecientes a este tipo de bacterias, la identificación y clasificación molecular de estas se a basado en la transcripción y secuenciación de forma alineada de proteínas en 114 genes centrales considerando una sola copia, tomando la referencia del árbol de máxima divergencia por RAxML lo que describió aproximadamente a 224 especies de *Lactobacillus* y *Pediococcus* tomando de referencia la secuencia del genoma disponible en la base de datos NCBI del 2020 (Duar *et al.*, 2017)

Dentro de sus características microscópicas se reconocen como Gram positivos, además son organotróficos, tolerantes a los medios ácidos, algunas especies no forman esporas, se caracterizan por producir ácido láctico producto de la fermentación de carbohidratos de la matriz nutricional en donde se desarrollan, su falta de patogenicidad y toxicidad, adaptación al ambiente digestivo, control de la eubiosis intestinal y homeostasis general del huésped, lo hacen de los microorganismos más útiles para procesos biológicos (Zheng *et al.*, 2020).

**Figura 1.**

*Árbol filogenético del genoma central de lactobacillaceae.*



*Nota.* Tomado de Duar *et al.* (2017)

### 2.2.2. Beneficios de los *Lactobacillus*

Los beneficios de este grupo de microorganismos son numerosos y diversos, para la salud de los animales y humanos específicamente para la salud intestinal, se ha visto evidencia científica que este microorganismo y la producción de ácido láctico disminuye el impacto de la intolerancia a la lactosa por parte del huésped, a su vez apoya a la respuesta inmunitaria mediada por células, regulación del metabolismo lipídico y transportación de triglicéridos, reducción del impacto de enfermedades crónicas intestinales de carácter inflamatorio, diarreas, disbiosis intestinales, patogénesis de microorganismos entéricos, disminución de la mutabilidad y proliferación de células tumorales, etc. (Jeong *et al.*, 2022)

El grupo de los lactobacilos se encuentra entre los microorganismos más útiles en la industria alimentaria debido a su funcionalidad, falta general de patogenicidad y toxicidad, adaptación al tracto gastrointestinal y contribución al equilibrio microbiano. Los componentes de construcción de la pared celular otorgan algunas propiedades beneficiosas especiales a los lactobacilos, como la capacidad de adsorber macromoléculas específicas, incluidas algunas toxinas (Jeong *et al.*, 2022)

El desarrollo tecnológico ha llevado a que *Lactobacillus* spp. sea el principal involucrado en el desarrollo y establecimiento de procesos homofermentativos y heterofermentativos, como procedimientos de conservación de materias primas por largos periodos de tiempo, esto basándose en el principio de la acidificación para inhibición de mohos, levaduras y otras bacterias patógenas involucradas en la degradación y pudrición de las fuentes alimenticias, desde el punto de vista científico se ha definido la capacidad de esta bacteria en biotransformar la materia orgánica en productos asimilables que pueden ser utilizados con diversos fines (Xiao *et al.*, 2020).

Se demuestra que los lactobacilos vivos y muertos están involucrados en diferentes procesos de promoción de la salud, incluida la descontaminación de los alimentos al absorber los elementos tóxicos en sus paredes celulares, se puede postular que en estos procesos está involucrada más adsorción física que metabolismo de unión covalente química. Se observó que la capacidad de los lactobacilos muertos en los procesos de descontaminación es tan importante, ya que la viabilidad de las

bacterias puede estar relacionada con la reducción de las condiciones de pH más bajas en el estómago (Xiao *et al.*, 2020).

#### **2.2.2.1. Efecto prebiótico de los *Lactobacillus* spp.**

La definición más reciente es “microorganismos vivos, que cuando se consumen en cantidades adecuadas, confieren un efecto sobre la salud del huésped”, los probióticos ya se están utilizando para tratar o prevenir enfermedades, afecciones y síndromes humanos, también se ha demostrado que tienen un efecto positivo en la neuroinflamación y el dolor, así como en las infecciones por enfermedades estacionales (Teame *et al.*, 2020).

Tienen un efecto multifacético, incluido un papel protector en el intestino, compiten con los patógenos para producir efectos antimicrobianos directos e indirectamente mejoran la función de barrera intestinal, también modulan los sistemas inmunitarios de las mucosas locales y sistémicos del huésped e inducen inhibidores de la producción de citoquinas proinflamatorias. Muchos mecanismos se ven afectados en función de la especificidad de la bacteria (Eslami *et al.*, 2019).

Muchos *Lactobacillus* tienen una larga historia de uso en alimentos. Esto se debe a que *Lactobacillus* es una bacteria productora de ácido láctico y tiene un estado "generalmente reconocido como seguro". Actualmente, existe un interés creciente en su uso como suplemento dietético para humanos y animales (Jeong *et al.*, 2022).

*Lactobacillus* spp. podría mejorar condiciones tales como enfermedades gastrointestinales, alergias y enfermedades hepáticas a través de varios mecanismos, como la producción de metabolitos que pueden inhibir directamente a los patógenos, exhibiendo efectos inmunomoduladores y cambiando el microbiota intestinal (López & Aguilera, 2020).

Muchas cepas de *Lactobacillus* inhiben el crecimiento de patógenos con actividad antimicrobiana. *L. paracasei*, *L. fermentum* y *L. rhamnosus* mostraron actividad antimicrobiana contra *C. albicans*, una levadura patógena oportunista. Cuando estos *Lactobacillus* se coincubaron con *C. albicans*, el crecimiento micelio de *C. albicans* se retrasó y se inhibió la formación de biopelículas. Además, la expresión de genes específicos del biofilm se redujo en el patógeno, *Lactobacillus* cepas exhibieron una actividad antagónica contra microorganismos patógenos, *C.*

*albicans* (ATCC 44831), *Enterococcus faecium* (ATCC 51558), *Enterobacter cloacae*, *E. coli* (ATCC 29181), *Helicobacter pylori* (ATCC 43579), *Listeria monocytogenes*, *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919), *Shigella sonnei* (ATCC 25931), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) y *Vibrio parahaemolyticus*, y la actividad dependía de la cepa Este efecto inhibitorio sobre los microorganismos patógenos está relacionado con diversas bacteriocinas, a través de metabolitos producidos por *Lactobacillus* spp (Eslami *et al.*, 2019).

#### **2.2.2.2. Relación de los prebióticos con los probióticos**

Dentro de la flora saprofita de los intestinos se encuentra implicada la actividad antipatogénica que poseen algunas bacterias benéficas como los bacilos productores de ácido láctico, los mismos que se ven beneficiados por la actividad estimulante de ciertas sustancias prebióticas, sin embargo, estas sustancias denominadas prebióticas se encuentran sujetas a biodegradación enzimática por acción de jugos estomacales, secreción biliar a nivel hepático y jugos digestivos secretados por el páncreas, esto limita su disponibilidad ocasionando que la proporción de estas sustancias que llegan al colon que es el lugar de preferencia de las bacterias que se benefician de la bioactividad sea menor, esto en términos generales impediría su utilización y por ende el desarrollo más eficiente de estos microorganismos (Sotoudegan *et al.*, 2019).

Los reportes científicos donde se ha establecido la acción de estas sustancias prebióticas son numerosos, siendo la inulina uno de los más estudiados y destacados. Un estudio relevante de carácter *in vitro* reporta que la inulina a una concentración del 2.5% promueve la viabilidad y la resistencia a las sales biliares de *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, además provocó un aumento en la duración de fase logarítmica del crecimiento de este microorganismo, concluyendo que este biocomponente puede reducir de forma significativa el impacto de las disbiosis bacterianas a nivel intestinal, además de que abre una ventana muy amplia para sus usos y beneficios en la industria farmacéutica (Napoli, *et al.*, 2023).

### **2.3. Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana (RAM)**

Algunos microorganismos poseen resistencia al mecanismo de acción de algunos agentes farmacológicos de tipo antibiótico o su molécula activa, son innumerables

las formas en que una bacteria puede inhibir la interacción de dicho fármaco, entre ellas se puede reconocer que dentro de los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos esta la modificación del sitio de unión o sitio objetivo donde actúa el fármaco por parte de las bacterias inhabilitando la acción lítica que posee el agente medicamentoso en cuestión causando ineficacia terapéutica y reducción en los índices de curación y agravamiento del cuadro patológico en particular (Pulingam *et al.*, 2022).

La divergencia genética de carácter evolutivo en las bacterias a provocado la aparición de nuevas determinantes con mecanismos de resistencia a los antibióticos, los mismos que pueden ser producto de modificaciones intrínsecas o por adquisición de donantes genéticos a partir de plásmidos o una combinación de los dos, dando como producto una estirpe bacteriana con bajas tasas de lisis celular que originan cuadros patológicos inespecíficos difíciles de tratar, lo negativo de esto es que es altamente transmisible y replicable a nivel de diversos entornos de gran difusión, un claro ejemplo es lo que ocurre en los ambientes nosocomiales donde se propaga en diversas intensidades la resistencia a los antibióticos en diversidad de especímenes bacterianos (Pulingam *et al.*, 2022).

La modificación de la permeabilidad de la membrana celular bacteriana es un importante mecanismo de resistir a la interacción con un antibiótico, algunos microorganismos bacterianos han desarrollado la capacidad de permitir el ingreso de moléculas hacia su citosol y orgánulos de forma selectiva, impidiendo el ingreso del antibiótico o limitando sus microconcentraciones necesarias para originar una lisis o interrupción de procesos vitales (Abushaheen *et al.*, 2020).

La diferenciación de Gram y su estudio microbiológico ha permitido establecer que la membrana celular de las bacterias categorizadas como Gram negativas presenta un grado de permeabilidad menor a comparación de su homónimo Gram positivas especialmente por la conformación de una membrana externa que le facilita la selectividad de moléculas, se sabe que este tipo de bacterias son mucho más resistentes a ciertos componentes y moléculas antimicrobianas, interviniendo a nivel de membrana en gran medida las porinas, las cuales permiten difundir solamente moléculas de carácter hidrofílico a través de esta (Mancuso *et al.*, 2022).

El ingreso de ciertas moléculas al citosol bacteriano a través de la membrana celular bacteriana depende en gran medida de la actividad de las porinas, existen modificaciones de estas que provocan un ingreso selectivo de partículas, en algunos microorganismos bacterianos como *Pseudomonas aeruginosa* la modificación de estas estructuras tienen regulación genética, donde se ve relacionado la expresión del gen porina OprD, que provoca limitación en el ingreso de imipenem hacia el citosol y su biosíntesis para inhibir la regulación y estructuración de la membrana celular bacteriana (Mancuso *et al.*, 2022).

Las bombas de E-flujo son mecanismos de resistencia que le permiten a la bacteria inhibir por completo la interacción con el antibiótico mediante el ingreso y no difusión del mismo, ya que lo expulsa de forma intacta, la patogénesis de una especie de bacterias, su resistencia así como su supervivencia en algunas ocasiones dependen del ensamblaje de las bombas de expulsión activa que son las responsables de iniciar una respuesta adaptativa que le permite modificar y recodificar genes relacionadas a la funcionalidad de estas estructuras colaborando confieren mayores resistencia (Darby *et al.*, 2023).

La mutación de los lugares en donde actúan los antibióticos sin modificación de su funcionalidad es otro de los mecanismos de resistencia desarrollado, el gen que codifica las dianas está presente en múltiples copias y la mutación en cualquiera seguida de la recombinación homóloga de alta frecuencia puede producir rápidamente una población que tenga un alelo mutante (Darby *et al.*, 2023).

Otra táctica para adquirir la mutación de orgánulos o plásmidos es la adquisición de un gen homólogo al objetivo real, además, los cambios bioquímicos también pueden modificar los órganos bacterianos o también llamados sitios de acción antibiótica, lo que da como resultado una interacción fármaco extinta en las bacterias patógenas (Uddin *et al.*, 2021).

#### **2.4. Fitoterapia**

La necesidad de terapias antibacterianas novedosas y efectivas ha llevado al surgimiento de las investigaciones dirigidas a encontrar productos de origen natural como antimicrobianos efectivos. Entre los productos naturales, los aceites esenciales, los extractos alcohólicos e hidroalcohólicos tienen importancia debido

a sus fuertes potenciales antimicrobianos y su uso frecuente de manera tradicional y empírica para la prevención y el control de infecciones microbianas, se pueden extraer de diferentes partes de determinadas plantas, como hojas, raíces, flores, capullos, frutos, tallos, semillas y maderas (Yu *et al.*, 2020).

## **2.5. Extractos vegetales**

### **2.5.1. Aceites esenciales**

Son considerados como metabolitos secundarios y son conocidos por sus propiedades biológicas antibacterianas, antifúngicas, antivirales e insecticidas. Dichos activos vitales han convertido a los aceites esenciales en una fuente importante para las industrias farmacéuticas, las propiedades biológicas clave de los aceites esenciales se deben a la presencia de terpenos y fenilpropenoides como componentes principales. Los aceites esenciales se consideran un reservorio de potentes agentes antimicrobianos o de reversión de la resistencia a los medicamentos contra los microbios mortales (García & Solís , 2021).

### **2.5.2. Actividad antimicrobiana de los extractos vegetales**

Los extractos vegetales comprenden la mezcla de un sinnúmero de metabolitos de bajo peso molecular secundarios de plantas o material vegetal, a menudo son líquidos aromáticos naturales y volátiles (Badke *et al.*, 2019).

Químicamente, los aldehídos y fenoles aromáticos y alifáticos, los terpenos y sus derivados oxigenados, los terpenoides, suelen ser los principales componentes encontrados en extractos vegetales, seguidos de los fenilpropanoides y los compuestos bencenoides en términos de abundancia, además, los derivados de hidrocarburos alifáticos de cadena corta son otra clase de compuestos volátiles que los constituyen (Badke *et al.*, 2019).

#### **2.5.2.1. Alteración de la pared celular bacteriana**

La permeabilidad de la membrana es crucial para regular y mantener el flujo de entrada y las concentraciones intracelulares de antimicrobianos y, por lo tanto, los compuestos de la pared celular bacteriana son objetivos clave de los agentes antimicrobianos (García & Solís , 2021).

En presencia de agentes antibacterianos, las bacterias tienden a alterar la síntesis de ácidos grasos y proteínas de membrana, lo que da como resultado una permeabilidad reformada de la membrana frente a los antibióticos. La organización de las membranas celulares es aún más dinámica y compleja en los microbios Gram negativos y son los principales determinantes de su resistencia superior.

Debido a la naturaleza lipofílica, los aceites esenciales y sus componentes principales afectan la proporción y los aspectos estructurales de los ácidos grasos insaturados que contienen. Por lo tanto, las células bacterianas a menudo no logran controlar la fuga de moléculas y iones críticos cuando se tratan con aceites esenciales (Darby *et al.*, 2023).

#### **2.5.2.2. Bombas de Expulsión**

Se ha informado que muchas plantas medicinales con potencial antimicrobiano contienen inhibidores y algunos de los inhibidores de origen vegetal incluyen catecol, resveratrol, gingerol, capsaicina, etc., en la misma línea, algunos componentes principales se han evaluado como una entidad potencial para bloquear en varios microbios patógenos (Yu *et al.*, 2020).

### **2.6. Alcachofa (*Cynara scolymus*)**

La alcachofa (*Cynara scolymus*) es una planta de la familia de las asteráceas. Es la variedad no espinosa del cardo salvaje y sus frutos son muy apreciados en la cocina mediterránea, además del empleo culinario de los frutos, las hojas se utilizan en farmacia por sus propiedades terapéuticas. Es hepatoprotectora, colerética, colagoga, hipocolesterolemia y coadyuvante en las dietas destinadas a controlar el peso, como nutriente resulta muy adecuada para evitar los excesos de la dieta pobre en verduras y fibra y excesivamente rica en grasas (Salem *et al.*, 2015).

#### **2.6.1. Historia**

La alcachofa se remonta a la antigüedad, en diversas representaciones del Antiguo Egipto aparecen con frecuencia unas a modo de piñas, con las hojas o brácteas empizarradas, que parecen ser las cabezas de la planta (Villazana *et al.*, 2021).

Los autores sostienen que la alcachofa se digiere con facilidad, aumentan el apetito, dan templado mantenimiento, abren toda suerte de opilación y provocan la diuresis,

mientras que las alcachofas aguzan el apetito, dan sed, engendran humores corruptibles, alteran el hígado (Villazana *et al.*, 2021).

### 2.6.2. Descripción

La alcachofa es una planta herbácea, cultivada en muchos lugares del mundo, que es muy abundante en el mediterráneo donde pocas veces está asilvestrada. Es perenne, de hasta dos metros de altura, sus hojas son pinnadolobuladas, de más de 60 cm de longitud, con lóbulos sin espinas (Aguirre *et al.*, 2019).

Las hojas tienen color verde claro y, sobre todo en la cara inferior, están cubiertas de unas hebras blancas, muy finas, que se forman a modo de telarañas y que empalidecen aún más el color de las hojas, el color característico de las hojas da nombre a la alcachofa. Las hojas radicales, en roseta, se recogen en primavera. Las hojas de alcachofa pueden prensarse para producir un zumo que, concentrado y purificado, se destina a la preparación de extractos (Monllor, 2021).

### 2.6.3. Taxonomía

#### Tabla 1.

*Taxonomía de la alcachofa.*

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Asterales
<b>Familia</b>	Asteraceae
<b>Género</b>	<i>Cynara</i>
<b>Especie</b>	<i>scolymus</i>
<b>Nombre científico</b>	<i>Cynara scolymus</i>

*Nota.* Tomado de (Terrnova, 2002).

### 2.6.4. Principios medicinales de la alcachofa

#### 2.6.4.1. Acción colerética

La alcachofa tiene propiedades coleréticas y colagogas, es decir, estimula la producción de bilis en el hígado y facilita posteriormente su vaciado en la vesícula biliar, lo que favorece la digestión de las grasas, la bilis, formada por sales biliares

y colesterol, es secretada por los hepatocitos y se almacena en la vesícula biliar, se excreta tras la ingestión de alimentos para metabolizarlos y digerirlos por acción de la bilis, las grasas provenientes de los alimentos oleaginosos y de las frituras son emulsificadas (fragmentadas en pequeñas moléculas), transformándose en microgotas que son degradadas por las lipasas pancreáticas e intestinales, quedando aptas para ser degradadas a nivel del páncreas (Parra *et al.*, 2022).

#### **2.6.4.2. Acción hepatoprotectora**

El extracto de hojas de alcachofa es un protector hepático, debido a la acción captadora de los radicales libres que producen la oxidación celular, en pruebas experimentales se ha constatado que la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad resulta inhibida como consecuencia de la administración del extracto de hojas de alcachofa, a pesar de ello, y de sus cualidades antitóxicas, no está comprobado que la alcachofa favorezca la regeneración de las células hepáticas, como es el caso del cardo, pero sí es recomendable su empleo en caso de insuficiencia hepática y hepatitis (Alvarado & Reyes, 2021).

#### **2.6.4.3. Actividad antimicrobiana**

Un antimicrobiano es toda sustancia, que en bajas concentraciones, es capaz de actuar sobre los microorganismos, inhibiendo su crecimiento o destruyéndolos, sin provocar toxicidad (Aguirre *et al.*, 2019).

Las de origen vegetal incluyen compuestos como polifenoles provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas, los compuestos que tienen actividad antimicrobiana son derivados simples y complejos del fenol (Villazana *et al.*, 2021).

##### **2.6.4.3.1. Compuestos volátiles**

La alcachofa tiene principalmente como principios activos algunos ácidos fenólicos como el ácido cafeílico, ácido clorogénico, ácido cafeilquínico, y el ácido dicafeilquínico, la cinarina, uno de los más representativos, es el ácido 1,3-O-dicafeilquínico o el 1,5-O-dicafeilquínico. También posee flavonoides derivados de la luteolina; inulina, ácidos alcoholes como el ácido málico, láctico, fumárico;

aceites esenciales, fitoesteroles, triterpenos, taninos, lactonas sesquiterpénicas amargas como la cinaropicrina (Arias, 2022).

Los compuestos fenólicos más representativos en las alcachofas son el ácido cafeico (ácido 3,4- dihidroxicinámico), el ácido clorogénico (ácido 3-Cafeilquinico), la cinarina, el cinarósido, la isorhoifolina, y la narirutina. La hoja de alcachofa, sus principios activos, posee propiedades diuréticas, coleréticas, hepatoestimulantes; disminuye los niveles de lípidos (Andreo *et al.*, 2021).

## CAPÍTULO III.

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Ubicación de la investigación

- **Localización del experimento.**

La presente experimentación se desarrolló en el Laboratorio General de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, en la sección de microbiología, los análisis de la cinética de crecimiento de *Lactobacillus* y cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS), se desarrolló en el Laboratorio de alta complejidad, Investigación y Vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar, el mismo que se encuentran ubicados en el cantón Guaranda, en el sector Laguacoto I y Laguacoto II respectivamente.

- **Situación geográfica y edafoclimática.**

#### Parámetros Geográficos de Guaranda

<b>Altitud</b>	2608.00 msnm
<b>Latitud</b>	-1.614378°
<b>Longitud</b>	-78.998339°
<b>Temperatura máxima</b>	19 ° C
<b>Temperatura mínima</b>	10 ° C
<b>Temperatura media anual</b>	14°C
<b>Precipitación media anual</b>	1619 mm <sup>3</sup>
<b>Humedad relativa (%)</b>	72%

*Nota.* Tomado de INAMHI, (2019).

- **Zona de vida.**

De acuerdo con la sistematización de zonas de vida publicados por Leslie Holdridge, el cantón Guaranda corresponde a la formación Bosque Húmedo Montano Bajo (B.h.m.b) (Holdridge, 1967).

## 3.2. Metodología

### 3.2.1. Material en estudio

- Extracto etanólico de la alcachofa
- *Salmonella entérica* ATCC® 13076™
- *Lactobacillus* spp.

### 3.2.2. Factores en estudio

**Factor A:** Extracto etanólico de la alcachofa

**Factor B:** *Salmonella entérica* ATCC® 13076™

**Factor C:** Crecimiento de *Lactobacillus* spp.

### 3.2.3. Tratamientos

#### Tabla 2.

*Tratamientos en estudio de la interacción de los factores A x B.*

Tratamientos	Descripción
<b>T0</b>	Discos de antibióticos de enrofloxacin de 5µg + <i>Salmonella entérica</i> ATCC® 13076™
<b>T1</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 100% + <i>Salmonella entérica</i> ATCC® 13076™
<b>T2</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 50% + <i>Salmonella entérica</i> ATCC® 13076™
<b>T3</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 30% + <i>Salmonella entérica</i> ATCC® 13076™
<b>T4</b>	Disco impregnado de cloruro de sodio + <i>Salmonella entérica</i> ATCC® 13076™

*Nota.* Los antibiogramas se realizaron mediante la técnicas difusión en discos.

**Tabla 3.***Tratamientos en estudio de la interacción de los factores A x C.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>
<b>T1</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 1% + <i>Lactobacillus</i> spp en caldo MRS
<b>T2</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 5% + <i>Lactobacillus</i> spp en caldo MRS
<b>T3</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 10% + <i>Lactobacillus</i> spp en caldo MRS
<b>T4</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 15% + <i>Lactobacillus</i> spp en caldo MRS
<b>T5</b>	Extracto etanólico de la alcachofa al 20% + <i>Lactobacillus</i> spp en caldo MRS
<b>T0</b>	<i>Lactobacillus</i> spp en caldo MRS

**Tabla 4.***Características numéricas del diseño.*

<b>Características</b>	<b>Actividad antimicrobiana</b>	<b>Cinética de crecimiento</b>
<b>Número de tratamientos</b>	5	6
<b>Número de repeticiones</b>	5	5
<b>Tamaño de la unidad experimental</b>	100 µL	100 µL
<b>Número de aislados</b>	1	1 (11 mediciones)
<b>Número total de análisis</b>	25	330

### 3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico

- Diseño completamente al azar, se desarrolló con el siguiente modelo;

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}.$$

**Tabla 5.**

*Tabla de ANOVA de la interacción de dos factores.*

Fuente de variación	G. L	Fórmula	G. L
Tratamiento	t-1		4
Error	t (r-1)		20
Total	rt (-1)		24

### 3.2.5. Manejo de la investigación

- **Preparación del material vegetal:**

Se realizó la compra de las bellotas de alcachofa (*Cynara scolymus*) del mercado 10 de Noviembre de la ciudad de Guaranda, la misma que se procesó deshojando las bellotas a las cuales se les realizó un lavado con agua destilada estéril y se dejó secar por un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente, transcurrido este período se picó las hojas, juntamente con la porción más pulposa de la alcachofa, en partículas pequeñas menores a 1 cm, posteriormente esto se registró el peso del producto obtenido.

- **Obtención del extracto etanólico:**

Se dividió y pesó 100 gramos de material vegetal picado de la alcachofa, el cual se dejó macerar con 100 mL de etanol al 96% por 3 días, el cual se agitó dos veces por día, una vez transcurrió este tiempo, se sometieron los macerados a filtración con un circuito de vacío, donde se tamizó con papel Whatman número 1 y se obtuvo el extracto etanólico al 100%, para su posterior dilución llegando a las concentraciones del 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 50% y 100%, propuestas en la investigación.

- **Reanimación de las cepas bacterianas:**

La reanimación de *Salmonella entérica* ATCC® 13076™, se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante, considerando que este procedimiento se desarrolló en un caldo nutritivo a base de extracto de caseína pancreática peptonada en un matraz de cierre hermético, de manera consecutiva se realizó la reanimación de *Lactobacillus* spp., para lo cual, en primera instancia se apartó los crioviales que almacenan las cepas, y se incubaron por 1 hora para activar metabólicamente las colonias bacterianas, luego se tomaron 100 µL y se depositara en 10 mL de caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS) para *lactobacillus* spp., este caldo selectivo solamente permitió el crecimiento de dicha bacteria, los caldos inoculados de manera rutinaria se incubaron por 24 horas a 37° C, una vez obtenidos los cultivos reanimados, se transfirió a cultivos en placa con agar solido (Agar tripticasa soja), de igual manera se incubó por 24 horas a 37° C, posterior a este tiempo se subcultivó en placas petri con medio sólido para obtener un cultivo axénico listo para realizar los procedimiento de actividad antimicrobianas y medir la curva de crecimientos respectivamente.

- **Actividad antimicrobiana:**

La actividad antimicrobiana se desarrolló siguiendo los lineamientos postulados en el método de Kirby-Bauer o difusión de disco, con la ayuda de un hisopo estéril se inoculó sobre la superficie del agar, aproximadamente una población de bacterias de  $1 \times 10^8$  UFC/mL como criterio de siembra de esa cantidad de unidades formadoras de colonias se realizó la escala de turbidez 0.5 de MacFarland de cada cepa respectivamente, posteriormente se impregnaron los discos de 6 mm de diámetro con el extracto y se situaron suficientemente separados entre si, a continuación se incubó por 24 horas a 37° C.

- **Medición de los halos de inhibición:**

Luego de 24 horas se tomó las medidas reales de los halos de inhibición, para lo cual con la ayuda de un calibrador pie de rey milimétrico se midió de extremo a extremo del espectro de inhibición, de dicho valor que se le quitó el valor de 6 el cual corresponde a los milímetros contemplados por el tamaño del disco de papel utilizado. Como resultado se obtuvo el valor del halo de inhibición neto.

- **Susceptibilidad bacteriana;**

Los resultados del antibiograma del extracto etanólico de la alcachofa fueron comparados con la escala de sensibilidad establecidos por Duraffourd *et al.* (1987) y los resultados del tratamiento de enrofloxacin fueron comparado con los puntos de corte establecidos por el CLSI (2024) estipulado en el documento M100-ED34, en las siguientes tablas se establecen las medidas de los diámetros;

**Tabla 6.**

*Escala de sensibilidad propuesta por Duraffourd et al (1987) para un fitofármaco mediante la técnica de difusión de disco.*

<b>Escala</b>	<b>Medida del halo de inhibición (mm)</b>
<b>Actividad nula (-)</b>	$\leq 8$
<b>Sensible</b>	$> 8 \quad \leq 14$
<b>Muy sensible</b>	$> 14 \quad \leq 20$
<b>Sumamente sensible</b>	$> 20$

**Tabla 7.**

*Criterios interpretativos y puntos de interrupción del diámetro de zona (mm) de inhibición establecida por el CLSI para Salmonella frente a fluoroquinolonas*

<b>Antibiótico</b>	<b>Sensible</b>	<b>Intermediamente</b>	<b>Resistente</b>
Ciproflaxacina	$\geq 31$ mm	21 mm – 30 mm	$\leq 20$ mm

*Nota.* Los puntos de interrupción de ciproflaxacina (5µg) son utilizados para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de *Samonella* (incluidas las entéricas) frente a las fluoroquinolonas,

- **Estimación de la curva de crecimiento:**

Este procedimiento requirió la aplicación del ensayo de espectofotometría, mediante el cual se obtuvo la cantidad de absorbancia (ABS%) que presentaron cada uno de los cultivos de *Lactobacillus spp.* este procedimiento de medición

inició la manufactura del medio de cultivo en caldo (MRS-lactobacilli) el mismo que se esterilizó, y empacó 5 mL en tubos de ensayo de tapa rosca estériles, el espectrofotómetro utilizado fue un Nanodrop al cual se le incluyó 200µL de muestra en el lugar de la medición, antes de realizar las mediciones consecutivas, se calibró colocando 200µL de medio de cultivo sin inóculo el cual permitió calibrar el rango cero, y partir del cual se basaron todas las mediciones, las mediciones mediante espectrofotometría se realizaron cada 2 horas hasta cumplirse las 24 horas de incubación, además, se referenciaron las lecturas obtenidas mediante el diseño de un grafico progresivo.

- **Identificación de los compuestos volátiles del extracto:**

La identificación de los compuestos volátiles se realizó mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS), en primera instancia para su medición se remitió 10 mL de muestra en un frasco de color ámbar, la misma que se tamizó en millipore con un filtro de 0.45µ para retener todas las impurezas que contenga el extracto de alcachofa de un tiempo de macerado de 72 horas, se utilizó un equipo cromatógrafo (GC-AGILENT TECHNOLOGIES 7890 A), el cual incorporó un detector (AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD) con una columna de inyección HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm), los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14. L. (National Institute of Standards and Technology), y se estableció el siguiente método cromatográfico;

- Temperatura del inyector: 250°C.
- Gas portador: Helio a un flujo de 0.8 mL/min.
- Volumen de inyección: 0.6 µL en inyección Splitless.
- Programa térmico: Temperatura del horno 60 °C durante 3 minutos, se incrementó de 60 °C a 100 °C a razón de 15 °C/min; finalmente la temperatura se elevó de 100 °C a 250 °C a razón de 3 °C/min durante 5 minutos.
- Temperatura del detector: 300 °C.
- Tiempo total de corrida: 61.67 minutos

### 3.2.6. Métodos de evaluación (variables respuesta)

- **Análisis de varianza de la susceptibilidad antimicrobiana:** variable de tipo dependiente, que evaluó el efecto de los tratamientos frente a *Salmonella entérica* ATCC 13076 en el antibiograma, en específico de los que fueron inhibidos o resistieron al efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la alcachofa en concentraciones del 100%, 50% y 30%, tomando como evidencia la medición de los halos en el medio de cultivo.
- **Escala de sensibilidad antimicrobiana:** variable de tipo dependiente, que se evaluó y registró los datos del antibiograma, los mismo que fueron comparado con la escala de sensibilidad propuesta por Duraffourd *et al.* (1897) para un fitofármaco y por el CLSI (2024) para enrofloxacin.
- **Porcentaje (%) inhibitorio relativo :** parámetro de medición dependiente que permitió establecer la capacidad del extracto etanólico de la alcachofa en para inhibir a *Salmonella enteritidis* ATCC® 13076<sup>TM</sup>, considerando el criterio de interpretación de Ramírez & Díaz (2007) que mencionan que la actividad antimicrobiana de los extractos se considera alta cuando el porcentaje de inhibición y es > 70%, intermedia entre el 50% -70% y baja cuando es < 50%, los halos de inhibición se registro, se efectuó mediante el cálculo matemático con la ayuda de la siguiente ecuación descrita por Pabón *et al.* (2013).

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{DT - DC-}{DC+}$$

**Donde:**

**DT:** Diámetro del halo de inhibición de cada tratamiento

**DC-:** Diámetro del halo de inhibición del control negativo

**DC+:** Diámetro del halo de inhibición del control positivo

- **Cinética de crecimiento:** paramétrica de tipo dependiente, que consistió en medir el crecimiento de *Lactobacillus*, en base a un caldo de cultivo inoculado de dicha bacteria, a los cuales se le incorporó el extracto etanólico de la alcachofa en concentraciones del 1% (T1), 5% (T2), 10% (T3), 15%

(T4), 20% (T5) y un cultivo sin suplementación (T0) en el medio de cultivo de cada cepa, la mediciones se realizó en base al porcentaje de absorbancia en cada cultivo con un intervalos de tiempo de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 20, 22, y 24 horas, mediante espectrofotometría con una longitud de onda de 625 nm.

- **Estudio de los compuestos volátiles:** paramétrica de tipo dependiente la cual se midió mediante la aplicación de cromatografía gases con espectrometría de masas (GC-MS), para la identificación de los compuestos volátiles que contiene el extracto etanólico de la alcachofa, los mismo que fueron identificados con la ayuda de la Librería NIST 14 L.

### **3.2.7. Análisis de datos**

Los resultados obtenidos de las pruebas de susceptibilidad de la interacción del extracto etanólico de la alcachofa en concentraciones del 100%, 50% y 30%, como fuente de inhibición de *Salmonella enteritidis* ATCC® 13076TM, y su efecto en la curva de crecimiento de *Lactobacillus* spp. a una concentración del 1%, 5%, 10%, 15% y 20% se analizaron mediante el paquete estadísticos SAS 9.4 y SPSS versión 25, para observar diferencias estadísticas en los diferentes tratamientos.

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

#### 4.1. Análisis de varianza de la susceptibilidad de *Salmonella entérica* ATCC 13076 frente a extracto etanólico de alcachofa (*Cynara scolymus*).

**Tabla 8.**

*Análisis de varianza de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa frente a Salmonella entérica ATCC 13076.*

<b>Fuente de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F.Valor</b>	<b>Pro. F</b>	<b>Sig.</b>
Tratamientos	4	673.360	168.34	255.06	<.0001	**
Error	20	13.200	0.6600			Coefficiente de variación: 6.36%
Total	24	686.56				

*Nota.* Diferencias estadísticas altamente significativas (\*\*).

Los resultados del antibiograma mediante la prueba de Fisher expresaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $P. <0.01$ ) entre los tratamientos en estudio, es decir que las diferentes dosis del extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) propiciaron diferente efecto inhibitorio sobre *Salmonella entérica* ATCC 13076.

**Tabla 9.**

*Comparación de los promedios de los tratamientos en estudio.*

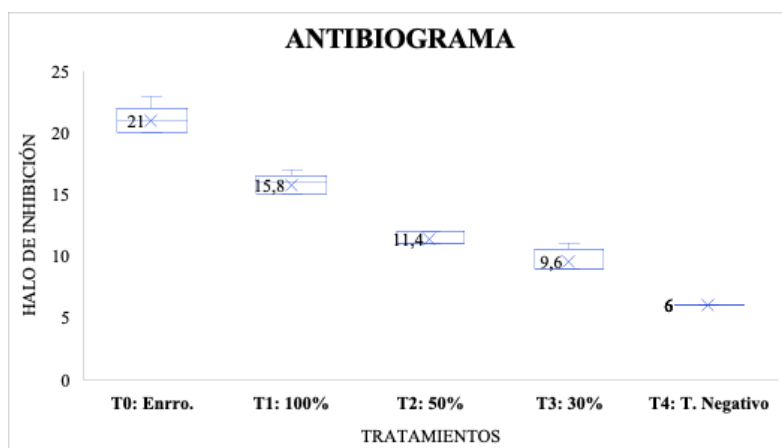
<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Duncan agrupación</b>
0 (Enrofloxacina)	21.00	A
1 (100% del extracto)	15.80	B
2 (50% del extracto)	11.40	C
3 (30% del extracto)	9.60	D
4 (testigo negativo)	6.00	E

Por medio de Duncan al 5% se determinó que los promedios de las zonas de inhibición de los tratamientos en estudio expresaron diferencias estadísticas,

reconociendo que el mayor promedio lo expresó el T0 (enrofloxacina) con 21 milímetros, siguiéndole los extractos de la alcachofa a T1 (100%), T2 (50%) y T3 (30%) con 15,80, 11,40 y 9,60 milímetros respectivamente.

### Figura 2.

Diagrama de cajas y bigotes del antibiograma del extracto etanólico de la alcachofa frente a *Salmonella* entérica ATCC 13076.



Shallan *et al.*, (2020) en su investigación sobre la actividad antimicrobiana in vitro de las bractas y receptáculos de alcachofa (*Cynaraa scolymus*) frente a *Salmonella* entérica SA19992307, encontraron que el extracto etanólico de 72 horas de bractas y receptáculos al 100% obtuvo valores de  $11.3 \pm 0.76$  milímetros y  $10.0 \pm 1.04$  milímetros respectivamente, responsabilizando a diversos compuestos orgánicos dichos resultados, estratificando que en las bractas existía una concentración de 16.04 mg de catequina y en los receptáculos 11.55 mg *p*-hidroxibenzoico, tomando en cuenta un total de 15 compuestos fenólicos responsables de dichos resultados.

Comparativamente son valores similares a los que se encontraron en la presente investigación, considerando que, el extracto etanólico al 100% (T1), expresó valores superiores a los reportados por los autores citados, atribuyendo dichas diferencias a la actividad antimicrobiana que poseen los siguientes compuestos volátiles encontrados en mayor porcentaje; Timol, *m*-Cymene, Linalool y Pyranone, mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS).

**4.1.1. Análisis de la escala de sensibilidad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) frente a *Salmonella entérica* ATCC 13076.**

**Tabla 10.**

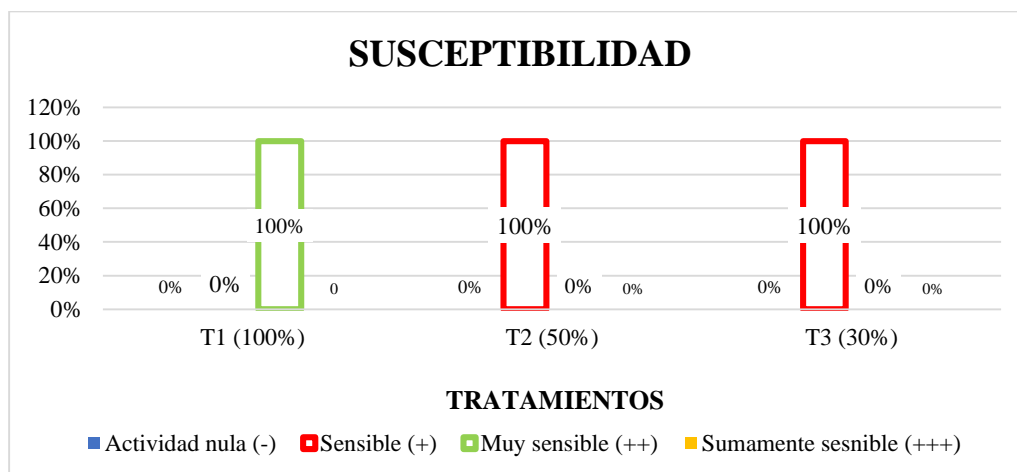
*Análisis de susceptibilidad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa frente a S. entérica ATCC 13076.*

<b>Punto de corto</b>	<b>T1: 100%</b>	<b>T2: 50%</b>	<b>T3: 30%</b>
Actividad nula (-)	-	-	-
Sensible (+)	-	100%	100%
Muy sensible (++)	100%	-	-
Sumamente sensible (+++)	-	-	-

De acuerdo con la escala de sensibilidad descrita por Duraffourd *et al.* (1897) se pudo determinar que el tratamiento T1 (100% del extracto) en el antibiograma frente a *Salmonella entérica* ATCC 13076 manifestó que en el 100% de los análisis se evidenciaron halos entre  $> 14 \text{ mm} \leq 20 \text{ mm}$  (muy sensible), no obstante, los tratamientos T2 (50%) y T3 (30%) fueron suficientes para inhibir el crecimiento de la bacteria en estudio, ya que reportaron halos entre  $> 8 \text{ mm} \leq 14 \text{ mm}$  (sensible).

**Figura 1.**

*Análisis de susceptibilidad antimicrobiana del extracto etanólico de la alcachofa frente a S. entérica ATCC 13076.*



Jamshidi *et al*, (2021) en su investigación sobre la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de la alcachofa (*Cynara scolymus*) frente a *Salmonella entérica* ATCC 13076, y su estudio de los biocompuestos antimicrobianos responsables por cromatografía, encontraron a una concentración de 30% halos de inhibición de 21 milímetros en promedio, categorizando que dicha bacteria es muy sensible a dicha concentración, responsabilizando los hallazgos al ácido 1,5-dicafeoilquínico. Comparativamente son valores superiores a los encontrados en la presente investigación, debido a las diferencias en la metodología del procesamiento de la muestra, también es relevante considerar los factores ambientales y agrícolas de investigación a investigación

#### 4.1.2. Análisis de sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella entérica* ATCC 13076 frente a enrofloxacin.

**Tabla 11.**

*Resultados del antibiograma de Salmonella entérica ATCC 13076 subsp. entérica serovar Enteritidis, frente a Enrofloxacin de 5µg*

Repetición	Zona de inhibición (mm)	Punto de corte		
		Sensible	Intermediamente	Resistente
1	20	-	-	X
2	23	-	X	-
3	20	-	-	X
4	21	-	X	-
5	21	-	X	-
$\bar{x}$	21	0	3	2

Nota.  $\bar{x}$ : promedio

De acuerdo con los resultados del antibiograma en las pruebas de susceptibilidad de *Salmonella entérica* ATCC 13076 subsp. *entérica* serovar *Enteritidis* frente a enrofloxacin mediante difusión de discos se determinó que dicha bacteria en estudio posee resistencia y resistencia intermedia en especial a la enrofloxacin de 5µg. al acotejar con los puntos de cortes establecidos por el CLSI (2024) en el documento M-100.

Ragab *et al.* (2020) mencionan que los extractos de plantas naturales es una forma alternativa segura y aceptable que reemplaza los antibióticos sin riesgo de transmisión de resistencia a los antimicrobianos a humanos o animales. Así mismo Santos *et al.* (2019) sugieren usar una combinación de un antibiótico y un extracto vegetal, ya que se podría maximizar los componentes bioactivos antimicrobianos del extracto vegetal y reducir la dosis requerida del antimicrobiano. Sin embargo, los resultados del antibiograma del extracto vegetal versus a la enrofloxacin sugieren que el extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) puede inhibir mejor el crecimiento bacteriano de *Salmonella entérica* ATCC 13076, de forma in vitro, estableciéndose como una alternativa para mitigar la generación y transmisión de mecanismos de resistencia.

#### **4.1.3. Porcentaje inhibitorio relativo de los tratamientos propuestos frente a *Salmonella entérica* ATCC 13076.**

**Tabla 12.**

*Resultado del porcentaje inhibitorio de los tratamientos planteados frente a *Salmonella entérica* ATCC 13076.*

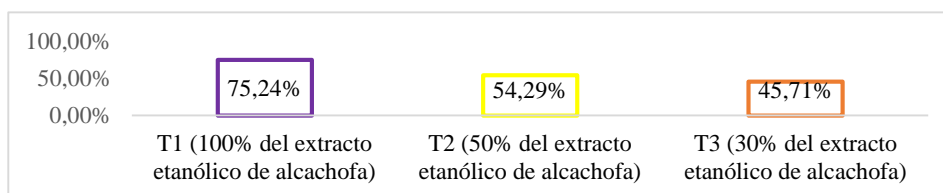
<b>Tratamientos</b>	<b>Porcentaje inhibitorio</b>
<b>T1</b> (100% del extracto etanólico de alcachofa)	75.24%
<b>T2</b> (50% del extracto etanólico de alcachofa)	54.29%
<b>T3</b> (30% del extracto etanólico de alcachofa)	45.71%

Mediante el porcentaje inhibitorio relativo de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de alcachofa, se evidenció que el T1 obtuvo un 75.24% de inhibición, el cual permitió evidenciar que dicha concentración posee una alta actividad antibacteriana, siguiéndole el T2 el mismo que obtuvo un 54.29% de inhibición, permitiendo inferir que dicha concentración tiene una actividad antibacteriana intermedia y finalmente el T3 obtuvo un 45.71% de inhibición,

interpretando que esta concentración posee una baja actividad antibacteriana contra *Salmonella entérica* ATCC 13076.

**Figura 3.**

*Porcentaje inhibitorio de los extractos etanólicos de la alcachofa frente a Salmonella entérica ATCC 13076.*



Shallan *et al.*, (2020) reportaron la actividad antimicrobiana in vitro de las bractas y receptáculos de alcachofa frente a *Salmonella entérica*, quienes obtuvieron un porcentaje inhibitorio del 45.56% (11.3/24.8). Comparativamente se difiere de lo citado debido a que en las concentraciones del 100% y 50% el porcentaje inhibitorio fue mayor, sin embargo, los hallazgos en la concentración del 30% en dicho parámetro se asemejan a los de la investigación citada.

**4.1.4. Análisis estadístico de la cinética de crecimiento de *Lactobacillus sp* mediante la suplementación con extracto etanólico de la alcachofa.**

**Tabla 13.**

*Análisis estadísticos de la absorbancia de los tratamientos sobre la cinética de crecimiento de Lactobacillus sp mediante espectrofotometría.*

Medición	T1	T2	T3	T4	T5	T0	Pr. F	CV
0	0.018 <sup>e</sup>	0.028 <sup>d</sup>	0.036 <sup>c</sup>	0.053 <sup>b</sup>	0.061 <sup>a</sup>	0.013 <sup>f</sup>	<.0001	9.36%
2	0.028 <sup>e</sup>	0.038 <sup>d</sup>	0.061 <sup>c</sup>	0.080 <sup>b</sup>	0.101 <sup>a</sup>	0.021 <sup>f</sup>	<.0001	5.28%
4	0.046 <sup>e</sup>	0.055 <sup>d</sup>	0.070 <sup>c</sup>	0.099 <sup>b</sup>	0.108 <sup>a</sup>	0.041 <sup>e</sup>	<.0001	6.45%
6	0.059 <sup>e</sup>	0.074 <sup>d</sup>	0.079 <sup>c</sup>	0.107 <sup>b</sup>	0.114 <sup>a</sup>	0.056 <sup>e</sup>	<.0001	4.42%
8	0.096 <sup>de</sup>	0.104 <sup>d</sup>	0.115 <sup>c</sup>	0.145 <sup>b</sup>	0.160 <sup>a</sup>	0.089 <sup>e</sup>	<.0001	5.44%
10	0.137 <sup>e</sup>	0.171 <sup>d</sup>	0.193 <sup>c</sup>	0.221 <sup>b</sup>	0.251 <sup>a</sup>	0.107 <sup>f</sup>	<.0001	3.19%
14	0.148 <sup>e</sup>	0.172 <sup>d</sup>	0.205 <sup>c</sup>	0.227 <sup>b</sup>	0.258 <sup>a</sup>	0.148 <sup>e</sup>	<.0001	2.54%
16	0.163 <sup>e</sup>	0.191 <sup>d</sup>	0.213 <sup>c</sup>	0.229 <sup>b</sup>	0.265 <sup>a</sup>	0.196 <sup>d</sup>	<.0001	2.44%
18	0.191 <sup>e</sup>	0.203 <sup>de</sup>	0.221 <sup>c</sup>	0.237 <sup>b</sup>	0.283 <sup>a</sup>	0.211 <sup>cd</sup>	<.0001	519%
20	0.155 <sup>e</sup>	0.187 <sup>d</sup>	0.190 <sup>d</sup>	0.232 <sup>b</sup>	0.314 <sup>a</sup>	0.208 <sup>c</sup>	<.0001	4.35%
22	0.150 <sup>d</sup>	0.179 <sup>c</sup>	0.186 <sup>c</sup>	0.205 <sup>b</sup>	0.299 <sup>a</sup>	0.207 <sup>b</sup>	<.0001	2.60%

24	0.136 <sup>f</sup>	0.151 <sup>e</sup>	0.159 <sup>d</sup>	0.191 <sup>c</sup>	0.294 <sup>a</sup>	0.205 <sup>b</sup>	<.0001	2.98%
----	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------	-------

*Nota.* <.001: diferencias estadísticas altamente significativas (\*\*). Medias cubiertas por la misma letra (resaltadas de color celeste) no son significativamente diferente.

Mediante el análisis estadístico de la prueba de F, podemos determinar que existió diferencias estadísticas altamente significativas (\*\*) entre las concentraciones del extracto sobre la cinética de crecimiento de *Lactobacillus* sp, es decir que entre mayor sea la concentración del extracto etanólico de la alcachofa se optimiza el crecimiento de dicha bacteria probiótica. Mediante el análisis de Duncan al 5% como comparativa de los promedios, podemos determinar que el T5 obtuvo la mayor absorbancia durante las primeras 24 horas, lo que es correlacionado con mayor población bacteriana, siguiéndole el T4, el que expresó mayor absorbancia hasta las 20 horas después de la inoculación, posteriormente se observo una caída en dicha medición.

Al comparar los promedios del T3, T2 y T1 versus T0, podemos observar que después de 4 horas de incubación el promedio de tratamiento testigo (T0) era estadísticamente igual al T1, adicionalmente a las 14, 16 y 18 expresaron igualdad entre los promedios del T2 y T3, a su vez se pudo observar que a las 22 horas de incubación los promedios entre el T0 y el T4 fueron estadísticamente igual, Finalmente el tratamiento testigo no logró compartir promedios entre el T5 por un lapso de 24 horas de incubación.

Olas (2024) sobre su análisis de la versatilidad de la alcachofa (*Cynara scolymus*) menciona que uno de los componentes importante de la *Cynara scolymus* es la inulina, el cual tiene un efecto prebiótico y estimula el crecimiento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, también contiene sesquiterpenos, cariofileno, triterpenos de hidroxilo, luteolina.

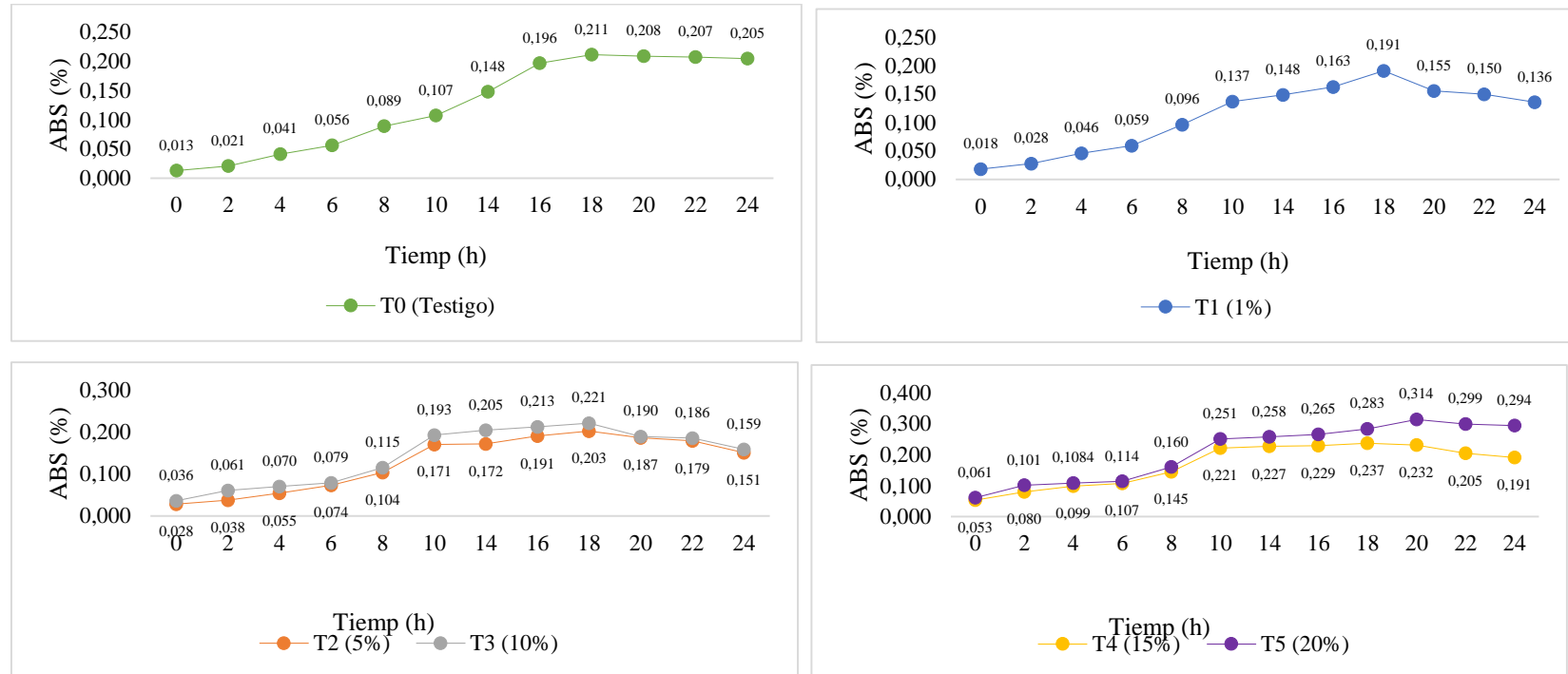
Así mismo Napoli *et al.* (2023) en su estudio sobre las propiedades benéficas para la salud, mencionan que la inulina de cadena larga de la alcachofa potencializó el crecimiento de *Lactobacillus paracasei*, además menciona la gran cantidad de compuesto fenólico le atribuyen el efecto antioxidante y mejora la salud y viabilidad de microorganismos probióticos. De tal modo, se concuerda con los resultados de los autores citados anteriormente, ya que se observó un notable

crecimiento de la bacteria en estudio en relación con el testigo. Es decir que la alcachofa promueve el crecimiento de bacterias benéficas.

**4.1.5. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus* sp., suplementado con diferentes concentraciones del extracto etanólico de alcachofa.**

**Figura 4.**

*Cinética de crecimiento de Lactobacillus sp., suplementado con el extracto etanólico de alcachofa en el medio de cultivo.*



Nota. Se utilizó el medio de cultivo *Lactobacilli* MRS Broth.

Mediante espectrofotometría se logró evidenciar que *Lactobacillus* sp, al recibir una suplementación del 1% (T1), 5% (T2), 10% (T3), 15% (T4) y 20% (T5) del extracto de la alcachofa (*Cynara scolymus*), se acortó su periodo de latencia, mientras que el periodo exponencial fue alargado, es decir que en menor tiempo de incubación las bacterias empezaron a multiplicarse en mayor medida encontrando mayor carga bacteriana en relación con el testigo, la fase estacionaria se logró después de 10 horas de incubación versus al T0 que se logró alrededor de las 16 horas, sin embargo, después de las 18 horas de incubación se expresó la fase de muerte o declive para los T1, T2, T3 y T4, no obstante para el T5 se evidenció la fase de muerte después de las 20 horas de incubación.

Holgado *et al.* (2022) en su investigación sobre la evaluación del potencial prebiótico del subproducto de la alcachofa, metodológicamente estableció el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* aislados de heces, los cuales fueron suplementado con extracto de alcachofa al 100%, encontrando que las colonias suplementadas con la alcachofa obtuvieron al menos 2 log UFC (0.90% absorbancia) versus al testigo, concluyendo que el aumento bacteriano incrementa la producción de ácidos grasos de cadena corta, ácido láctico y la absorción de sustrato lo que le atribuye propiedades prebióticas a la alcachofa.

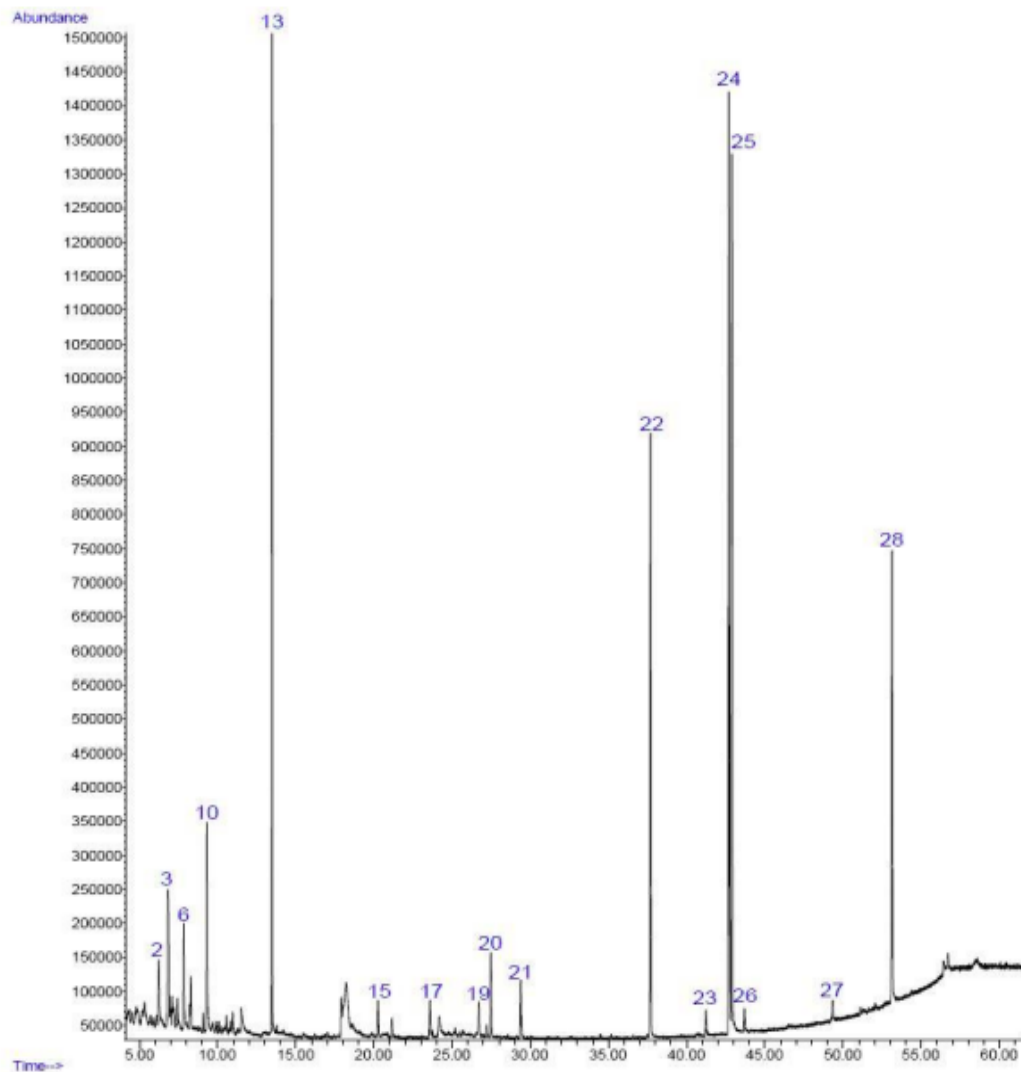
Rattanakiat *et al.* (2020) en su investigación sobre la actividad prebiótica de polisacáridos de alcachofa, en donde suplementaron medios de cultivos a una concentración de 0.5%, 1% y 2% y fueron estudiadas el porcentaje de absorbancia por espectrofotometría con un longitud de onda de 600 nm durante 84 horas, determinaron que los cultivo de *Lactobacillus acidophilus* suplementados con alcachofa a las 24 horas expresaron la mayor absorbancia en relación a los tratamientos suplementados solo con glucosa, considerando que la concentración del 2% expresó valores de 0.200, lo que positivamente permitirá un aumento en la producción de ácido acético, que tiene actividad antimicrobiana y beneficios para la salud.

Al comparar los resultados obtenidos, podemos determinar que el extracto etanólico de alcachofa promueve el crecimiento bacteriano de *Lactobacillus* sp, pudiendo considerarse como una nueva alternativa prebiótica.

#### 4.1.6. Estudio de los compuestos volátiles del extracto etanólico de alcachofa mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas.

**Figura 5.**

*Cromatograma de los compuestos volátiles del extracto etanólico de la alcachofa mediante cromatografía de gases- espectrometría de masa (GC-MS)*



Mediante cromatografía de gases con espectro de masa (GC-MS) se procesó el extracto etanólico de la alcachofa macerado por 72 horas, donde se identificaron 28 compuestos volátiles de importancia, observando en la figura 5 los picos de dichos biocomponentes, destacando con color azul los compuestos de mayor tiempo de retención a la hora del análisis.

**Tabla 14.**

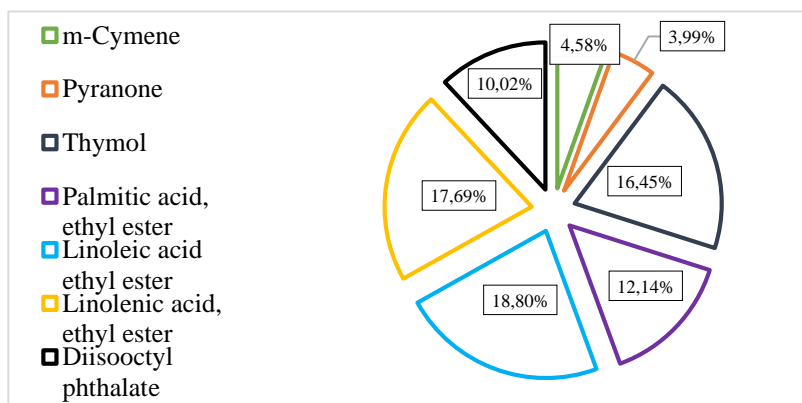
Resultados del análisis de cromatografía de gases con espectrometría de masa (GC-MS) de los compuestos volátiles del extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) macerado por 72 horas.

N°	Compuesto	Tiempo de retención (min.)	Área (%)
3	m-Cymene	6.831	4.58
10	Pyranone	9.300	3.99
13	Thymol	13.480	16.45
22	Palmitic acid, ethyl ester	37.681	12.14
24	Linoleic acid ethyl ester	42.706	18.8
25	Linolenic acid, ethyl ester	42.891	17.69
28	Diisooctyl phthalate	53.127	10.02

Los resultados de la cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS), determinó que la mayor área de los compuestos identificados lo representaron el ácido linoleico ( $C_{20}H_{36}O_2$ ) y ácido linolénico ( $C_{20}H_{34}O_2$ ) con un 18.8% y 17.69% respectivamente, siguiéndole el Timol ( $C_{10}H_{14}O$ ) con un 16.45%, continuando el ácido palmítico ( $C_{18}H_{36}O_2$ ) representado por un 12.14%, posteriormente el falato de diisooctilo ( $C_{24}H_{38}O_4$ ) con una área de 10.02%, m-Cymene ( $C_{10}H_{14}$ ) con un 4.58%, Pyranone ( $C_5H_4O_2$ ) con un área de 3.99%, finalmente los otros compuestos que se encuentran en menor proporción y representan el 16.15%, de los cuales se destaca linalool, Caryophyllene,  $\beta$ -Selinene, Benceno, fitol, etc.

**Figura 6.**

Porcentaje de los compuestos volátiles de mayor área del extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) macerado por 72 horas.



Chaghaby & Heba (2022), en su investigación sobre las propiedades antioxidante, antimicrobiana y anticancerígenas del extracto de alcachofa, analizaron los compuestos volátiles presente en el extracto mediante GC-MS, quienes revelaron su riqueza en fenoles, flavonoides y vitaminas, de los cuales destacan, timol, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido gentísico, licopeno, algunos sesquiterpenos como el selinine, el cual les otorga la actividad antimicrobiana y antioxidante, ya que obtuvo halos de inhibición de 17 milímetros en las pruebas de susceptibilidad contra *Salmonella* sp. Comparativamente son resultados similares a los encontrados en la presente investigación, sin embargo, se logró identificar diferentes fitocompuestos.

Aziz *et al.* (2020) mencionan que los ácidos grasos contribuyen tanto en procesos benéficos como patológicos, ya que producen metabolitos biológicamente activos, incluso están relacionados con la microbiota intestinal, sin embargo, en la actualidad sugieren que algunos ácidos grasos poliinsaturados inhiben el crecimiento bacteriano, ya que son tóxicos y pueden bloquear la síntesis de ácidos grasos nativos mediante la inhibición de la enoil-ACP reductasa, algunas bacterias benéficas como los *Lactobacillus* han desarrollado un mecanismo de desintoxicación y son capaces de hidrogenar enzimáticamente los ácidos grasos poliinsaturados reduciendo el doble enlace de carbono, es decir biohidrogenación, lo que conlleva a producir ácidos grasos saturados no tóxicos como producto final que se utiliza como un nutriente por parte de dicha bacteria.

Kankaanpää *et al.* (2004) en su investigación acerca de los ácidos grasos poliinsaturados sobre el crecimiento de lactobacilo, mencionan que las bacterias probióticas (*Lactobacillus* sp) en el cultivo con varios ácidos grasos de cadena larga favorecen la adhesión microbiana a las superficies intestinales, provocando algunos mecanismos de acción como; fuerzas pasivas, fuerzas hidrofóbicas y esteáricas, estructuras específicas, como ácidos lipoteicoicos, lectinas y polímeros extracelulares, , además, de la actividad antibacteriana que tiene estos ácidos grasos de cadena larga, se evidenció que la microflora autóctona pueden reajustar el medio de ácidos grasos dentro del intestino y el delicado equilibrio de los mediadores inflamatorios, un indicativo de que los probióticos podrían aliviar la inflamación intestinal al atacar de una bacteria patógena oportunista.

Knapp & Melly (1986) mencionan que los ácidos grasos inhiben a las bacterias Gram negativa mediante la condensación citoplasmática por la saturación de los ácidos grasos de cadena larga tóxicos, mientras que algunas bacterias probióticas tienen la capacidad de desintoxicación y convertirlo en productos nutritivos.

Hajibonabi *et al.* (2023) mencionan que el timol es un compuesto fenólicos del grupo terpenoide, el cual posee actividad antioxidante, recientemente existen reportes sobre el aumento de leucocitos en sangre que promueve el desarrollo de la inmunidad humoral, también, posee actividad antimicrobiana al ejercer un aumento en la permeabilidad de la membrana celular, lo que provoca fuga de componente fundamentales para la vida de la bacteria, provocando su autólisis.

Huang *et al.* (2021) investigaron las fuentes naturales y las actividades biológicas Diisooctyl phthalate, que es un derivado del ácido ftálico, usados por décadas en la industria de fabricación de plásticos, productos cosméticos y productos de cuidados personal, sin embargo, algunos artículos revelan que fueron detectados en diferentes partes de diversas plantas (hojas, tallos, flores, etc.), de las cuales se destacan las *Asteraceae*, perteneciente la alcachofa con una relación desde el 1% al 32%, además describen que Diisooctyl phthalate poseen actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*) y bacterias Gram-negativas (*E. coli*, *K. pneumoniae*).

Comparativamente podemos destacar lo positivo de los resultados obtenidos en la presente investigación, ya que el extracto etanólico de la alcachofa tiene propiedades antioxidantes, antimicrobiana y nutracéticas, destacando que en su mayor porcentaje posee ácidos grasos de cadena larga (C<sub>20</sub>) los cuales promueven el crecimiento de *Lactobacillus* sp, considerados como probióticos o flora autóctona del intestino de los mamíferos, además también posee propiedades antibacteriana ya que el extracto en estudio es rico en flavonoides, terpenos, sesquiterpenos y un derivado del ácido ftálico, los cuales actúan sobre la permeabilidad de la membrana bacteriana provocando la muerte de ciertas especies, así mismo se destaca que el extracto de la alcachofa se podría usarse como una alternativa fitofarmacológica para mitigar la resistencia antimicrobiana y potencializar el uso de bacterias benéficas.

## 4.2. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad, con evidencia de las medidas de los halos de inhibición permitió observar que al provocar la interacción de los extractos etanólicos de la alcachofa en concentraciones del 100%, 50% y 30%, como fuente de inhibición de *Salmonella enteritidis* ATCC® 13076™, las áreas de inhibición en la totalidad de los análisis fueron mayores a 8 mm, considerando que esta categorización se la hizo en base a la escala de sensibilidad propuesta por Duraffourd *et al.* (1897) para un fitofármaco, de tal modo se reporta que estas concentraciones fueron suficientes para provocar medidas de halos mayores al establecido para categorizar a una cepa como sensible.

Adicionalmente, la influencia del extracto etanólico de la alcachofa en bajas concentraciones aplicadas al 1% (T1), 5% (T2), 10% (T3), 15% (T4) y 20% (T5) infirieron sobre el crecimiento de *Lactobacillus* spp., determinado mediante la técnica de espectrofotometría cada dos horas, lo que permitió graficar la curva de crecimiento en función al porcentaje de absorbancia (%ABS) a partir de cultivos inoculados con dicha bacteria, permitiendo establecer que a la concentración del 20% las bacterias benéficas como los *Lactobacillus* spp., crecen de forma más eficiente.

Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la nula, la misma que se planteó de la siguiente forma; Existe actividad antimicrobiana del extracto etanólico de alcachofa sobre *Salmonella entérica* ATCC® 13076™ con halos > 8 mm y su efecto favorece en el crecimiento del *Lactobacillus* spp.

## CAPÍTULO V.

### 5.1. CONCLUSIONES

Existió diferencias estadísticas altamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre los tratamientos planteados, debido a que el extracto etanólico de la alcachofa (*Cynara scolymus*) en las concentraciones del 100% (T1), 50% (T2) y 30% (T3) expresaron actividad antimicrobiana contra *Salmonella entérica* ATCC 13076, evidenciándose halos  $> 8$  mm, sin embargo, al analizar el porcentaje inhibitorio relativo, nos demuestra que solo la concentración del 100% expresó tener una alta actividad antibacteriana.

En la cinética de crecimiento de *Lactobacillus* sp, existió diferencias estadísticas altamente significativas ( $p < 0.01$ ) evidenciando que al incorporar una proporción del 1%, 5%, 10%, 15% y 20% del extracto etanólico de la alcachofa, la fase exponencial es alcanzada en menor tiempo de incubación, debido a que propicia una rápida multiplicación bacteriana en menor tiempo, además se observó que la concentración del 20% favorece dicho crecimiento aún después de 20 horas de incubación.

Mediante el ensayo de cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS), se determinó que el extracto etanólico de la alcachofa es rico en ácidos grasos de cadena larga (linoleico y linolénico), seguido por flavonoides, terpenos, sesquiterpenos, a los que se les atribuye la actividad antimicrobiana contra *Salmonella entérica* ATCC 13076, además, la determinación de estos compuesto permite comparar nuestro trabajo experimental con investigaciones de alto impacto donde reportan que estos compuestos favorecen el crecimiento de bacterias benéficas productoras de ácido láctico como *Lactobacillus* spp.

## 5.2. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante la técnica de difusión de disco del extracto etanólico de la alcachofa con otros géneros bacterianos relevantes para la salud pública.

Medir el efecto antibacteriano de un cultivo de *Lactobacillus* sp, suplementado con el extracto etanólico de la alcachofa.

Usar la concentración del 100% para inhibir el crecimiento de *Salmonella entérica* ATCC 13076.

Evaluar por ensayos cromatografía la cinética de producción de ácido láctico por parte de *Lactobacillus* sp, suplementados con el 20% del extracto etanólico de la alcachofa.

Estudiar el efecto antimicrobiano de los ácidos grasos de cadena larga presente en la alcachofa sobre bacterias patógenas (*Salmonella* sp. y *Escherichia coli*) y su influencia sobre la cinética de crecimiento.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abushaheen, M., Fatani , A., Alosaimi, M., Mansy , W., George , M., Acharya , S., & Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial Resistances, Mechanisms And Its Clinical Significance. *Disease-1-Month*, 66(6), pp. 100971.
- Aguirre, O., Rodríguez, M., & Amaya, C. (2019). Aprovechamiento De Los Residuos Del Cultivo De Alcachofa (*Cynara scolymus*) Para El Desarrollo De Harinas Ricas En Antioxidantes. *Investigación Y Desarrollo En Ciencias Y Tecnologia De Alimentos*, 4, pp. 873-877.
- Ali, M., Shallan, M., Meshrf, W., & Marrez, D. (2021). Phenolic Constituents, Antioxidant And Antimicrobial Activities Of Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Aqueous Extracts. *Tropical Journal Of Natural Product Research*, 5(11), pp. 1986-1994.
- Alvarado, B., & Reyes, Q. (2021). Elaboración De Embutidos De Pasta Gruesa Enriquecido Con Alcachofa (*Cybara scolymus*) Y Ortiga (*Urtica dioica*). Tesis de pregrado. Universidad de Guayaquil.
- Andreo, P., García, N., & García, S. (2021). Efecto Prebiótico De La Alcachofa Y Su Relación Con Las Enfermedades Mentales. *Revista de Discapacidad Clínica y Neurociencias*. 7(1), pp. 20.
- Arias, E. (2022). Avances En Maduración Y Poscosecha De Frutas Y Hortalizas. Tesis de Pregrado. Universidad Zaragoza.
- Aziz, T., Sarwar, A., Fahim, M., Al-Dalali, S., Din, Z., Din, J., Yang, Z. (2020). Conversion Of Linoleic Acid To Different Fatty Acid Metabolites By *Lactobacillus plantarum* 13-3 And In Silico Characterization Of The Prominent Reactions. *J. Chil. Chem. Soc.*, 65(3), 4879-4884.
- Badke, M., Cogo, S., Ilha, A., Heisler, E., Schimith, M., & Sacramento, H. (2019). Panorama Brasileiro Dos Serviços De Plantas Mediciniais E Fitoterápicos. *Revista De Enfermagem Da Ufsm*, 9, pp E64.
- Bilbao, G., Malena, R., Passucci, J., De Almeida, A., Paolicchi, F., Soto, P., & Monteavaro, C. (2019). Detección De Serovares De *Salmonella* En Terneros De Crianza Artificial De La Región Lechera Mar Y Sierras, Argentina. *Revista Argentina De Microbiología*, 51(3), pp. 241-246.

- Borges, C., & Weber, L. (2022). Salmonella Em Frangos E Sua Relação Como Doença Veiculada Por Alimentos: Revisão Bibliográfica. *Arquivos Brasileiros De Medicina Veterinária Fag*, 5(1), pp. 8-16.
- Carvajal, C., Zavala, A., Ortiz, I., & Pincay, G. (2019). Síndrome Diarreico Infeccioso Causado Por *Samonella* spp. *Recimundo*, 3(3), pp. 493-508.
- Castañeda, E., & Sánchez, L. (2016). Evaluaciôn Del Crecimiento De Cuatro Especies Del Género *Bacillus* sp., Primer Paso Para Entender Su Efecto Biocontrolador Sobre Fusarium so. *Estrella Nueva*, 14(26), pp. 53-62.
- Castro, R., Herrera , M., Rodríguez R, & Rondón , I. (2020). Antibiotic Resistance In Salmonella Spp. Isolated From Poultry: A Global Overview. *Veterinary World*, 13(10), pp. 2070.
- Chaghaby, G., & Heba, S. (2022). Antioxidant, Antimicrobial, And Anticancer Properties Of Silver Nanoparticles Biosynthesize Using Artichoke Waste Extract. *Kuwait J.Sci.*, 49(3), pp. 1-13.
- Clsi. (2024). Performace Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing, 34th Edition. *CLSI*, M100-Ed34.
- Costa, L., Da Silva, F., Lima, L., & Ribeiro, A. (2021). Potogenicidade Da *Salmonella* spp. E Os Mecanismos De Escape Inmunológico À Luz Das Evidências Da Literatura Emergente. *Revista Multidisciplinar Em Saúde*, 2(2), pp. 79.
- Darby, E., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M., Alav, I., Webber, M., & Blair, J. (2023). Molecular Mechanisms Of Antibiotic Resistance Revisited. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), pp. 280-295.
- Dashtbanei, S., & Keshtmand, Z. (2023). Una Mezcla De Probióticos De Múltiples Cepas (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacilus casei*) Tuvo Efecto Antiinflamatorios, Antiapoptóticos Y Antioxidantes En Las Lesiones Oxidativas Inducidas Por Cadmio En El Intestino Delgado Y P. *Probióticos y Proteínas Antimicrobianas*, 15(2), pp. 226-238.
- Diep, B., Barretto, C., Portmann, A., Fournier, C., Karczmarek, A., Voets, G., & Klijn, A. (2019). *Salmonella serotyping*; Comparison Of The Traditional Method To A

- Microarray-Based Method And An In Silico Platform Using Whole Genome Sequencing Data. *Frontiers In Microbiology*, 10, pp. 2554.
- Duar, R., Lin, X., Zheng, J., Martino, M., & Grenier, T. (2017). Lifestyles In Transition: Evolution And Natural History Of The Genus *Lactobacillus*. *Fems Microbiol Rev*, 41, pp. 27-48.
- Duraffourd, C., Lapraz, J., & Hervicourt, L. (1987). Cuaderno De Fitoterapia Clínica. España: Masson.
- El-Hack, M., El-Saadony, M., Shafi, M., Alshahrani, O., Saghir, S., Al-Wajeeh, A., Abdel-Moneim, A. (2021). Prebiotics Can Restrict *Salmonella* Populations In Poultry: A Review. *Animal Biotechnology*, 33(7), pp. 1668-1677.
- Eloff, J. (2019). Avoiding Pitfalls In Determining Antimicrobial Activity Of Plant Extracts And Publishing The Results. *Bmc Complementary Medicine And Therapies*, 19(1), pp. 1-8.
- Eslami, M., Yousefi, B., Kokhaei, P., Moghadas, A., Moghadam, B., Arabkari, V., & Niazi, Z. (2019). Are Probiotics Useful For Therapy Of Helicobacter Pylori Diseases?. *Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases*, 64, pp. 99-108.
- Ferrari, R., Rosario, D., Cunha, A., Mano, S., Figueiredo, E., & Conte, C. (2019). Worldwide Epidemiology Of *Salmonella* Serovars In Animal-Based Foods: A Meta-Analysis. *Appl Environ Microbiol*, 85(14), 1 -19.
- García, E., & Solís, I. (2021). Manual De Fitoterapia. Elsevier Health Science.
- García, L., Puerta, E., & Casadesús, J. (2019). Bistability And Phase Variation In *Salmonella enterica*. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 1862(7), pp. 752-758.
- Hajibonabi, A., Yekani, M., Sharifi, S., Sadri, J., Dizaj, S., & Memar, M. (2023). Antimicrobial Activity Of Nanoformulations Of Carvacrol And Thymol: New Trend And Applications. *Opennano*, 13, pp. 100170.
- Holgado, F., Campos, G., Heras, C., & Rupérez, P. (2022). Assessment Of The Prebiotic Potential Of Globe Artichoke By-Product Through In Vitro Fermentation By

- Human Faecal Microbiota. *Bioactive Carbohydrates And Dietary Fibre*, 28, pp. 100328.
- Huang, L., Zhu, X., Zhou, S., Cheng, Z., Shi, K., Zhang, C., & Shao, H. (2021). Phthalic Acid Esters: Natural Sources And Biological Activities. *Toxins*, 13(7), pp. 495.
- Jaimés, C., Torres, M., & González, A. (2022). Biomarcadores Moleculares Del Género *Salmonella* Aislada En Alimentos. *Revista Científica Salud Uninorte*, 38(3), pp. 858 - 874.
- Jamshidi, M., Ranjbar, A., Khazalpour, S., Dastan, D., Vakili-Azghandi, M., Torabi, S., Sedaghat, M. (2021). Characterization, Electrochemical Detection, Biological Evaluation And Molecular Modelling Of 1,5-Di-O-Caffeoylquinic Acid From Artichoke (*Cynara scolymus L.*) Head Extract. *Journal Of The Electrochemical Society*, 168(1), pp. 016509.
- Jeong, J., Park, H., Cha, M., Park, E., Won, S., Ganesan, R., Suk, K. (2022). The *Lactobacillus* As A Probiotic: Focusing On Liver Diseases. *Microorganisms*, 10(2), pp. 288.
- Kankaanpää, P., Yang, B., Kallio, H., Isolauri, E., & Salminen, S. (2004). Effects Of Polyunsaturated Fatty Acids In Growth Medium On Lipid Composition And On Physicochemical Surface Properties Of *Lactobacill*. *Applied And Environmental Microbiology*, 70(1), pp. 129 - 136.
- Kewalramani, A., & Chandi, D. (2021). Anti-Microbial Resistance: A Major Global Issue. *Journal Of Pharmaceutical Research International*, 33(60), pp. 3115-3121.
- Knapp, H., & Melly, A. (1986). Bactericidal Effects Of Polyunsaturated Fatty Acids. *The Journal Of Infectious Disease*, 154(1), pp. 84-95.
- Knodler, L., & Elfenbein, J. (2019). *Salmonella enterica*. *Trends Microbiol*, 27(11), pp. 964-965.
- Lamas, A., Miranda, J., Regal, P., Vázquez, B., Franco, C., & Cepeda, A. (2018). A Comprehensive Review Of Non-Enterica Subspecies Of *Salmonella enterica*. 2017, 206(1), pp. 60-73.

- López, A., & Aguilera, M. (2020). Probiotics Dietary Supplementation For Modulating Endocrine And Fertility Microbiota Dysbiosis. *Nutrients*, 12(3), pp. 757.
- Lustosa, A., Monteiro, B., Da Silva, L., Dos Santos, M., Nery, S., Brito, M., & Oliveira, G. (2021). Aspectos Generales De Infecciones Por Bacterias Del Género Salmonela Un Problema De Salud Pública Y Animal. *Investigación, Sociedad Y Desarrollo*, 10(4), pp. 1-8.
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*, 10(10), pp. 1310.
- Mcmillan , E., Jackson , C., & Frye, J. (2020). Transferable Plasmids Of Salmonella Enterica Associated With Antibiotic Resistance Genes. *Frontiers In Microbiology*, 11, pp. 562181.
- Medina, M., Hartinger, S., Salmón, G., Larson, A., Riverso, M., & Mausezahl, D. (2021). Antimicrobial Resistance In Rural Setting In Latin American: A Scoping Review With A One Health Lens. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 18(18), pp. 9837.
- Mejía, D., Salvatierra, G., Maximiliano, J., Rímac, R., Carhuaricra, D., Almeida, M., & Maturrano, L. (2019). Expresión De Citoquinas Th1 (Il-2, Il-12, Ifn- $\Gamma$ , Tnf-A), Th2 (Il-4, Il-10, Tgf-B) Y Th17 (Il-17) En Linfocitos Circulantes De Cuyes Inoculados Con Una Cepa De Campo De *Salmonella typhimurium*. *Revista De Investigación Veterinarias Del Perú*, 30(4), pp. 1750-1761.
- Monllor, G. (2021). Valorización Del Subproducto De Brócoli (*Brassica oleracea*, Var Italica) Y Del Subproducto Y La Planta De Alcachofa (*Cynara scolymus*) Para Alimentación De Cabras Murciano-Granadinas.
- Montoya, D., López, I., Quiroz, C., & Cuevas, O. (2022). Supervivencia De *Escherichia coli* y *Salmonella thyphimurium* En Agua Recreativa De Rio. Ra Ximhai: *Revista Científica De Sociedad, Cultura Y Desarrollo Sostenible*, 18(4), pp. 201-217.
- Napoli, A., Germani, F., Da Silva, S., Senatori, L., Parisi, F., & Zucchetti, P. (2023). Artichoke (*Cynara scolymus L.*): A Review Of Its Health-Promoting Properties. *Ess Open Archive*, pp. 19.

- Olas, B. (2024). An Overview Of The Versatility Of The Parts Of The Globe Artichoke (*Cynara scolymus L.*), Its By-Products And Dietary Supplements. *Nutrients*, 16(5), pp. 599.
- Pabón, L. C., Vanegas J, Rendón M R, R, S., & P., H. (2013). Actividad Antioxidante Y Antibacteriana De Extractos De Hojas De Cuatro Especies Agroforestales De La Orinoquía Colombiana. *Revista Cubana De Plantas Medicinales.*, 18(1), pp. 57-70.
- Parra, J., Bartual, J., García, J., & Ortiz, M. (2022). Estudio Agronómico De Cultivares De Alcachofa (*Cynara scolymus L*) Procedentes De Semilla. *XLVIII Seminario De Técnicos Y Especialistas En Horticultura*, pp. 417-426.
- Peña, Y., Hernández, M., & Castillo, V. (2014). Resistencia Antimicrobiana En Salmonella Y E. Coli Aisladas De Alimentos: Revisión De La Literatura. Panorama. *Cuba Y Salud*, 6(1), pp. 30-38.
- Pulingam , T., Parumasivam , T., Gazzali, A., Sulaiman , A., Chee, J., Lakshmanan, M., & Sudesh , K. (2022). Antimicrobial Resistances: Prevalence, Economic Burden, Mechanisms Of Resistances And Strategies To Overcome. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 170, pp. 106103.
- Quesada, A., Reginatto, G., Ruiz, E., Colantonio, L., & Burrone, M. (2016). Resistencia Antimicrobiana De Salmonella Spp Aisladas De Alimentos De Origen Animal Para Consumo Humano. *Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública*, 33, pp. 32-44.
- Ragab, E., Badr, H., Abuelkheir, A., & Enbaawy, M. (2020). The Effectiveness Of Methanolic Extracts Of Five Plants On Different Salmonella Isolates. *Int J Vet Sci.*, 9(3), pp. 379-384.
- Ramírez, A., Márquez, M., & Alejo, F. (2019). Identificación Bioquímica De Los Diversos Tipo De Salmonella En El Área Natural Protegida "Las Musas" En Manuel Doblado, Guanajuato. *Jovenes En La Ciencias*, 6, pp. 1-12.
- Ramírez, L., & Díaz, H. (2007). Actividad Antibacteriana De Extractos Y Fracciones Del Ruibarbo (*Rumex conglomeratus*). *Scientia Et Technica*, 1(33), pp. 397-400.
- Rattanakiat, S., Pulbutr, P., Khunawattanakul, W., Sungthong, B., & Saramunee, K. (2020). Prebiotic Activity Of Polysaccharides Extracted From Jerusalem Artichoke

- Tuber And Development Of Prebiotic Granules. *Pharmacognosy Journal*, 12(6), pp. 1402-1411.
- Romo, H., & Pazin, A. (2022). Towards Implementing An Antibiotic Stewardship Programme (Asp) In Ecuador: Evaluating Antibiotic Consumption And The Impact Of An Asp In A Tertiary Hospital According To World Health Organization (Who) Recommendations. *Journal Of Global Antimicrobial Resistance*, 29, pp. 462-467.
- Salem, M., Affes, H., Ksouda, K., Dhouibi, R., Sahnoun, Z., Hammami, S., & Mounir, K. (2015). Pharmacological Studies Of Artichoke Leaf Extract And Their Health Benefits. *Plant Foods Hum Nutr.*, 70(4), pp. 41-53.
- Santos, P., Widmer, K., & Rivera, W. (2020). Pcr-Based Detection And Serovar Identification Of *Salmonella* In Retail Meat Collected From Wet Markets In Metro Manila, Philippines. *Plos One*, 15(9), pp. E0239457.
- Santos, S., Martins, C., Pereira, C., Silvestre, A., & Rocha, S. (2019). Current Challenges And Perspectives For The Use Of Aqueous Plant Extracts In The Management Of Bacterial Infections: The Case-Study Of *Salmonella enterica* Serovars. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(4), pp. 940.
- Serrano, A., Calderón, J., & Pascual, I. (2022). Infección Por *Salmonella* Y *Yersinia*. *Medicine-Programa De Formación Médica Continuada Acreditado*, 13(51), pp. 2981-2991.
- Shallan, M., Ali, M., Meshrf, W., & Marrez, D. (2020). In Vitro Antimicrobial, Antioxidant And Anticancer Activities Of Globe Artichoke (*Cynara cardunculus* Var. *scolymus* L.) Bracts And Receptacles Ethanolic Extract. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 29(101774), pp. 1-8.
- Shang, T., Ye, Q., Wu, Q., Pang, R., Xiang, X., Wang, C., & Zhang, J. (2021). Pcr Identification Of *Salmonella* Serovars For The E Serogroup Based On Novel Specific Targets Obtained By Pan-Genome Analysis. *LWT*, 145, pp. 110535.
- Sotoudegan, F., Daniali, M., Hassani, S., Nikfar, S., & Abdollahi, M. (2019). Reevaluación De La Seguridad De Los Probióticos En Humanos. *Toxicología Alimentaria Y Química*, 129, pp. 22-29.

- Teame, T., Wang, A., Xie, M., Zhang, Z., Yang, Y., Ding, Q., & Zhou, Z. (2020). Paraprobiotics And Postbiotics Of Probiotic Lactobacilli, Their Positive Effects On The Host And Action Mechanisms: A Review. *Frontiers In Nutrition*, 7, pp. 570344.
- Terranova. (2002). Producción Agrícola, Enciclopedia Agropecuaria. pp. 298.
- Uddin, T., Chakraborty, A., Khusro, A., Zidan, B., Mitra, S., & Koirala, N. (2021). Antibiotic Resistance In Microbes: History, Mechanisms, Therapeutic Strategies And Future Prospects. *Journal Of Infection And Public Health*, 14(12), pp. 1750-1766.
- Velasco, J., Araque, M., Ayala, J., Dávila, D., Peña, Z., & Mendoza, R. (2019). Patogenia De Mutantes De *Salmonella typhimurium* En Dos Modelos Experimentales In Vivo. *Vacci Monitor*, 28(1), pp. 1-8.
- Villazana, L., Llanos, H., Cassani, V., & Andrés, A. (2021). Acumulación Y Distribución De Cadmio En Plantas De Alcachofa (*Cynara scolymus*) Cultivadas En Dos Suelos Agrícolas Contaminados. *Manglar*, 18(4), pp. 443-447.
- Walch, P., Selkrig, J., Un Knodler, L., Rettel, M., Stein, F., Fernandez, K., Typas, A. (2021). Global Mapping Of *Salmonella enterica*-Host Protein-Protein Interactions Infection. *Cell Host Microbe*, 29(8), pp. 1316-1332.
- Xiao, Y., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, Q. (2020). Mining Lactobacillus And Bifiidobacterium For Organisms With Long-Term Gut Colonization Potential. *Clinical Nutrition*, 39(5), pp. 1315-1323.
- Yu , Z., Tang, J., Khare , T., & Kumar, V. (2020). The Alarming Antimicrobial Resistance In Eskapee Pathogens: Can Essential Oils Come To The Rescue. *Fitoterapia*, 140, pp. 104433.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti<sup>3</sup>, E., Charles, M., Franz, H. M., Harris, P. M., . . . Michael, G. G. (2020). A Taxonomic Note On The Genus Lactobacillus: Description Of 23 Novel Genera, Emended Description Of The Genus Lactobacillus Beijerinck 1901, And Union Of Lactobacillaceae And Leuconostocaceae. *International Jorunal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 70, pp. 2782-2858.

Zumbado, R., Barquero, A., & Hidalgo Oscar. (2022). Resistencia A Los Antibióticos: Una Revisión Bibliográfica. *Ciencia & Salud Ucimed*, pp. 145.

## ANEXOS

### Anexo 1. Mapa de ubicación del experimento



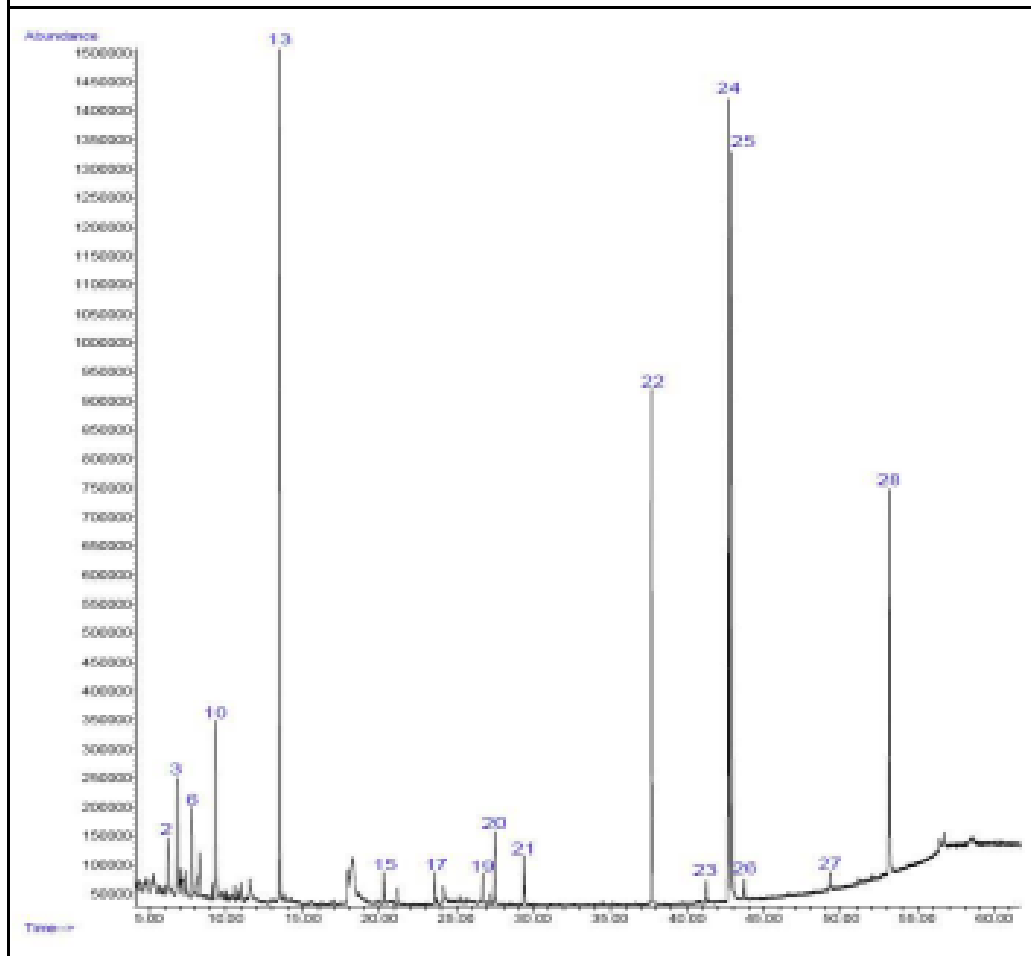
**Anexo 2.** Resultado de la cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS)

	<b>LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b> <small>Laguacasto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaymas, Provincia Bolívar, Ecuador</small>	<b>Código</b>	FPG12-01
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	<b>Versión</b>	1
		<b>Año</b>	2024
		<b>Página</b>	Página 1 de 3

**INFORME DE ENSAYOS N°089-2024**

Descripción de la muestra	
<b>Solicitantes</b>	Ariel Josué Flores Herrera - Neyton Anibal Solano Liscano
<b>Muestra</b>	Extracto etanólico de <i>Cynara scolymus</i> - Método de extracción macerado de 72 horas
<b>Código asignado UEB</b>	INV 081
<b>Estado de la muestra</b>	Líquido
<b>Envase de recepción</b>	Frasco de vidrio color ámbar con 10 mL aprox de muestra
<b>Análisis requerido(s)</b>	Identificación compuestos volátiles mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas
<b>Fecha de recepción</b>	26 de febrero de 2024
<b>Fecha de análisis</b>	26 al 29 de febrero de 2024
<b>Fecha de informe</b>	29 de febrero de 2024
<b>Técnico asignado</b>	ECCR

**RESULTADOS OBTENIDOS**



 <b>VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b>	<b>LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b> <small>Lagunasto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	<b>Código</b>	FPG12-01
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	<b>Versión</b>	1
		<b>Año</b>	2024
		<b>Página</b>	Página 2 de 3

<b>EQUIPO</b>		GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 A	
<b>DETECTOR</b>		AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD	
<b>COLUMNA</b>		Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)	
<b>MÉTODO CROMATOGRÁFICO</b>		<b>Temperatura del inyector:</b> 250°C; <b>Gas portador:</b> Helio a un flujo de 0.8 mL/min <b>Volumen de inyección:</b> 0.6 µL en inyección Splitless; <b>Programa térmico:</b> Temperatura del horno 60 °C durante 3 minutos, se incrementó de 60 °C a 100 °C a razón de 15 °C/min; finalmente la temperatura se elevó de 100 °C a 250 °C a razón de 3 °C/min durante 5 minutos. <b>Temperatura del detector:</b> 300 °C <b>Tiempo total de corrida:</b> 61.67 minutos	
N°	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	3-Pyrroline, 1-nitroso-	5,330	0,25
2	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	6,246	1,7
3	m-Cymene	6,831	4,58
4	Phenethylamine, N-hexyl-	7,102	0,50
5	Furaneol	7,439	0,41
6	4,5-Diamino-2-hydroxypyrimidine	7,823	1,84
7	Cyclopropylmethanol	8,210	0,43
8	Linalool	8,301	0,97
9	2-Propanamine, N-methyl-N-nitroso-	9,081	0,38
10	Pyranone	9,300	3,99
11	Imidazole, 2-amino-5-[(2-carboxy)vinyl]-	10,975	0,48
12	5-Hydroxymethylfurfural	11,514	0,73
13	Thymol	13,480	16,45
14	Caryophyllene	17,912	0,82
15	β-Selinene	20,264	0,76
16	2,4-Di-tert-butylphenol	21,154	0,38
17	1,1'-Biphenyl, 2-methyl-	23,574	0,73

	<b>LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b> <small>Lagunasto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guano, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	<b>Código</b>	FPG12-01
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	<b>Versión</b>	1
		<b>Año</b>	2024
		<b>Página</b>	Página 3 de 3

18	Tetraacetyl-d-xylonic nitrile	24,178	0,64
19	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-	26,721	0,79
20	Benzene, 1,1'-(diazomethylene)bis-	27,476	1,84
21	2-Amino-6-methylbenzothiazole	29,387	1,2
22	Palmitic acid, ethyl ester	37,681	12,14
23	Phytol	41,238	0,57
24	Linoleic acid ethyl ester	42,706	18,8
25	Linolenic acid, ethyl ester	42,891	17,69
26	Octadecanoic acid, 17-methyl-, methyl ester	43,692	0,54
27	Cyclopropanetetradecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	49,326	0,39
28	Dioctyl phthalate	53,127	10,02

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14. L.



Ing. Favian Bayas Morejón PhD.  
**Director DIVUEB**  
 Teléf. (+593) 99 031 6224

**Anexo 3.** Base de datos

<b>Repeticiones</b>	<b>Tratamientos</b>				
	<b>T0: Enro. 5µg</b>	<b>T1: 100%</b>	<b>T2: 50%</b>	<b>T3: 30%</b>	<b>T4: Tes. (-)</b>
1	20	15	11	10	0
2	23	15	12	11	0
3	20	16	12	9	0
4	21	16	11	9	0
5	21	17	11	9	0
<b>Promedio</b>	21	15.8	11.4	9.6	0

<b>Medición cero</b>						
<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.018	0.019	0.020	0.017	0.018	<b>0.018</b>
T2	0.029	0.030	0.028	0.027	0.028	<b>0.028</b>
T3	0.033	0.035	0.040	0.037	0.036	<b>0.036</b>
T4	0.055	0.048	0.053	0.049	0.058	<b>0.053</b>
T5	0.064	0.058	0.060	0.065	0.060	<b>0.061</b>
T0	0.011	0.010	0.023	0.012	0.011	<b>0.013</b>

<b>Después de 2 horas</b>						
<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.03	0.028	0.030	0.029	0.025	<b>0.028</b>
T2	0.037	0.040	0.039	0.036	0.038	<b>0.038</b>
T3	0.060	0.059	0.058	0.062	0.064	<b>0.061</b>
T4	0.080	0.077	0.081	0.079	0.081	<b>0.080</b>
T5	0.099	0.095	0.103	0.110	0.099	<b>0.101</b>
T0	0.022	0.021	0.020	0.024	0.020	<b>0.021</b>

<b>Después de 4 horas</b>						
<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.040	0.043	0.048	0.050	0.048	<b>0.046</b>
T2	0.058	0.055	0.050	0.050	0.060	<b>0.055</b>
T3	0.070	0.070	0.080	0.072	0.060	<b>0.070</b>
T4	0.096	0.100	0.093	0.099	0.105	<b>0.099</b>
T5	0.110	0.108	0.110	0.105	0.109	<b>0.108</b>
T0	0.039	0.040	0.043	0.045	0.038	<b>0.041</b>

<b>Después de 6 horas</b>						
<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.060	0.060	0.057	0.060	0.059	<b>0.059</b>
T2	0.070	0.075	0.075	0.070	0.078	<b>0.074</b>
T3	0.079	0.077	0.080	0.080	0.078	<b>0.079</b>
T4	0.100	0.115	0.109	0.108	0.105	<b>0.107</b>
T5	0.114	0.110	0.110	0.119	0.115	<b>0.114</b>
T0	0.060	0.060	0.055	0.050	0.055	<b>0.056</b>

<b>Después de 8 horas</b>						
<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.090	0.095	0.100	0.099	0.098	<b>0.096</b>
T2	0.110	0.100	0.100	0.100	0.110	<b>0.104</b>
T3	0.119	0.120	0.115	0.104	0.119	<b>0.115</b>
T4	0.150	0.150	0.140	0.140	0.145	<b>0.145</b>
T5	0.160	0.165	0.169	0.165	0.140	<b>0.160</b>
T0	0.090	0.089	0.090	0.089	0.088	<b>0.089</b>

---

**Después de 10 horas**

---

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.140	0.139	0.138	0.130	0.140	<b>0.137</b>
T2	0.169	0.176	0.170	0.170	0.169	<b>0.171</b>
T3	0.190	0.196	0.195	0.193	0.190	<b>0.193</b>
T4	0.210	0.230	0.230	0.225	0.210	<b>0.221</b>
T5	0.250	0.250	0.245	0.254	0.254	<b>0.251</b>
T0	0.100	0.110	0.100	0.110	0.115	<b>0.107</b>

---

---

**Después de 14 horas**

---

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.149	0.145	0.150	0.148	0.150	<b>0.148</b>
T2	0.170	0.178	0.170	0.171	0.170	<b>0.172</b>
T3	0.200	0.210	0.209	0.200	0.205	<b>0.205</b>
T4	0.215	0.234	0.230	0.235	0.220	<b>0.227</b>
T5	0.260	0.260	0.250	0.261	0.260	<b>0.258</b>
T0	0.150	0.149	0.145	0.149	0.145	<b>0.148</b>

---

---

**Después de 16 horas**

---

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.160	0.160	0.164	0.159	0.170	<b>0.163</b>
T2	0.190	0.180	0.188	0.192	0.195	<b>0.191</b>
T3	0.210	0.210	0.219	0.211	0.215	<b>0.213</b>
T4	0.215	0.235	0.232	0.235	0.230	<b>0.229</b>
T5	0.272	0.260	0.260	0.268	0.267	<b>0.265</b>
T0	0.190	0.199	0.200	0.195	0.198	<b>0.196</b>

---

---

**Después de 18 horas**

---

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.190	0.192	0.193	0.190	0.190	<b>0.191</b>
T2	0.200	0.205	0.200	0.210	0.200	<b>0.203</b>
T3	0.220	0.223	0.224	0.220	0.220	<b>0.221</b>
T4	0.230	0.239	0.239	0.240	0.234	<b>0.237</b>
T5	0.300	0.290	0.299	0.239	0.289	<b>0.283</b>
T0	0.200	0.200	0.220	0.210	0.225	<b>0.211</b>

---

---

**Después de 20 horas**

---

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.150	0.159	0.160	0.158	0.150	<b>0.155</b>
T2	0.189	0.185	0.180	0.190	0.190	<b>0.187</b>
T3	0.190	0.190	0.189	0.190	0.190	<b>0.190</b>
T4	0.225	0.230	0.234	0.230	0.239	<b>0.232</b>
T5	0.350	0.310	0.309	0.300	0.300	<b>0.314</b>
T0	0.210	0.203	0.205	0.210	0.214	<b>0.208</b>

---

---

**Después de 22 horas**

---

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.145	0.150	0.155	0.152	0.146	<b>0.150</b>
T2	0.180	0.180	0.176	0.180	0.180	<b>0.179</b>
T3	0.185	0.188	0.185	0.187	0.185	<b>0.186</b>
T4	0.200	0.200	0.210	0.200	0.215	<b>0.205</b>
T5	0.300	0.300	0.301	0.300	0.295	<b>0.299</b>
T0	0.201	0.215	0.200	0.220	0.200	<b>0.207</b>

---

---

**Después de 24 horas**

---

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>					<b>Promedio</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
T1	0.130	0.130	0.135	0.139	0.136	<b>0.136</b>
T2	0.150	0.150	0.155	0.149	0.150	<b>0.151</b>
T3	0.150	0.160	0.167	0.170	0.150	<b>0.159</b>
T4	0.190	0.189	0.195	0.190	0.190	<b>0.191</b>
T5	0.300	0.290	0.295	0.290	0.296	<b>0.294</b>
T0	0.200	0.205	0.200	0.218	0.200	<b>0.205</b>

---

#### Anexo 4. Fotografías



Figura 1: Bacteria reanimada



Figura 2: extracto etanólico de la alcachofa.



Figura 3: Preparación de medios de cultivos

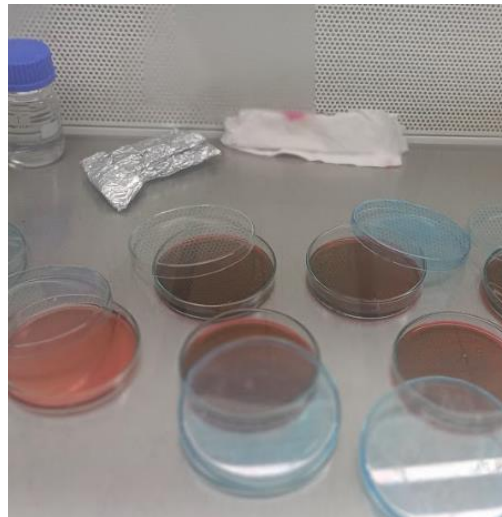


Figura 4: Preparación de medios de cultivos



Figura 5: Preparación de medios de cultivos para antibiograma.



Figura 6: Preparación de medios de cultivos para antibiograma.



Figura 7: Preparación de medios de cultivos para antibiograma.

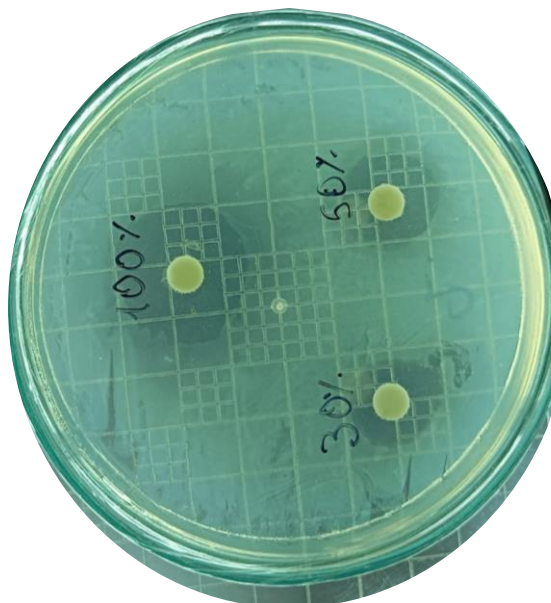


Figura 8: Resultados.

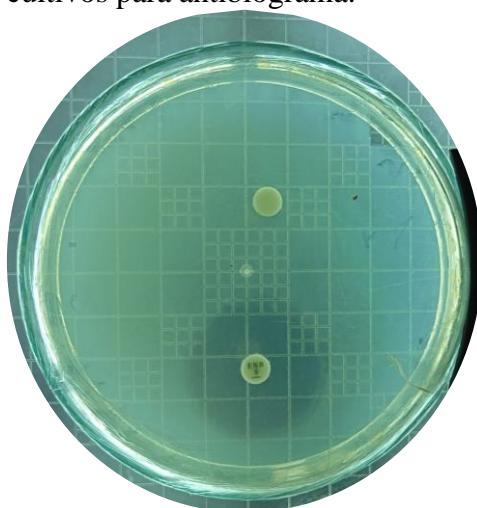


Figura 9: Resultados



Figura 10: Resultados

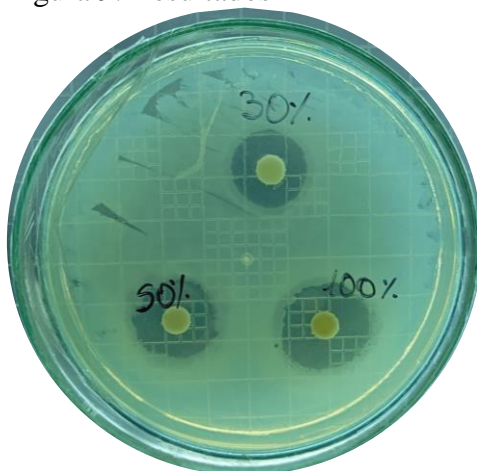


Figura 11: Resultados

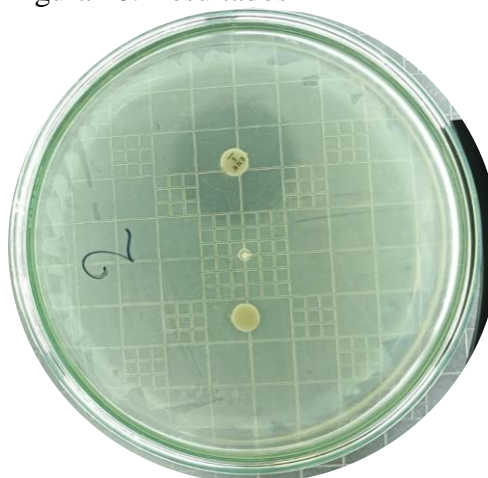


Figura 12: Resultados



Figura 13: Preparación de medios para la cinética de crecimiento



Figura 14: Medición de la cinética de crecimiento



Figura 15: Medición de la cinética de crecimiento



Figura 16: Medición de la cinética de crecimiento



Figura 18: Visita por parte del director de tesis, toma de resultados del antibiograma



Figura 19: Visita de campo por parte del tribunal de tesis.

## Anexo 5. Glosario de términos técnicos

- **Adhesina:** Componente de superficie de un microbio que se une con un receptor celular
- **Agar-agar (agar):** Polisacárido derivado de algas y que se utiliza como agente de solidificación para los medios de cultivo.
- **Bacilo:** Cualquier bacteria alargada.
- **Cápsula bacteriana:** Capa densa y bien definida de polisacárido o proteína que rodea a una célula.
- **Ciclo del citrato:** Sistema de enzimas que convierten al acetato (proveniente de la descarboxilación del piruvato o de la oxidación de los ácidos grasos) en CO<sub>2</sub> con la liberación de átomos de hidrógeno, acarreados por los transportadores hacia la cadena respiratoria.
- **Cultivo puro:** Cultivo de un tipo de organismos.
- **Dilución en serie.** Dilución de una muestra en pasos sucesivos, por ejemplo al mezclar parte de la dilución 1/10 con 9 partes del diluyente se obtiene la 1/100.
- **Extracto:** preparación de una sustancia obtenida de plantas, animales o bacterias y usada como medicamento o en medicamentos.
- **Enriquecimiento:** Cultivo en medio líquido que aumenta el crecimiento de un determinado tipo de microbios en detrimento de los otros presentes en la muestra.
- **Fase de latencia:** La que transcurre entre la inoculación y el comienzo del crecimiento activo.
- **Fase estacionaria:** Etapa del desarrollo microbiano en el que cesa el crecimiento.
- **Fase exponencial:** Etapa en la cual la población crece según una relación exponencial y las células se dividen a una velocidad constante.
- **Fase logarítmica:** Fase exponencial.
- **Género:** Grupo de especies estrechamente relacionadas.

- **Gram negativa:** Célula procariótica cuya pared celular contiene relativamente poco péptidoglucano y tiene una membrana externa compuesta de lipopolisacáridos, lipoproteínas y otras macromoléculas complejas. Aparece roja después de sometida a la tinción de Gram.
- **Liofilización:** Conservación de material biológico por congelamiento rápido y deshidratación con alto vacío.
- **Metabolismo:** Conjunto de las reacciones químicas de una célula, catabólicas y anabólicas.
- **Pared celular:** Cubierta rígida sobre la membrana citoplasmática.
- **Plásmido:** Elemento genético extracromosómico, capaz de replicación autónoma en el citoplasma de la célula
- **Sinergismo:** Resultado de la acción de dos o más organismos o sustancias que, actuando en conjunto, provocan una respuesta mayor a la suma de los efectos que provocarían por separado.
- **Tinción de Gram:** Coloración diferencial mediante la cual se clasifican las bacterias en Gram positivas o Gram negativas según retengan o no el cristal violeta, cuando se decolora con alcohol.
- **Transposones:** Elementos genéticos que pueden cambiar de localización en el genoma