



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**TEMA: ANÁLISIS DEL EFECTO DEL EXTRACTO DE LA
GUÁCIMA (*GUAZUMA ULMIFOLIA*) EN CEPAS
CERTIFICADAS DE *SALMONELLA TYPHI*.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN O PROYECTO DE INTEGRACIÓN
CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO**

AUTOR: ITALO ADRIAN MOROCHO DUY

DIRECTOR: Dr. FRANKLIN ALFREDO IÑIGUEZ HEREDIA.

**CUENCA - ECUADOR
2021**

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**ANÁLISIS DEL EFECTO DEL EXTRACTO DE LA GUÁCIMA
(*GUAZUMA ULMIFOLIA*) EN CEPAS CERTIFICADAS DE *SALMONELLA*
TYPHI.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN O PROYECTO DE INTEGRACIÓN
CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO**

AUTOR: ITALO ADRIAN MOROCHO DUY.

DIRECTOR: Dr. FRANKLIN ALFREDO IÑIGUEZ HEREDIA.

CUENCA - ECUADOR

2021

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

I. DECLARACIÓN

Yo Italo Adrian Morocho Duy, declaro bajo juramento que el trabajo aquí escrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.



ITALO ADRIAN MOROCHO DUY

0302126750

II. CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Italo Adrian Morocho
Duy bajo mi supervisión.



Dr. Franklin Alfredo Iñiguez Heredia

DIRECTOR

III. DEDICATORIA

Este trabajo de investigación va dirigido a mis padres que nunca dejaron de apoyarme, los cuales me enseñaron a levantarme después de cada fracaso, a mis tíos que me brindaron su apoyo para continuar en la formación educativa y a Dios por darme las fuerzas para continuar luchando por mi meta.

IV. AGRADECIMIENTO

Quiero brindar mis sinceros agradecimientos a:

Todos los docentes que llegaron a formar parte de mi camino educativo en esta hermosa carrera que es la Medicina Veterinaria compartiendo sus conocimientos y experiencias, de la manera más especial a mi tutor Dr. Franklin Alfredo Iñiguez, confiar en mi para la elaboración de mi trabajo de grado, a la Dra. Nathalie Campos Murillo por su paciencia y apoyo brindado en la trayectoria de esta investigación.

V. ÍNDICE GENERAL

I. DECLARACIÓN.....	1
II. CERTIFICACIÓN.....	2
III. DEDICATORIA.....	3
IV. AGRADECIMIENTO.....	4
V. ÍNDICE GENERAL.....	5
VI. ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS.....	8
VII. ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
VIII. RESUMEN.....	10
IX. ABSTRACT.....	11
CAPÍTULO I.....	12
1.1. Introducción.....	12
1.2. Planteamiento del problema.....	13
1.3. Hipótesis.....	14
1.4. Antecedentes.....	15
1.5. Objetivo.....	16
1.6. Justificación.....	17
CAPÍTULO II.....	18
2. MARCO TEÓRICO.....	18
2.1 Plantas medicinales.....	18
2.2 Fitoterapia.....	18
2.3 Empleo farmacológico de la fitoterapia.....	18
2.4 El Guásimo.....	22
2.4.1 Clasificación taxonómica.....	23
2.4.2 Sinonimia.....	23
2.4.3 Distribución geografía.....	24
2.4.4 Descripción de la especie.....	24
2.4.5 Usos de la guásima.....	25
2.4.6 Componentes de la guásima.....	25
2.5 La Salmonella.....	27

2.5.2 <i>Salmonella</i> y salud pública.	28
2.5.3 <i>Salmonella typhimurium</i>	28
2.6 Medios de cultivo	29
2.6.1 Clasificación de los medios de cultivo.....	29
2.6.2 Almacenamiento de los medios de cultivo.	30
2.6.3 Factores que intervienen en el crecimiento bacteriano.....	30
2.6.4 Agar SS (<i>Salmonella-Shigella</i>)	32
2.6.4.1 Composición	32
2.6.4.2 Preparación	32
2.6.5. Agar Mueller Hinton	33
2.6.5.1 Composición	33
2.7 Antibiograma	33
2.8 Patrón McFarland.....	34
2.8.1. Preparación	34
2.9 Método Kirby-Bauer	35
2.9.1 Siembra de la muestra.....	35
2.10 Soxhlet	36
2.10.1. Solventes para la extracción de aceite esencial	37
2.10.2. Etapas del extractor Soxhlet	37
2.10.3. Ventajas y desventajas de la extracción mediante Soxhlet	37
2.11 Maceración.....	38
2.11.1. Ventajas y desventajas	39
2.11.2 Métodos de maceración.....	39
2.12 Clasificación de los aceites esenciales	40
2.13 Los Taninos.....	42
2.13.1 Clasificación de los taninos.....	42
CAPÍTULO III	44
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	44
3.1. Definición de la zona de estudio.	44
3.2. Materiales y métodos	45
3.2.1. Materiales	45
3.3. Variables	47

3.3.1. Dependientes.....	47
3.3.2. Independientes	47
3.4. Indicadores.....	48
3.5. Diseño experimental.....	48
3.6. Procedimiento	48
3.6.1. Recolección de muestra	48
3.6.2. Obtención de aceite esencial	49
3.6.2.1 Preparación de muestra.....	49
3.6.3. Extracto de las hojas de guásimo	52
3.6.4 Antibiograma.....	55
3.6.4.5. Siembra de <i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028 ®.....	57
3.6.4.6. Diluciones	58
3.6.4.7. Discos de sensibilidad	59
3.6.4.8. Lectura del antibiograma	60
CAPÍTULO IV	62
4. RESULTADOS	62
4.1. Descripción de los resultados	62
4.1.1. Rendimiento del aceite de guásima	62
4.1.2. Rendimiento de maceración	63
4.1.3. Tratamientos.....	63
4.2. Discusión.....	66
4.3. Conclusiones.....	68
4.4 Recomendaciones	69
X. BIBLIOGRAFÍA.....	70
XI. ANEXOS	78

VI. ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la Guácima.....	23
Tabla 2: Componentes de la hoja de Guácima	26
Tabla 3: Taxonomía de la salmonella	27
Tabla 4: Serotipos de <i>Salmonella</i>	28
Tabla 5: Composición de los medios de cultivo	31
Tabla 6: Componentes del Agar SS.....	32
Tabla 7: Componentes del agar Mueller Hinton,.....	33
Cuadro 1: Antibiograma de discos.....	34
Cuadro 2: Cuadro del patrón de McFarland	35
Cuadro 3: Cuadro de diseño experimental.....	48
Cuadro 4: Extracción de aceite de <i>Guazuma ulmifolia</i> obtenido por el método soxhlet.	63
Cuadro 5: Efecto antibiótico del extracto de guásima al 5%	63
Cuadro 6: Efecto antibiótico del extracto de guácima al 25%	64
Cuadro 7: Efecto antibiótico del extracto de Guácima al 50%.....	64
Cuadro 8: Efecto antimicrobiano del extracto de guásima al 100%	65
Cuadro 9: Efecto antibiótico del aceite ecencial de Guácima al 100%.....	65

VII. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ubicación de la zona de estudio.....	44
Figura 2: Árbol de guácima	49
Figura 3: Cartuchos	50
Figura 4: Equipo Soxhlet	51
Figura 5: Equipo de destilación.	51
Figura 6: Método de maceración.....	53
Figura 7: Pesa licor	54
Figura 8: Filtrado al vacío.....	54
Figura 9: Agar SS.....	56
Figura 10: Autoclave.....	57
Figura 11: Siembra de SS.	57
Figura 12: Preparación de diluciones.	58
Figura 13: Diluciones.....	59
Figura 14: Preparación de discos.....	60
Figura 15: Discos con diluciones.....	60
Figura 16: Patrón McFarland.....	61
Figura 17: Antibiograma.	61

VIII. RESUMEN

La presente investigación se encaminó a evaluar el efecto del extracto y aceite esencial de la guácima (*Guazúma ulmifolia*) sobre cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028®, la materia prima fue recolectada en la comunidad de Centropatul, el extracto de guácima se obtuvo mediante maceración, utilizando las hojas de guácima, cuales fueron lavadas, secadas y trituradas, la maceración se llevó a cabo durante 7 días, se eliminó el alcohol en un lapso de 20 días, el aceite se extrajo a partir de la semilla de guácima extraída del fruto seco y maduro, fue secada por 3 días y triturada, con ayuda del equipo Soxhlet separamos el aceite esencial de la parte sólida, a partir de 30 g de muestra obtuvimos 0,5 ml, su rendimiento fue 2,26 ml, los cuales se colocaron en discos de sensibilidad en blanco, en distintas concentraciones, (T1) extracto de guácima al 5%, (T2) extracto de guácima al 25%, (T3) extracto de guácima al 50% (T4) extracto de guácima al 100%, (T5) aceite esencial de la semilla de guácima al 100%, fue preparado mediante diluciones a partir del extracto principal, para la elaboración del antibiograma, previo a esto se cultivó *Salmonella typhi* ATCC 14028® en el agar SS, posteriormente se sembró en el agar Mueller Hinton, para el proceso de antibiograma; en base a los estudios realizados pudimos determinar que el promedio obtenido de aceite es de 0,83 ml en 6 extracciones, sin embargo, la *Salmonella typhi* ATCC 14028® no presentó sensibilidad a los tratamientos.

Palabra clave: Aceite, Extracto, Guácima, *Salmonella*, *Typhi*.

IX. ABSTRACT

This research was aimed to evaluate the effect of guácima (*Guazúma ulmifolia*) extract and oil on *Salmonella typhi* ATCC 14028[®] strains, the raw material was collected in the community of Centropatul, the guácima extract was obtained by maceration, using guácima leaves. The oil was extracted from the guácima seed extracted from the dried ripe fruit, dried 3 days, and crushed, with the help of Soxhlet equipment we separated the essential oil from the solid part, From 30 g of the sample we obtained 0.5 ml, its yield was 2.26 ml, which were placed in blank sensitivity discs, in different concentrations, (T1) guácima extract at 5%, (T2) guácima extract at 25%, (T3) guácima extract at 50% (T4) guácima extract at 100%, (T5) 100% guácima seed essential oil, was prepared by dilutions from the main extract, for the elaboration of the antibiogram, before this, *Salmonella typhi* ATCC 14028[®] was cultivated on SS agar, then it was sown on Mueller Hinton agar, the antibiogram process; based on the studies conducted, we were able to determine that the average oil obtained was 0.83 ml in 6 extractions, however, *Salmonella typhi* ATCC 14028[®] did not show sensitivity to the treatments.

Keywords: Oil, Extract, Guácima, *Salmonella*, Typhi.

CAPÍTULO I

1.1. Introducción

Las plantas han sido utilizadas para tratar enfermedades por lo cual llegaron a ser objeto de estudio ya que estas contienen diversos principios activos, cada uno de estos actúan de diferente manera, dependiendo de su cantidad, forma de aplicación y agente causal, estos saberes ancestrales pasaron de generación en generación, por lo que los investigadores empezaron a extraer los principios activos los cuales son sintetizados y combinados entre sí para tratar algunas enfermedades (Flores & Vásquez, 2018) .

Según Hilda, Calleros, Vargas, Salcedo, & Barrientos, (2015) la guácima tiene propiedades alimenticias y terapéuticas es una planta que crece en toda Latinoamérica especialmente en zonas tropicales, es utilizada como alimento para mejorar la producción de ganado bovino y ovino (Herrera, y otros, 2009), el extracto de guácima es utilizado en fitopatógenos dando resultados significativos donde el extracto con dicloromenato produjo mayor inhibición frente *Sclerotium* (Hilda, Calleros, Vargas, Salcedo, & Barrientos, 2015), prueba suficiente para demostrar que la Guásima actúa de manera directa frente a fitopatógenos.

Por lo tanto, la presente investigación se basa en probar la actividad antimicrobiana del extracto de Guásima (*Guazuma ulmifolia*) sobre cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028 ® ya que es un agente bacteriano de gran importancia en el campo de la medicina veterinaria y que a su vez puede afectar al hombre generando de esta forma problemas en la salud humana.

1.2. Planteamiento del problema

Existen registros de zoonosis desde la antigüedad considerando una de las plagas mencionadas en la biblia, sin embargo, al igual que los animales las enfermedades también se fueron adaptando a los cambios, llegando a afectar al hombre (Pumarola, 2020), esta habilidad de los patógenos para enfermar a las personas se las conoce como zoonosis.

La *Salmonella* es un microorganismo que afecta al hombre, su principal causa es la ingesta de alimentos contaminados derivados de animales (Michanie, 2015), como son carne, leche, huevos, etc.; los cuales son esenciales en la alimentación diaria (OMS, s.f.), Barreto, *et,al.* (2010) mediante exámenes coproparacitarios producidas por (ETA) demuestra que un 52,68% son probocadas por *Salmonella*.

Según Rincón (2011), afirma que los huevos son portadores de *Salmonella*, Prado,*et,al.* (2012) demostró que la carne de pollo, res y cerdo pueden contener *Salmonella typhi* por lo cual los productos deben ser muy controladas antes de su expendio ya que esta afecta al consumidor final.

La *Salmonella typhi* es una de las causantes de afecciones gastrointestinales, de 21 millones de personas 200 mil han fallecido por esta bacteria, siendo las poblaciones pobres las mas vulnerables (Azüero & Gualpa, 2017), estudios realizados en la ciudad de Ambato demostró que de 50 pacientes con diarrea, el 20% de ella son causada por *Salmonella typhi*, el antibiograma realizado demostro que ampicilina no tiene efecto sobre la *Salmonella typhi* (Coba, 2019).

1.3. Hipótesis

El extracto de hojas de guásima y el aceite obtenido a partir de la semilla tiene efectos sobre las cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®.

1.4. Antecedentes

En la antigüedad las plantas se utilizaban de manera empírica, en forma de brebajes los cuales ayudan a contrarrestar los síntomas y dolencias de enfermedades, estas patologías han llegado a obtener resistencia a los antibióticos, atacan al hombre y animales de forma agresiva.

Los productos naturales tienen amplia actividad terapéutica, estos se denominan productos bioactivos, siendo alterados por muchos factores como el clima, forma de recolección, madurez de la planta, parte de la planta que se va a utilizar, dentro de Latino América existen muchas plantas con capacidades terapéuticas, convirtiéndose así en una alternativa del uso medicinal (Naranjo F. , 2013).

La Guásima es una planta que tiene propiedades terapéuticas, de las cuales se ha extraído aceite esencial, Matulevich y García (2016), en su estudio comprobaron que tiene 39 compuestos, sin embargo, su rendimiento es mínimo Gómez, *et al.* (2014), indican que el fruto de la guásima ha sido utilizado para realizar otros estudios, ellos afirman que tiene poca influencia en el comportamiento productivo en ovinos en los que fueron estudiados.

Los taninos son componentes que tienen características bactericidas, bacteriostáticas, antihelmínticos (Hernandes, *et al* 2018), la Guásima tiene gran cantidad de taninos como se menciona en el trabajo de (Hoyos T. , 2014), Según Ramírez, *et al.* (2015), el extracto de Guásima tiene acción sobre microorganismos que atacan a las plantas, nos demuestran actividad antifúngica y antimicrobiana en cepas de hongos como: *Sclerotium cepivorum* y *Fusarium oxysporum*, y bacterias como: *Xanthomonas campestris* y *Pseudomonas aeruginosa*.

1.5. Objetivo

Objetivo General

- Evaluar el efecto del extracto y aceite esencial de la Guásima (*Guásima umifolia*) sobre cepas certificadas de *Salmonella typhi* in vitro.

Objetivo Específico

- Obtener el principio activo de la planta de Guásima (*Guásima ulmifolia*) mediante la técnica de maceración y extracción de aceite esencial mediante Soxhlet.
- Comprobar la eficacia de los distintos extractos de la Guásima (*Guásima ulmifolia*) sobre la bacteria *Salmonella typhi* ATCC14028 ®
- Elaborar antibiogramas con discos de sensibilidad de diferentes concentraciones sobre cepas de *Salmonella typhi* ATCC14028 ®.

1.6. Justificación

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) 1 de cada 10 personas sufre enfermedades por ingesta de alimentos contaminados, las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) llegan a afectar a más de 600 millones de personas y 420.000 mueren cada año, de estas el 30% corresponden a niños menores de 5 años, la segunda región a nivel mundial en tener las (ETA) son las Américas con un aproximado de 77 millones infectados de los cuales mueren 9.000 al año, de estas 31 millones son menores de 5 años y mueren más de 2.000 cada año (OMS, 2015).

El Ministerio de Salud Pública (MSP) afirma que las bacterias pueden contaminar los alimentos durante su producción o expendio, en el Ecuador se presentaron 5890 casos de enfermedades bacterianas en el 2020, las infecciones causadas por salmonella han decrecido en un 32% en comparación con el 2019, esta bacteria es transmitida de los animales al hombre y se aloja en el intestino, uno de los síntomas más comunes es la diarrea (MSP, 2021).

La salmonelosis es producida por la bacteria llamada *Salmonella typhi*, que ataca a las personas específicamente en el intestino provocando diarrea, fiebre inclusive la muerte, siendo huésped intermediario los animales, afectando así la salud de las personas, llegando a convertirse en una bacteria peligrosa (Mejía N. , 2019), por tal motivo la presente investigación buscará un medicamento alternativo de origen natural como es el extracto de Guásima que será aplicada con distintas concentraciones de forma in vitro sobre cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Plantas medicinales

Las plantas han sido utilizadas como medicamento a lo largo de los años, las personas indígenas tenían un amplio conocimiento sobre los poderes farmacéuticos de las plantas, estos saberes se transmitían de forma oral entre generaciones, el amplio conocimiento de los vegetales y hierbas medicinales ayudó a curar eficazmente muchas enfermedades, estas plantas formaron parte importante en la historia. (Cosme, 2010)

2.2 Fitoterapia

Etimológicamente la palabra fitoterapia significa “terapia o tratamiento mediante productos vegetales”, esta rama de la medicina intenta rescatar la flora medicinal, incentivando a la investigación de productos verificando su dosis con calidad y seguridad (Haya, 2020), en conclusión, la fitoterapia es el estudio de plantas medicinales para la aplicación de las mismas (Saz, 2020).

2.3 Empleo farmacológico de la fitoterapia

Dentro de la fitoterapia podemos verificar el uso de cada fármaco y su forma de actuar en el organismo, para ello nos regimos en el “Vademécum de Fitoterapia” donde enlistamos los usos de esta (Stübing, 2013):

- “Para el sistema nervioso
 - Estimulantes centrales
 - Estimulantes psíquicos
 - Antidepresivos
 - Analépticos
 - Depresores centrales
 - Sedantes
 - Ansiolíticos
 - Tranquilizantes menores
 - Relajantes musculares
 - Antipiréticos
 - Drogas con principios amargos
 - Neurotropos
- Para el aparato respiratorio
 - Antitusígenos
 - Antiinflamatorios
 - Drogas con salicilatos
 - Drogas con azulenos o bisalobol
 - Drogas con iridoides y secoiroides
 - Drogas con enzimas proteolíticas

- Antisépticos
 - Drogas ricas en aceite esencial
 - Drogas con principios hidroquinónicos
 - Expectorantes
- Para el aparato circulatorio
 - Protectores vasculares
 - Vasoprotectores
 - Capilarotropos
 - Hipotensores
- Aparato urogenital
 - Diuréticos azotúricos
 - Diuréticos uricosúricos
 - Diuréticos declorurantes
 - Diuréticos fosfáticos y oxalídicos
 - Antiinfecciosos urinarios:
 - Drogas con aceites esenciales
 - Drogas con glucósidos fenólicos solubles
 - Antiinflamatorios
 - Antiandrogénicas

- Para utilización en ginecología
 - Emenagogos estrogénicos
 - Emenagogos con fitoestrógenos
 - Antiestrogénicas
 - Antigonadotróficas
 - Luteínicas

- Para el aparato digestivo
 - Nivel gástrico
 - Antianoréxicos o eupépticos

 - Nivel intestinal
 - Laxantes antraquinónicos
 - Laxantes formadores de masa
 - Anteaerofágicas o carminativas

 - Nivel hepatobiliar
 - Coleréticas y colagogas

- Para el metabolismo
 - Drogas hipoglucemiantes
 - Ricas en cromo

 - Adaptógena
 - Drogas activas en alteraciones del metabolismo purico
 - Acción diurética Uricosúrica

- Hipolipemiantes
 - Estimuladores del metabolismo
 - Inhibidores del apetito
 - Interferencia en el metabolismo intermediario de las grasas
 - Termogénicas
 - Antirradicales
-
- Para la piel y anexos
 - Astringentes
 - Emoliente
 - Demulcentes
 - Antisépticos tópicos
 - Drogas con aceites esenciales
 - Drogas con polínicos

 - Drogas rubefacientes y revulsivas
 - Drogas queratóplásticas
 - Drogas queratolíticas
 - Resinas

 - Cicatrizantes reepitelizantes” (Stübing, 2013).

2.4 El Guásimo

Es un árbol de pequeña altura con muchas ramificaciones, puede llegar a tener una altura de 25m, el diámetro de su tronco puede llegar a medir hasta 60cm, la misma que está cubierta por una corteza de color gris, es rica en sustancias mucilaginosas, especialmente las semillas, sus flores son de

pequeño tamaño, de un color blanco amarillento, su fruto es de forma circular de color verde, al madurar es de color negro (Carrión, 2020).

2.4.1 Clasificación taxonómica

Cronquits (1998), clasifica a la Guásima de la siguiente manera:

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la Guácima

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dilleniidae
Orden	Malvales
Familia	sterculiaceae
Género	Guazuma
Especie	Guazuma ulmifolia
Nombre común	Guásima

Tabla realizada por el autor basado en el trabajo de Cronquits (1998) sobre la clasificación taxonómica de la Guácima

2.4.2 Sinonimia

- Guacima (México)
- Guácimo (México)
- Caulote (México)
- Kabla-pixoy (México)
- Acashti (México)
- Ajillá (México)
- Nocuana-yana (México)
- Parandesicua (México)
- Uiguie (México)
- Yaco granadillo (México)
- Yaco de venado (México)
- Mutamba (Brasil)

2.4.3 Distribución geografía

Esta planta se distribuye a lo largo de Latinoamérica desde México a través de Centro América hasta Paraguay incluyendo las islas caribeñas desde Cuba hasta Trinidad y Tobago (Rojas & Torres, 2019).

2.4.4 Descripción de la especie

- **Hojas:** son de tamaño pequeño llegando a medir hasta 13cm de largo, su ancho puede llegar hasta 6.5 cm, tiene una forma ovalada o lanceolada, su contorno es aserrado de color verde oscuro, su cara ventral es rasposa de coloración gris amarillenta (Hoyos T. , 2014).
- **Madero:** es de baja altura con ramas largas y resistentes, algunas veces se encuentran colgadas hacia el piso, su corteza es de color gris, llegando a obtener un espesor de 22mm (Hoyos T. , 2014).
- **Flores:** son pequeñas de color blanco y amarillo llegan a medir hasta 5 cm de largo, emanan un olor dulce, su cáliz es veloso, llega a florecer entre los meses de abril y octubre (Hoyos T. , 2014).
- **Frutos:** estos son de color verde de 2.5cm de largo y 1,5cm de grosor (Rojas & Torres, 2019), con pequeñas protuberancias cónicas su maduración es en los meses de abril, para liberar las semillas se vuelven de color negro, con un olor dulce, mucha cantidad de mucilagos.
- **Semilla:** son de color gris, miden 1mm, de forma redondeada, cada fruto llega a tener entre 40 a 80 semillas (Hoyos T. , 2014).

- **Sexualidad:** es un árbol bisexual (Hoyos T. , 2014).

2.4.5 Usos de la guásima

Al ser una planta que se distribuye por Latinoamérica esta se utiliza como forraje para animales (Herrera, y otros, 2009), sin embargo, tiene características antifúngicas y antibacterianas que atacan a las plantas (Ramírez, y otros, 2015), también se han utilizado frente a las diarreas, los granos y como antiinflamatorio (Scull, 1998).

2.4.6 Componentes de la guásima

Según el estudio realizado por Matulevich P (2016), en la hoja de Guácima se encontró los siguientes componentes:

Tabla 2: Componentes de la hoja de Guácima

Señal	Nombre
1	D-Limoneno
2	β -felandreno
3	cis- β -Terpineol
4	(R)-(+)-Citronelal
5	Isopulegol
6	β -Citronelol
7	Neral
8	Undecanal
9	α -Cubebeno
10	Isoledeno
11	Copaeno
12	β -Burboneno
13	Cariofileno
14	β -Cedreno
15	β -Humuleno
16	(Z)- β -Farneseno
17	2,6,11-trimetil-Dodecano
18	α -Humuleno
19	β -Ioneno
20	Eudesm-6,11 dieno-cis
21	α -Muroleno
22	α -Farneseno
23	cis- α -Bisaboleno
24	γ -cadineno
25	β -Curcumeno
26	trans-Z- α -Bisaboleno
27	(+)-Nerolidol
28	Óxido de cariofileno
29	Viridiflorol
30	Epóxido de cedreno
31	Aloaromadendreno
32	epi- α -cadinol
33	α -Murolol
34	α -Cadinol
35	β -eudesmol
36	Octadecano
37	2-Decildecahidronaftaleno
38	Hexatriacontano

Tabla elaborada por el autor donde describe los componentes de la hoja de Guácima

Fuente: (Matulevich & García, 2016)

2.5 La Salmonella

Son bacterias de tipo bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos pertenecientes al género salmonella y a la familia enterobacteriaceae, se pueden mover con ayuda de los flagelos peritricos, su metabolismo es oxidativo y fermentativo, se replican fácilmente a cabo de 28 h formando colonias, el crecimiento es más factible cuando el pH oscila entre 6.6 y 8.2, están distribuidos por todo el mundo, su alojamiento es en los intestinos de los mamíferos, aves, reptiles e insectos (Parra, Durango, & Máttar, 2002).

2.5.1 Clasificación taxonómica

La salmonella es una enfermedad que afecta a la salud pública (Delgado, 2015), clasifica a la salmonella de la siguiente manera:

Tabla 3: Taxonomía de la salmonella

Taxonomía	
Familia	Enterobacteriaceae
Tribu	Salmonellae
Género	Salmonella
Especie	Entérica
	Bongi
	I Enterica
	II Salamae
SS. Entérica	IIIa Arizonae
	IIIb Diarizonae
	IV Houtenae
	VI Indica

Tabla realizada por el autor donde se describe la clasificación taxonómica de la salmonella.

Fuente: (Delgado, 2015)

2.5.2 *Salmonella* y salud pública.

El estudio de la salmonella es de carácter muy importante, al ser una bacteria de carácter zoonótico, afectando así la salud pública ya que es transmitida por medio de los alimentos, sin embargo, algunas de estas cepas han llegado a tener resistencia a los antibióticos (Ballesteros, y otros, 2016), existen serotipos de *Salmonella* (Delgado, 2015).

Tabla 4: Serotipos de *Salmonella*
Salmonella

Serotipos	
	<i>Typhimurium</i>
	<i>Enteritidis</i>
	<i>Dublín</i>
	<i>Abortusovis</i>
	<i>Choleraesuis</i>
	<i>Gallinarum</i>

Tabla realizada por el autor en la cual describe los serotipos de salmonella.

Fuente: (Delgado, 2015)

2.5.3 *Salmonella typhimurium*

El serotipo *typhimurium* de la *Salmonella* es la principal responsable de la salmonelosis en los hombres y los animales en todo el mundo (Wang, y otros), esta es una de las causantes principales de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) a nivel mundial y son responsables de una tasa muy alta de mortalidad, el 40% de mortalidad es en niños menores a los 5 años (Iván & Janett, 2017).

2.6 Medios de cultivo

Los medios de cultivo son indispensables para el desarrollo de un microorganismo, estos pueden presentarse de forma sólida o líquida, está formada por una mezcla de minerales de origen animal o vegetal, componentes de crecimiento, estos medios de cultivo son elaborados en base a las características del microorganismo (Murray, 2017).

2.6.1 Clasificación de los medios de cultivo

Según las normas ISO 17025 los medios de cultivo se clasifican en:

- Estado físico
 - ✓ Líquidos
 - ✓ Semisólidos
 - ✓ Sólidos

- Finalidad
 - ✓ No selectivos: En su composición podremos encontrar muchos nutrientes el cual ayuda al crecimiento de varios microorganismos.
 - ✓ Selectivos: Este tipo de medio de cultivo nos permite el crecimiento específico de un microorganismo.
 - ✓ Enriquecidos: Son medios de cultivo no selectivos los cuales necesitan de sustancias externas para el desarrollo de microorganismos exigentes.
 - ✓ Diferenciales: Son medios de cultivo que nos permiten diferenciar microorganismos. (ISO, 2019)
 - ✓ Identificación: Nos sirven para estudiar la acción de un solo tipo de bacteria fermenta a un determinado sustrato.

- ✓ Multiplicación: Son medios que tienen características especiales para el desarrollo rápido de un microorganismo específico.
- ✓ Conservación: Son medios que nos ayudan a la conservación de un microorganismo, estos deben ser incubados a +2 +4°C algunos tienen glicerol y se pueden conservar a -20C (Alvarez, Boquet, & Camino, 1995).

2.6.2 Almacenamiento de los medios de cultivo.

Para estos medios de cultivo debemos tomar en cuenta algunos factores como son:

- Porcentaje de luz solar.
- Porcentaje de calor: Los medios que tienen algún aditivo de origen orgánico deberán ser guardados en refrigeración.
- Conservación: Estos deben ser guardados en lugares oscuros y frescos, sin embargo, los recipientes a guardar tienen mucha importancia en duración y calidad.
 - Tubos con tapones de algodón: 3 semanas.
 - Tubos con tapa de presión: 2 semanas.
 - Tubos con tapa rosca: 3 meses.
 - Caja Petri: 4 semanas.
 - Bolsas de plástico: 4 semanas (Jawetz, Melnick, & Adebeg).

2.6.3 Factores que intervienen en el crecimiento bacteriano

Para que una bacteria se desarrolle de forma efectiva en un medio de cultivo depende de algunos factores:

- Composición: deberá tener elementos indispensables para el crecimiento y desarrollo de la bacteria (Alvarez, Boquet, & Camino, 1995).

Tabla 5: Composición de los medios de cultivo
Composición de los medios de cultivo

F	Nitrógeno
	Carbono
	Fósforo
	Azufre
E.M	Calcio
	Magnesio
	Hierro
F.C	Aminoácidos
	Vitaminas
	Bases Púricas
	Bases pirimidínicas
F.E	Hidratos de carbono
	Sangre

Tabla realizada por el autor donde menciona los componentes de un medio de cultivo, Fuentes(F), Elementos minerales (EM), Factores de crecimiento (F:C), Factores estimulantes (F.E).

Fuente: (Alvarez, Boquet, & Camino, 1995).

- El pH: Las bacterias se desarrollan en un medio neutro con un pH de rango 6,8-7,6; sin embargo, algunas exigen un pH específico.
- Presión osmótica: Las bacterias tienen una pared celular compuesta para resistir la variación de presión, por tal motivo, los medios de cultivo son preparados en isofonía.
- El potencial Redox: está ligada con el tipo de respiración bacteriana, esta puede ser aerobia, anaerobia estricta, anaerobia facultativa, aerobia estricta y microaerófila.
- La temperatura: se debe considerar mucho este factor, en las bacterias de interés médico la temperatura oscila entre 35-37°C.

- La atmósfera: esto es para algunas bacterias que necesitan un ambiente gaseoso para su desarrollo (Alvarez, Boquet, & Camino, 1995).

2.6.4 Agar SS (*Salmonella-Shigella*)

2.6.4.1 Composición

Tabla 6: Componentes del Agar SS

Componente	Cantidad
Extracto de carne	5,0 g
Polipeptona o proteosa peptona	5,0 g
Lactosa	10,0 g
Sales biliares	8,5 g
Citrato sódico	10,0 g
Tiosulfato sódico	8,5 g
Citrato férrico	1,0 g
Verde brillante (solución acuosa al 0.1%)	0,33 cm ³
Rojo neutro (solución alcohólica 1%)	2,5 cm ³
Agar	13,5 g
Agua destilada	1,0 L

Tabla realizada por el autor donde se describe los componentes que tiene el agar SS.

Fuente: (INEN, 2013).

2.6.4.2 Preparación

- Diluir los componentes en un litro de agua destilada, agregar el agar, reposar por 15 min.
- El pH debe ser ajustado a $7,0 \pm 0,1$ añadir verde brillante y rojo neutro, homogenizando hasta su ebullición.
- No utilizar autoclave para su esterilización.
- Colocar en cajas Petri estériles un aproximado de 20 cm³ (INEN, 2013).

2.6.5. Agar Mueller Hinton

Es un medio sólido que se utiliza para determinación de sensibilidad se cepas aisladas (Scharlau Microbiology, 2012).

2.6.5.1 Composición

Tabla 7: Componentes del agar Mueller Hinton,

Componente	Cantidad
Extracto de carne bovina	0,2 g
Hidrolizado ácido caseína	17,5 g
Almidón	1,5 g
Agar	17,0 g
Agua destilada	1 L

Tabla realizada por el autor donde se describe los componentes que tiene el agar Mueller Hinton.

Fuente: (BD, 2017)

2.7 Antibiograma

El antibiograma es una prueba que se realiza para detectar la sensibilidad de microorganismos frente a determinados antibióticos de forma *in vitro* (Soto, 2013), según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (CLSI) define al antibiograma como: “Un perfil general de los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana de una especie microbiana frente a una bacteria de agentes antimicrobianos” (CLSI, 2010).

Para la interpretación de los resultados de un antibiograma se rige en los valores establecidos por: “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) en Estados Unidos, el European Committee on Antimicrobial Suceptibility Testing en Europa, estas entidades estudian las características microbiológicas farmacocinéticas para determinar la sensibilidad y/o resistencia de diferentes microorganismos frente a cada antibiótico, el método, más utilizado es el de Kirby Bauer (Tacuri, 2018).

Cuadro 1: Antibiograma de discos

Opción	Gram Negativos				Gram positivos	
	Intestinales	Urinaria	sangre y tejidos	Ps, Aeruginosa	Staphylococos	Streptococos
primera	Ampicilina	Ácido oxolinico	Amikacina	Carbenicilina	Penicilina G	Ampicilina
	Gentamicina	Norfloxacina	Ampicilina	Amikaseina	Oxacilina	Cloranfenicol
	Cloranfenicol	Ácido naidixico	Gentamicina	Gentamicina	Eritromicina	Tetraciclina
	Sulfa+trimetropin	Nitrofurantoina	Cloranfenicol	Tobramicina	Cloranfenicol	Eritromicina
	Tetraciclina	Sulfisoxazole	Cefamandol	Polimixina B	Clindamicina	Penicilina G
segunda		Sulfa+trimetropin	Sulfa+trimetropin	Tobramicina		
		Ampicilina	Cefoxitina	Colistina		Gentamicina
		Cloranfenicol	Cefotaxima			Netilmicina
		Gentamicina	Kanamicina			Vancomicina

Cuadro elaborado por el autor donde podemos apreciar los antibióticos de uso prioritario en un antibiograma según la muestra que tomemos, donde Ps (*Pseudomonas aeruginosa*).

Fuente: (Berna & Guzmán, 1984).

2.8 Patrón McFarland

Es una suspensión de sulfato de bario que nos ayuda a diferenciar a composición de las bacterias, el patrón utilizado es el 0.5 McFarland que contiene aproximadamente $1,5 \times 10^8$ bacterias en cada ml (Universidad de Antioquia, 2009).

2.8.1. Preparación

- Agregar 0.05ml de cloruro de bario a 9.95 ml de ácido Sulfúrico y mantenerla agitando
- Verificar la densidad del estándar con ayuda de un espectrofotómetro, la absorbancia a 625 nm y debe estar en un rango de 0.08 a 0.13 para el patrón 0.5 McFarland
- Colocar en tubos para medir el patrón y sellarlo (Hudzicki, 2009).

Cuadro 2: Cuadro del patrón de McFarland

Escala McFarland				
N°	BaCl ₂	H ₂ SO ₄	Volumen ml	U.F.C/ml
0,5	0,05	9,95	10	1,5X10 ⁸
1	0,1	9,9	10	3 X10 ⁸
2	0,2	9,8	10	6 X10 ⁸
3	0,3	9,7	10	9 X10 ⁸
4	0,4	9,6	10	12 X10 ⁸
5	0,5	9,5	10	15 X10 ⁸
6	0,6	9,4	10	18 X10 ⁸
7	0,7	9,3	10	21 X10 ⁸
8	0,8	9,2	10	24 X10 ⁸
9	0,9	9,1	10	27 X10 ⁸
10	1	9	10	30 X10 ⁸

En el cuadro fue realizado por el autor donde podemos apreciar las cantidades de las soluciones BaCl₂ (cloruro de bario) y H₂SO₄ (Ácido sulfúrico) para preparar el patrón de McFarland en 10 ml, con la cual mediante la comparación de turbidez sabremos cuantas U.F.C/ml (Unidades formadoras de colonias/mililitros) tenemos.

Fuente: (McFarland, 2017).

2.9 Método Kirby-Bauer

Este método es utilizado para determinar la sensibilidad de bacterias patógenas aerobias y anaerobias facultativas frente compuestos antimicrobianos, el cual es medido por la presencia o ausencia de crecimiento en el contorno del disco con el antimicrobiano, el cual es colocado en el agar Mueller Hinton (Hudzicki, 2009).

2.9.1 Siembra de la muestra

Una vez que hayamos realizado nuestro patrón de McFarland realizaremos los siguientes pasos hasta llegar a la de lectura del antibiograma o método de Kirby-Bauer.

- McFarland: sumergir un hisopo estéril en la muestra preparada.
- Remover: Remover el exceso de inóculo en los bordes del tubo.
- Siembra: Con el hisopo listo con el inóculo aplicar en la superficie del medio Mueller Hinton, evitar la sobre concentración del inóculo.
- Reposo: Dejar reposar el medio sembrado con la tapa cerrada para las bacterias se asienten en el medio de cultivo e inicien su proceso proliferativo con un tiempo entre 5 a 20 minutos.
- Discos: colocar los discos de antibióticos con un aplicador, en caso de no tenerlo colocarlo con ayuda de unas pinzas estériles, ejercer un poco de presión entre el disco y el medio Mueller Hinton, la cantidad de discos impregnados en los medios dependerá del tamaño del mismo, pudiendo colocar entre 1 y 8 discos.
- Incubación: Llevar el antibiograma a una incubadora la cual debe ser programada acorde a la temperatura, tiempo y humedad, según las necesidades de crecimiento del inóculo.
- Lectura: leer los antibiogramas después de 24h (Rodríguez, 2016).

2.10 Soxhlet

Es un equipo que se utiliza para extraer compuestos con ayuda de solventes, este equipo consta de 3 partes como son: balón colector, extractor, condensador, con ayuda de un papel filtro se realiza los cartuchos para la colocación de la muestra, su funcionamiento consiste en hacer hervir el solvente, el cual va a extraer a partir de una materia sólida desecada previamente preparada en el cartucho (Beserra & Martos, 2020).

2.10.1. Solventes para la extracción de aceite esencial

Dentro de estas normas nosotros se debe regir a legislación nacional de aromas y alimentos, sin embargo, en otros países tienen permitido la utilización de etanol, acetona hexano y alcohol isopropílico, cada uno de los solventes tienen restricciones el momento de la disposición de estos con respecto a la muestra (Aguilar, 2019).

2.10.2. Etapas del extractor Soxhlet

- Colocación del solvente en el balón.
- El solvente empieza su ebullición, se evapora y se dirige al condensador.
- Se precipita en el condensador y gotea sobre el cartucho que está dentro del sifón.
- El solvente condensado tapa el cartucho, llega al punto de reflujo y regresa al balón conjuntamente con el material extraído.
- Se repite el proceso de 7 a 12 veces (Lucia, 2019).

2.10.3. Ventajas y desventajas de la extracción mediante Soxhlet

En el procedimiento de extracción mediante Soxhlet podemos encontrar algunas ventajas y desventajas.

- Ventajas
 - La muestra está en contacto directo con solvente fresco en varias repeticiones.
 - Favorece la solubilidad de los analitos al estar en contacto con el solvente caliente.
 - El extracto no necesita ser filtrado
 - Es fácil de realizar
 - Tiene buenos resultados (Huincho & Quiroz, 2017).
- Desventajas
 - El tiempo necesario es largo con un intervalo entre 6 a 24h
 - La cantidad de solvente.
 - Los analitos termolábiles se pierden.
 - Es necesario de una destilación en la etapa final (Huincho & Quiroz, 2017).

2.11 Maceración

Es un método de extracción muy sencillo de realizar, una de sus características es que podemos realizarla en temperatura ambiente, consiste en remojar material vegetal con un solvente (Agua o Etanol), una de las recomendaciones que se da es la utilización de etanol, ya que el agua en un tiempo determinado favorece a la fermentación del material vegetal, este proceso dura entre 4 y 10 días, después del lapso de ese tiempo se extrae el líquido, luego será filtrado y evaporado para obtener su extracto (Palomares, 2019).

Es un proceso físico-químico del cual podemos extraer compuestos como son: taninos, fenoles, antocianos, sustancias aromáticas, nitrogenadas, minerales entre otros (Casassa, 2007).

2.11.1. Ventajas y desventajas

- Ventajas
 - Sirve para extracción de compuestos de raíces tallos y hojas
 - Necesita poco solvente
- Desventaja
 - Tiempo de demora.
 - Extracción incompleta de la droga.
 - Sustracción de solvente (Carrion & García, 2010).

2.11.2 Métodos de maceración

Existen dos métodos que podemos utilizar para esta técnica.

- Frío: Para este método podemos utilizar agua o alcohol, se coloca la muestra en un recipiente cerrado a temperatura ambiente y protegiéndolo de la luz solar (Mirian & Jannifer, 2020).
- Calor: en este método tenemos 2 técnicas
 - Infusión: Consiste mantener diferentes tiempos de temperaturas predefinidas, y pararas por tiempos predeterminados, en una constante agitación y mezcla.

- Cocción: consiste en la elevación de la temperatura hasta la ebullición, este procedimiento debe durar entre 10-15 min en ebullición, para luego ser, esta puede ser de varias etapas (Rodríguez, 2011).

2.12 Clasificación de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se clasifican por diferentes criterios uno de estos es la de Gonzales (2004), que clasifica a los aceites por la consistencia, origen, naturaleza de compuestos mayoritarios, composición elemental y punto de ebullición.

- **Por su consistencia se clasifica en:**
 - Esencias fluidas: son líquidos muy volátiles
 - Bálsamos: tienen una consistencia espesa, son poco volátiles y son de fácil proliferación.
 - Oleorresinas: son de forma muy viscosa o semisólidas (González, 2004).
- **Por su origen se clasifican en:**
 - Naturales: Son las que se obtienen a partir de plantas sin modificar su composición.
 - Artificiales: Estos son obtenidos mediante procesos de enriquecimientos a partir de las esencias con uno de sus componentes.
 - Sintéticos: Son originadas por la mezcla de componentes sintéticos para su obtención (González, 2004).

- **Según la naturaleza de los componentes mayoritarios se clasifican en:**
 - Monoterpenoides: Son compuestos terpenoides con dos unidades de isopreno.
 - Sesquiterpenoides: Son compuestos con terpenos de 15 carbonos.
 - Compuestos oxigenados: Compuestos que están conformados por carbono hidrógeno y oxígeno (González, 2004).

- **Según su composición elemental se clasifica en:**
 - Aceites pobres en oxígeno.
 - Aceites ricos en oxígeno.
 - Aceites nitrogenados.
 - Aceites sulfonados (Aguilar, 2019).

- **Según el punto de ebullición se clasifican en:**
 - Fijos: Estos tienen un punto de ebullición alto.
 - Persistentes: se volatilizan con mayor facilidad
 - Fugaces: Son muy volátiles y su acción demoras pocas horas (Aguilar, 2019).

2.13 Los Taninos

Son productos de origen natural con un peso molecular alto, los podemos encontrar en extractos de plantas, tienen distintas formas y son complejos (Mejía K. , 2017), son compuestos fenólicos que ayuda a controlar nematodos gastrointestinales, influyendo en funciones vitales (Hernández, y otros, 2018), los extractos tánicos tienen efecto antibiótico (Alvarado, 2018).

2.13.1 Clasificación de los taninos

Los taninos se clasifican según su tipo de estructura (Rosa, y otros, 2012).

- Hidrolizables: estos se hidrolizan por acción de los ácidos, bases o enzimas.
- Condensado: son taninos amorfos o rojos por acción de los ácidos.

2.13.2 Terapéutica de los taninos

El tratamiento con plantas ha sido de manera empírica, sin embargo, estos han tenido resultados favorables, han sido estudiados para comprobar su eficacia, presentan algunas acciones terapéuticas como (Colina, 2016):

- Ayuda a la fragilidad capilar
- Antiinflamatorio
- Antialérgica
- Antihepatotóxico
- Antiesclerótica
- Antiedematosa
- Contra la arteriosclerosis
- Contra la diabetes mellitus

- Expectorante
- Contra las úlceras intestinales
- Antiviral
- Antimicrobiano
- Diuréticos.

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Definición de la zona de estudio.

El estudio se realizó en los laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca, en la facultad de Ciencias Agropecuarias localizada en la provincia del Azuay cantón Cuenca “latitud: 2° 53’ 57” al sur y longitud 79° 00’ 55 oeste a una altitud aproximada de 2583 metros sobre el nivel del mar” panamericana norte km 2^{1/2}. (Fundación turismo cuenca, 2017)

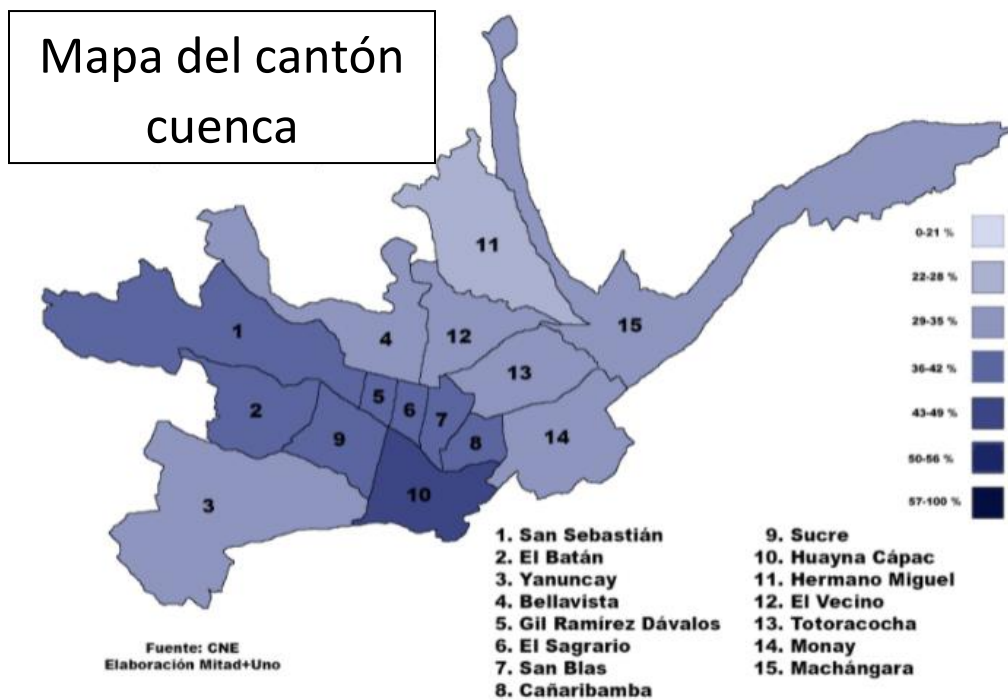


Figura 1: Ubicación de la zona de estudio

Fuente (Mitad, 2017)

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Materiales

- **Biológicos**
 - *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®.
 - Hojas de guásimo
 - Semillas de guásimo

- **Físicos**
 - Mascarilla
 - Guantes
 - Gorro de protección
 - Estufa
 - Balanza analítica
 - Recipiente plástico (botella plástica de galón)
 - Equipo de venoclisis
 - Algodón
 - Gasa
 - Papel filtro
 - Pesas de cristal
 - Trípode
 - Papel aluminio
 - Cinta adhesiva
 - Probeta
 - Frasco autoclavable
 - Pesa licor
 - Equipo soxhlet (condensador, sifón, balón)

- Equipo de destilación (condensador en espiral, balón de destilación)
- Termómetro de mercurio de 350°
- Termo agitador
- Mortero
- Corcho de caucho
- Microondas
- Refrigerador
- Cámara de bioseguridad
- Guante
- Mascarilla
- Gorro
- Caja Petri
- Baso de precipitación
- Hisopos
- Asa bacteriológica
- Lámpara de alcohol
- Gradilla
- Tubos eppendorf
- Papel Parafilm
- Puntas de 1ml
- Pipeta automática
- Varilla de vidrio
- Autoclave
- Incubadora
- Espátula
- Discos de sensibilidad en blanco
- Pinza
- Frascos ámbar
- Erlenmeyer

- **De oficina**
 - Lápiz
 - Libreta de apuntes
 - Marcador permanente
 - Regla
 - Tijeras
 - Engrapadora

- **Químicos**
 - Agar salmonella shigella (SS)
 - Agar Mueller Hilton
 - Agua bidestilada
 - Suero fisiológico
 - Alcohol de 96° y 70°
 - Agua destilada

3.3. Variables

3.3.1. Dependientes

- Crecimiento de *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®.
- Cantidad de extracto de la hoja de guásima
- Cantidad de aceite esencial de guásima

3.3.2. Independientes

- Hoja de Guásima.
- Semilla de Guásima.
- *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®

3.4. Indicadores

- Crecimiento bacteriano
- Sensibilidad al extracto

3.5. Diseño experimental

Se realizó 5 tratamientos T1 (extracto 1/19) T2 (extracto 1/3) T3 (extracto 1/1) T4 (extracto) T5 (aceite esencial) y se realizó 3 antibiogramas (repeticiones) con un intervalo de 3 días.

Cuadro 3: Cuadro de diseño experimental

Tratamientos	Tratamientos	Tratamientos	Tratamientos
T1(extracto 5%)	5	5	5
T2 (extracto 25%)	5	5	5
T3(extracto 50%)	5	5	5
T4(extracto 100%)	5	5	5
T5(aceite esencial 100%)	5	5	5
Total	25	25	25

Fuente: Elaborado por el autor

3.6. Procedimiento

3.6.1. Recolección de muestra

La muestra fue obtenida de un árbol de guásima ubicado en la provincia del Cañar parroquia San Antonio comunidad de Centro Patul, se recolectaron hojas verdes y frescas desde el árbol y se procedió a transportarlas al lugar de estudio donde se lavó y se desecó a temperatura ambiente eliminando así las impurezas, los frutos maduros fueron recolectados del suelo.



Figura 2: Árbol de guáxima

Fuente: Elaborado por el autor

3.6.2. Obtención de aceite esencial

3.6.2.1 Preparación de muestra

Los pasos realizados para la preparación de la muestra fueron los siguientes

- Recolección del fruto: se recolectó el fruto seco y maduro del árbol
- Secado del fruto: se realizó a temperatura ambiente durante 30 días
- Extracción de la semilla: esto lo realizamos con ayuda de un cuchillo al dividir la semilla por la mitad
- Secado de la semilla: se colocó la semilla en una estufa a 30°C durante 3 días
- Trituración: con ayuda de un mortero se trituró la semilla.
- Preparación de cartuchos: se colocó la muestra triturada en los cartuchos.

3.6.2.2 Extracción

La elaboración de los cartuchos tenía una medida de 14cm de largo y un ancho de 16cm, se preparó los cartuchos y se colocó 30gr de muestra en cada uno con ayuda de una balanza analítica, luego se colocó el cartucho en el sifón del equipo Soxhlet, se colocó el solvente (alcohol de 96°) en el balón del equipo, con ayuda de un termo agitador se procedió a calentar el solvente.

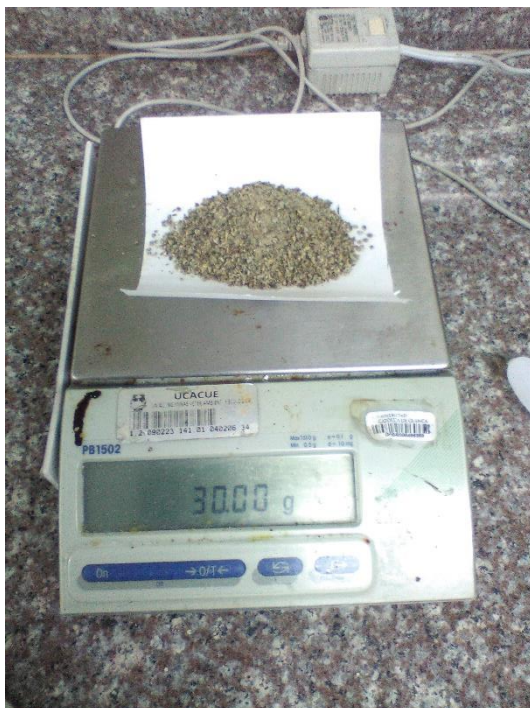


Figura 3: Cartuchos

Fuente: Elaborada por el autor

Una vez calentado el solvente empezó a rotar por el Soxhlet, se realizó 17 rotaciones en todo el equipo por un lapso de tiempo de 2 h, después se colocó el extracto en un balón de destilación, con ayuda de un condensador y de un

termo agitador se procedió a separar el solvente del aceite a una temperatura de 83°C, obteniendo así el aceite esencial.



Figura 4: Equipo Soxhlet

Fuente: Elaborada por el autor



Figura 5: Equipo de destilación.

Fuente: Elaborada por el autor.

3.6.3. Extracto de las hojas de guásimo

3.6.3.1 Maceración

Para la maceración de tomo en cuenta los siguientes pasos:

- Recolección de la hoja: las hojas frescas fueron colectadas directamente del árbol de guásima de la parte media de él.
- Lavado: con agua de lavó las hojas para eliminar las impurezas y se separaron las hojas para su secado
- Secado: se colocó en una estera para que se seque a temperatura ambiente durante 30 días.
- Trituración: se trituro las hojas secas para su debida maceración
- Preparación del envase: En el envase se colocó lo siguiente, papel filtro, algodón, papel filtro, muestra, papel filtro, pesas, alcohol en dicho orden.
- Maceración: se colocó en un envase en proporción 1gr/10ml de alcohol al 70% se recubrió el contorno con papel aluminio y se dejó macerar una semana.



Figura 6: Método de maceración.

Fuente: elaborada por el autor.

3.6.3.2 Extracción

Una vez macerado se procedió a separar el extracto de la muestra mediante un equipo de venoclisís colocado en la tapa del envase, para separar el alcohol del principio activo se colocó en vasos de precipitación cubiertos por una gasa en la estufa, se colocó a 30°C, cada día con una varilla de vidrio se homogenizaba la muestra, procedimiento que duró 20 días hasta terminar y obtener la muestra sin alcohol, misma que fue verificado con un alcoholímetro.



Figura 7: Pesa licor

Fuente: Elaborada por el autor.

La muestra sin alcohol fue filtrada al vacío, para mejorar la pureza del extracto esta se colocó en el buchner y con ayuda de una bomba la bacio se fue filtrando la muestra, luego se colocó en los frascos ámbar para ser utilizados en la elaboración de los discos de sensibilidad.



Figura 8: Filtrado al vacío.

Fuente: Elaborado por el autor.

3.6.4 Antibiograma

3.6.4.1 Preparación de agar

Se realizaron dos medios de cultivo en el cual se inoculó la muestra, estos medios son el agar SS y el agar Mueller Hinton estos fueron hechos semanalmente, para su elaboración se realizaron los siguientes pasos.

3.6.4.2 Preparación de agar SS

- Se pesó la cantidad de agar necesario con ayuda de la balanza analítica.
- Se colocó el agar en un vaso de precipitación y con una varilla de vidrio se diluyó el agar con agua destilada.
- Se calentó la mezcla con ayuda de microondas.
- Homogenizar con un intervalo de 1 minuto durante 3 minutos.
- Comprobar que el agar esté completamente diluido.
- Dejar que se enfríe a una temperatura manejable.
- Colocar en cajas Petri y esperar a que se solidifique.
- Sellar las cajas con ayuda de papel Parafilm.
- Guardar en un refrigerador para su uso.



Figura 9: Agar SS.

Fuente: Elaborada por el autor.

3.6.4.3 Preparación de agar Mueller Hinton

- Se pesó la cantidad de agar necesario con ayuda de la balanza analítica.
- Se colocó el agar en un vaso de precipitación y con una varilla de vidrio se diluyó el agar con agua destilada
- Se calentó la mezcla con ayuda de microondas.
- Homogenizar con un intervalo de 1 minuto durante 3 minutos
- Comprobar que el agar esté completamente diluido
- Colocar el medio de cultivo en un Erlenmeyer y tapanlo con una gasa estéril.
- Se auto clavo con ayuda de una autoclave
- Dejar que se enfríe a una temperatura manejable
- Colocar en cajas Petri y esperar a que se solidifique
- Sellar las cajas con ayuda de papel Parafilm
- Guardar en un refrigerador para su uso



Figura 10: Autoclave

Fuente: Elaborada por el autor.

3.6.4.5. Siembra de *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®

La *Salmonella typhi* ATCC 14028 ® se descongeló a temperatura ambiente, luego se llevó a la cámara de bioseguridad, con ayuda de un asa estéril se procedió a su respectiva siembra en el agar SS (siembra por agotamiento), con ayuda del papel Parafilm se selló la caja Petri y se la llevó a la incubadora la cual se dejó a 37° para su desarrollo durante 24 horas.



Figura 11: Siembra en agar SS.

Fuente: Elaborada por el autor.

3.6.4.6. Diluciones

Para las diluciones se trabajaron: T1 5% (1/19), T2 25% (1/3), T3 50% (1/1), T4 100% (1), T5 100% (1) las cuales fueron diluidas de siguiente forma muestra/agua bidestilada, con ayuda de una pipeta automática, se colocó la cantidad de muestra correspondiente a la dilución, (T1) 50 UI de muestra + 950UI de agua bidestilada, (T2) 250 UI de muestra + 750UI de agua bidestilada, (T3) 500 UI de muestra de hoja + 500 UI de agua bidestilada, (T4) 1000UI extracto de hoja, (T5) 1000 UI de aceite esencial.



Figura 12: Preparación de diluciones.

Fuente: Elaborada por el autor.

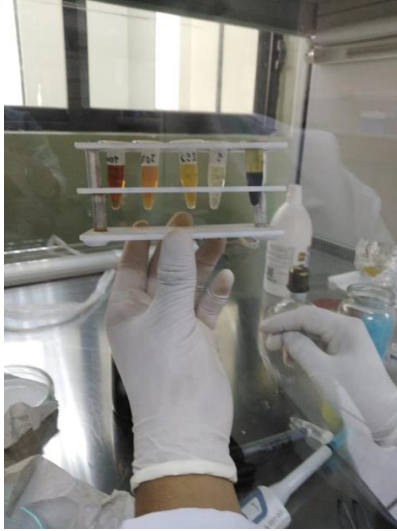


Figura 13: Diluciones.

Fuente: Elaborada por el autor.

3.6.4.7. Discos de sensibilidad

Para preparar estos discos se las llevó a la cámara de bioseguridad los tratamientos y los discos en blanco, con ayuda de una pinza se colocó los discos en blanco en las diluciones y se dejó reposar, luego de los colocó en una caja Petri para llevar a la estufa para que se sequen para luego ser utilizados.

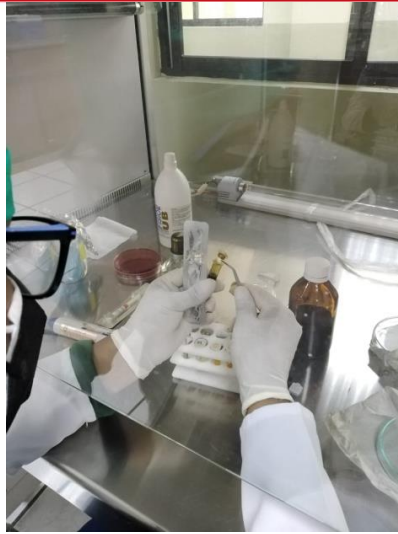


Figura 14: Preparación de discos.

Fuente: elaborada por el autor.



Figura 15: Discos con diluciones.

Fuente: Elaborado por el autor.

3.6.4.8. Lectura del antibiograma

Una vez ya cultivada la *Salmonella typhi* ATCC 14028 ® en el agar SS se procedió a inocular en el agar Mueller Hinton, para esto se utilizó el patrón de McFarland 0.5 el cual consistía en diluir colonias de bacterias en suero

fisiológico, con ayuda de un hisopo estéril se colocó toda la superficie del agar Mueller Hinton, con ayuda de la pinza se procedió a colocar los discos en las cajas, se selló la caja y se llevó a incubar por 24 h, posterior se verificó el efecto de la sensibilidad.



Figura 16: Patrón McFarland.

Fuente: Elaborada por el autor.

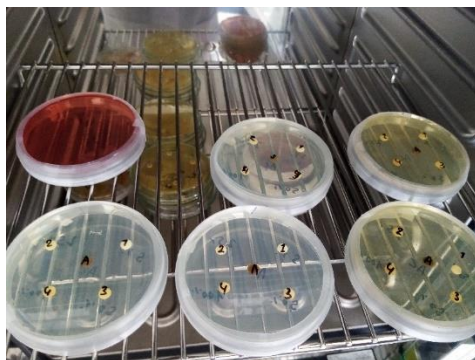


Figura 17: Antibiograma.

Fuente: Elaborada por el autor.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

4.1. Descripción de los resultados

4.1.1. Rendimiento del aceite de guásima

Para calcular el rendimiento de aceite de la guásima nos basamos en las en la siguiente fórmula.

$$\% \text{ aceite} = \frac{PBM - PB}{PM} \times 100$$

Donde:

Siglas	Significado
PBM	Peso del balón más muestra
PB	Peso del balón
PM	Peso de la muestra

$$\% \text{ aceite} = \frac{131,70g - 131,02g}{30g} \times 100\%$$

$$\% \text{ aceite} = \frac{0,68g}{30g} \times 100\%$$

$$\% \text{ aceite} = 0.02266g \times 100\%$$

$$\% \text{ aceite} = 2.26\%$$

Cumple con la norma de determinación de grasa por el método de Soxhlet al demostrar que la cantidad de grasa es <30%.

Cuadro 4: Extracción de aceite de *Guazuma ulmifolia* obtenido por el método soxhlet.

Extracción	Muestra seca	Volumen de aceite ml
1	30.0 g	0,5
2	30.0 g	0,5
3	30.0 g	0,5
4	30.0 g	0,5
5	30.0 g	0,5
6	30.0 g	0,5
Promedio		0,83333333
Desviación		0,36514837

Fuente: Elaborada por el autor.

Se realizaron 6 extracciones durante 6 días con la misma cantidad de muestra seca y triturada (30 g de semilla de Guácima), llegando a obtener 3ml de aceite esencial, el volumen obtenido de aceite varió entre extracción dando como promedio 0,83 ml con una desviación de 0,36.

4.1.2. Rendimiento de maceración

La obtención del principio activo se realizó a partir de 250 g de muestra seca (hoja de Guácima) a la cual se añadió 2.500ml de etanol al 70% se lo macero por 7 días, luego se evaporó el alcohol en una estufa a 30°C durante 20 días y obtuvimos 75ml de principio activo de (*Guazuma Ulmifolia*).

4.1.3. Tratamientos

Cuadro 5: Efecto antibiótico del extracto de guásima al 5%

Extracto 5%	R1	R2	R3
T1	negativo	negativo	negativo
T1	negativo	negativo	negativo
T1	negativo	negativo	negativo
T1	negativo	negativo	negativo
T1	negativo	negativo	negativo

Fuente: Elaborado por el autor.

En el tratamiento 1 se realizó un antibiograma con discos en blanco en el cual fue colocado el extracto obtenido de la maceración al 5% correspondiente a la dilución 1/19, los cuales todos no tuvieron el efecto antibiótico deseado frente a la *Salmonella Typhi* ATCC 14028 ®.

Cuadro 6: Efecto antibiótico del extracto de guácima al 25%

Extracto 25%	R1	R2	R3
T2	negativo	negativo	negativo
T2	negativo	negativo	negativo
T2	negativo	negativo	negativo
T2	negativo	negativo	negativo
T2	negativo	negativo	negativo

El tratamiento 2 fue realizado con el extracto obtenido a partir de la maceración, este se colocó en los discos de sensibilidad en blanco a una concentración del 25% correspondiente a la dilución 1/3, no demostró un efecto antibiótico frente a la *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®

Cuadro 7: Efecto antibiótico del extracto de Guácima al 50%

Extracto 50%	R1	R2	R3
T3	negativo	negativo	negativo
T3	negativo	negativo	negativo
T3	negativo	negativo	negativo
T3	negativo	negativo	negativo
T3	negativo	negativo	negativo

El tratamiento 3 fue realizado con el extracto obtenido de la maceración el cual fue colocado en los discos en blanco con una concentración de 50% el cual correspondía a una dilución 1/1, este no tuvo un efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028®.

Cuadro 8: Efecto antimicrobiano del extracto de guásima al 100%

Extracto 100%	R1	R2	R3
T4	negativo	negativo	negativo
T4	negativo	negativo	negativo
T4	negativo	negativo	negativo
T4	negativo	negativo	negativo
T4	negativo	negativo	negativo

El tratamiento 4 fue realizado con el extracto obtenido de la maceración el cual se colocó en los discos de sensibilidad en blanco con una concentración del 100%, no se obtuvo efecto antibiótico frente a cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028®.

Cuadro 9: Efecto antibiótico del aceite esencial de Guácima al 100%

ACEITE esencial 100%	R1	R2	R3
T5	negativo	negativo	negativo
T5	negativo	negativo	negativo
T5	negativo	negativo	negativo
T5	negativo	negativo	negativo
T5	negativo	negativo	negativo

El tratamiento 5 fue realizado con el aceite esencial obtenido por el método Soxhlet el cual fue colocado en los discos de sensibilidad en blanco con una concentración del 100%, en el cual no se obtuvo efecto antibiótico frente a las cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028®.

4.2. Discusión

La semilla de guásimo tiene bajo rendimiento en el aceite esencial siendo representado en un 2.26%, en todas las extracciones obtuvimos un promedio de 0.83 ml a partir de 30 g de muestra sin embargo en el estudio de Matulevich & García, (2016) nos demuestra que la hoja tiene un bajo rendimiento de aceite del 0.028% a partir de 350 g de hoja, podemos demostrar que la cantidad extraída de aceite a partir de la semilla es mayor al de las hojas.

Dentro del manejo del equipo Soxhlet la temperatura es un factor que afecta a los principios activos esto es mencionado por Huincho & Quiroz, (2017) en su investigación, existen muchos principios activos termolábiles, al exponer el extracto de Guásima a temperaturas superiores a los 30° C estos se pierden Morales, (1998), en el presente trabajo al momento de realizar la extracción del aceite mediante Soxhlet el solvente se eleva con una temperatura de 82° C y al momento de separar el solvente del aceite mediante un destilador la temperatura aumentó hasta 82° C.

Los taninos son compuestos que pueden funcionar contra microorganismos, el estudio de Hernández, y otros, (2018) nos demuestra que existen taninos que funcionan como antibióticos frente a la *Salmonella typhi* estos taninos son extraídos de plantas como *Allium sativum*, *Curcuma longa*, *Eucalyptus globulus* *Jatropha glandulifera*, *Tamarindus indica*, sin embargo, en la presente investigación no presentó efecto antibiótico en ninguna de las concentraciones utilizadas del extracto de Guácima.

Estudio de la guásima como antibacteriano ha sido muy extenso ya que tiene varias propiedades medicinales que actúa como antibiótico Antolina, *et,al*, (2018) en 1990 Cáceres y col. dan a conocer el poder antibiótico de la guácima en afecciones entéricas Jiménez, Guzmán, & Ezequiel, (2014) causadas por *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae* y *Shigella flexneri*, para lo se utilizó las hojas en forma de infusión y fue administrada de forma oral (Villatoro, Cazares, & González, 2006), sin embargo en la presente investigación la *Salmonella typhi* ATCC 14028® presentó resistencia al uso in vitro del extracto de guácima.

La guácima tiene poder antimicrobiano al activar la captación de glucosa en los adipocitos sensibles a la insulina que fue demostrado por (Josabad & Salazar, 2008).

4.3. Conclusiones.

Una vez obtenido los resultados de la presente investigación se concluye que:

- El extracto de guásima y el aceite obtenido de la semilla no obtuvo efecto positivo frente a la *Salmonella typhi* ATCC 14028®.
- Mediante el método de maceración obtuvimos cantidad suficiente de principio activo para realizar el estudio, además la cantidad de aceite extraído por el método de Soxhlet es mínima.
- El aceite esencial de la guácima obtenida por el método Soxhlet no tiene efecto antibiótico sobre las cepas certificadas de *Salmonella typhi* ATCC 14028®.
- Al aplicar los discos de sensibilidad con distintas concentraciones del principio activo sobre las cepas de *Salmonella typhi* ATCC 14028® en el agar Mueller Hinton, no tuvieron el resultado deseado.

4.4 Recomendaciones

- Probar el efecto anti microbiano de otros extractos frente a bacterias causantes de salmonelosis.
- Utilizar el extracto de guásima sobre otro tipo de microorganismo que afecte la salud animal.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, J. (2019). *Extracción y caracterización físicas y química del aceite esencial de hinojo (foeniculum vulgare miller) por los métodos de arrastre de vapor y soxhlet*. (Tesis de grado), Universidad Nacional José María Arguedas, Apurímac. Obtenido de https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/123456789/568/Junior_Tesis_Bachiller_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Alvarado, S. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Rev Cubana Med Trop*, 70(2), 1-12. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602018000200006
- Alvarez, V., Boquet, E., & Camino, I. (1995). *Manual de técnicas en microbiología clínica* (Vol. 1). Quito: Asociación Española de Farmacéuticos Analistas.
- Antolina, E., Castro, S., & Sánchez, O. (2018). *Herbolaria de los Tének de Veracruz*. Veracruz: Centro de Investigaciones Tropicales, Universidad Veracruzana. Obtenido de <https://patrimoniobiocultural.com/archivos/publicaciones/libros/Herbolaria-de-los-Tenek-de-Veracruz.pdf>
- Azuero, M., & Guallpa, E. (2017). *Influencia de hábitos alimentarios en presentación de la salmonelosis*. (Tesis de grado), Universidad estatal de Milagro, Milagro. Obtenido de <http://repositorio.unemi.edu.ec/bitstream/123456789/3614/1/INFLUENCIA%20DE%20H%C3%81BITOS%20ALIMENTARIOS%20EN%20PRESENTACI%C3%93N%20DE%20LA%20SALMONELLOSIS..%20AZUERO%20AZUERO-GUALLPA%20LEDESMA.pdf>
- Ballesteros, N., Rubio, M., Delgado, E., Méndez, D., Braña, D., & Rodas, O. (2016). Perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella* spp. aislados de carne de res molida en la Ciudad de México. *Salud pública Méx*, 58(3), 371-377. doi:<https://doi.org/10.21149/spm.v58i3.7897>
- Barreto, G., Sedrés, M., Rodríguez, H., & Gevara, G. (2010). Agentes bacterianos asociados a brotes de Enfermedades transmitidas por Alimentos (ETA) aislados de coprocultivos. *REDVET*, 11(3), 1695-7504. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63613123011.pdf>
- BD. (2017). *Instrucciones de uso medios en placas listos para usar*. Obtenido de www.bd.com: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8774>

- Berna, M., & Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica Kirby-Bauer. *BIOMEDICA*, 4(3), 112-121. Obtenido de [file:///C:/Users/HP/Music/rancheras/1891-Texto%20del%20manuscrito%20completo%20\(cuadros%20y%20figuras%20insetos\)-7206-1-10-20130814.pdf](file:///C:/Users/HP/Music/rancheras/1891-Texto%20del%20manuscrito%20completo%20(cuadros%20y%20figuras%20insetos)-7206-1-10-20130814.pdf)
- Beserra, A., & Martos, E. (2020). *Determinación de la temperatura y el tiempo óptimo en el rendimiento de la extracción del aceite de palta fuerte (persea americana) por el método soxhlet*. (Tesis de grado), Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Cajamarca. Obtenido de <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/1224/TESIS%20INDUSTRIAL01.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Carrion, A., & García, C. (2010). *Preparación de extractos vegetales : Determinación de eficiencia Metódica*. (Tesis de grado), Universidad de Cuenca, Cuenca. Obtenido de <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>
- Carrión, E. (2020). *Estrategias sostenibles para la protección contra inundaciones de las zonas vulnerables del cantón Santa Rosa: Estudio de caso*. (Tesis de grado), Universidad Técnica de Machal, Machala. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15479/1/ECFCS-2020-GEA-DE00001.pdf>
- Casassa, F. S. (2007). Influencia de dos técnicas de maceración sobre la composición polifenólica, aromática y las características organolépticas de vinos cv. Merlo. *Revista Internet de Viticultura y Ecología*, 4(109), 5-20. Obtenido de <https://www.infowine.com/intranet/libretti/libretto4368-01-1.pdf>
- CLSI. (2010). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests* (Vol. 40).
- Coba, N. (2019). *Determinación de Salmonella typhi y su relación a enfermedades diarreicas en los comerciantes del mercado Mayorista de la ciudad de Ambato*. (Tesis de grado), Universidad Técnica de Ambato , Ambato. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29703/2/Xavier%20Coba%2c%20Final.pdf>
- Colina, A. (2016). *Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay (Cusco)*. (Tesis de grado), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Obtenido de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/7121/Colina_ra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Cosme, I. (2010). El uso de las plantas medicinales. *Revista intercultural*, 23-26. Obtenido de https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p23-26_2010-0.pdf;sequence=1

- Delgado, R. (2015). Peculiaridad de la clasificación taxonómica y nomenclatura del género *Salmonella*. *Acta Médica del Centro*, 9(4), 73-75. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2015/mec154l.pdf>
- Flores, L., & Vásquez, L. (2018). *Actividad antibacteriana in vitro de combinaciones vegetales de Morinda Citrifolia L, Physalis Angulata L y Lupinus Mutabilis Sweet frente a Escherichia Coli, Enterococcus Faecalis y Staphylococcus Aureus*. (Tesis de grado), Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Isquitos. Obtenido de http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5503/Lourdes_Tesis_Titulo_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Fundación turismo cuenca. (2017). *cuenca.com.ec*. Recuperado el 2021, de <http://cuenca.com.ec/es/conoce-cuenca>
- Gómez, e. (2014). Efecto de la inclusión del fruto de la Guazuma ulmifolia como sustituto de maíz en la dieta sobre el comportamiento productivo y rendimiento en canal de ovinos pelibuey. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17, 215-222. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/939/93931761007.pdf>
- Gonzáles, A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del Amazonas*. (Tesis de grado), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Obtenido de <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandreagonzalezvill.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Haya, J. (2020). *Uso práctico de la fitoterapia en ginecología*. Buenos Aires: Panamericana. Obtenido de https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=rDAKu224tG0C&oi=fnd&pg=PA1&dq=fito+terapia+2020&ots=1GjQV88OP8&sig=_Q9Gp_r3bGbZBQWHIMZu0ARpw2s#v=onepage&q=fito%20terapia%202020&f=false
- Hernández, J., Zaragoza, A., López, G., Peláez, A., Olmedo, A., & Rivero, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nemátodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico vet*, 8(1). doi:<https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>
- Herrera, A., Tablada, M., Ortiz, S., López, S., Jimenez, E., & López, F. (2009). Utilización del guácimo (guazuma ulmifolia lam.) como fuente de forraje en la ganadería bovina extensiva del trópico mexicano. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10, 253-261. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/939/93912989012.pdf>
- Hilda, R., Calleros, G., Vargas, J., Salcedo, L., & Barrientos, E. (2015). Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de hoja de Guazuma ulmifolia Lam. contra fitopatógenos. *La Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6(27), 114-124. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000100010&lng=es&nrm=iso

- Hoyos, T. (2014). *Determinación de de la concentración de tanino en las hojas, corteza y fruto de la especie de Guásimo (Guazuma ulmifolia lam.) Cajamarca Perú.* (Tesis de grado), Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamrca. Obtenido de <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/414/T%20K10%20H678%202014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Societty For Microbiology.* Obtenido de <https://www.asmscience.org/docserver/fulltext/education/protocol/protocol.3189.pdf?expires=1621793890&id=id&accname=guest&checksum=D9CC8B6E7168B96F7F61F2F0CBAE622A>
- Huincho, L., & Quiroz, J. (2017). *Condiciones favorables para la obtencion de clorofila a partir de las hojas de remolacha (Beta Vulgaris L.) mediante equipo soxhlet mordificado.* (Tesis de grado), Universidad Nacional de Callao, Callao.
- INEN. (2013). *Control microbiológico de alimentos . Preparación de medios de cultivo y reactivos.* Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-1-1R.pdf>
- ISO. (2019). *Medios de cultivo y reactivos Norma ISO 17025.* Obtenido de StuDocu: <https://www.studocu.com/bo/document/universidad-autonoma-tomas-frias/microbiologia/practica/medios-de-cultivo-y-reactivos-norma-iso-17025/5076662/view>
- Iván, Z., & Janett, C. (2017). Enfermedades transmitidas por los alimentos: Una mirada puntual para el personal de salud. *ENF INF MICROBIO*, 37(3), 95-104. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2017/ei173e.pdf>
- Jawetz, Melnick, & Adeberg. (s.f.). *La garantía de la calidad en microbiología.*
- Jiménez, L., Guzmán, M., & Ezequiel, V. (2014). Traditional medicinal plants used for the treatment of Gastrointestinal Diseases in Chiapas, México. *World Applied Sciences Journal*, 31(4), 508-515. Obtenido de <https://studylib.es/doc/6192091/traditional-medicinal-plants-used-for-the-treatment>
- Josabad, A., & Salazar, I. (2008). The anti-diabetic properties of Guazuma ulmifolia Lam are mediated by the stimulation of glucose uptake in normal and diabetic adipocytes without inducing adipogenesis. *Revista de etnofarmacología*, 118(2), 252-256. doi:10.1016 / j.jep.2008.04.007
- Lucia, G. (2019). *Optimización del proceso de extracción de aceite de teberinto (Moringa oleifera) mediante método soxhlet.* (Tesis de grado), Univercidad del Callao, Callao. Obtenido de <http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/4396/gabriel%20gaspar%20maestria%20fiq%202019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Matulevich, J., & García, J. (2016). Composición química del aceite esencial de hojas de guazuma ulmifolia (malvaceae). *Scientia et Technica Año Año XXI*, 21(3), 269-272. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/849/84950585010.pdf>
- McFarland. (2017). Obtenido de <https://fiestadelosmicroorganismos.wordpress.com/2017/03/02/practica-23-escala-mcfarland/>
- Mejía, K. (2017). *Parametros óptimos para obtención de taninos, de la semilla del fruto del Algarobo (Prosopis Pllida)a nivel del laboratorio por metodo de maceración*. (Tesis de grado), Univesidad Nacional del Callao, Callao. Obtenido de file:///C:/Users/HP/Downloads/cholo/Mej%C3%ADa%20Ruiz%20_TESIS_2017.pdf
- Mejía, N. (2019). *Determinación de salmonella typhi y su relación a enfermedades diarreicas en los comerciantes del mercado mayorista de la ciudad de ambato*. (Tesis de grado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/29703/2/Xavier%20Coba%2c%20Final.pdf>
- Michanie, S. (2015). Salmonella en alimentos cambio de paradigma. *ACADEMIA*, 319(1). Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/40110675/2015_Salmonella_en_Alimentos_Cambio_de_Paradigma-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1628902410&Signature=d-nGxl-Lf2Arm0i4frEWTQReJzoyWt345DeDBQHCBafFYDMbOt7gzzjZU0cAFk34wxb7VBIPgZ93VzWEmRRQBnGXGuE8blOfTA8jdWPmk3p
- Mirian, C., & Jannifer, C. (2020). *Determinación de capacidad antioxidante de propóleo obtenido mediante dos métodos de extracción*". (Tesis de grado), Universidad de Guayaquil, Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/50968/1/BCIEQ-T-0550%20Chil%c3%a1n%20Le%c3%b3n%20Mirian%20Estefan%c3%ada%3b%20Consuegra%20Coello%20Jennifer.pdf>
- Mitad. (2017). Recuperado el 2021, de <https://mitad-mas-1.blogspot.com/2017/04/lenin-moreno-gana-en-cuenca-gracias.html>
- Morales, A. (1998). *Composición química-nutricional de algunos árboles como alternativa alimentaria para rumiantes en el trópico seco*. (Tesis de grado), UNAM, México. doi:http://132.248.9.41:8880/jspui/handle/DGB_UNAM/TES01000259513
- MSP. (2021). <https://www.salud.gob.ec/>. Obtenido de Subsistema de vigilancia sive-alerta enfermedades transmitidas por agua y alimentos Ecuador Se 01,2021: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/Etas-SE-01.pdf>
- Murray, P. R. (2017). *Microbiología médica* (Vol. 8). Elsevier Health.

- Naranjo, F. L. (2013). Métodos de extracción e identificación de los bioactivos de la *Lavandula officinalis* y su potencial uso como agente sedante. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 44(1100), 60-65. Obtenido de scielo: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v44n1/v44n1a8.pdf>
- OMS. (2015). <https://www.who.int>. Obtenido de Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria: <https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>
- OMS. (s.f.). *Organizacion Mundial de la Salud*. Obtenido de Zoonosis y medio ambiente: https://www.who.int/es/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019?gclid=Cj0KCQjwgtWDBhDZARIsADEKwgN8JCnjHuCMxzQMm2ZIEjllqTlanDxoLoq1GOSDgQEJoJCuuQDzreYaAq3pEALw_wcB
- Palomares, I. (2019). *Obtención de fenoles totales de extractos hidroalcohólicos en diferentes tiempos de maceración de hojas de guayaba (Gsidium guajava l.) Y de aguacate (Persea americana mill.)*. (Tesis de grado), Universidad Auntonomas del Estado de Mexico, México. Obtenido de http://148.215.1.182/bitstream/handle/20.500.11799/99168/Tesis%20lsa.pdf?sequence=1&isAllowed=y&fbclid=IwAR3voZ26kNdVwoZKdvYYnJa3vSLuPWQaLd_zdGID3DIJSiZQImJ6x_6ifW8
- Parra, M., Durango, J., & Máttar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por. *Revista MVZ Córdoba*, 7(2), 187-200. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/693/69370201.pdf>
- Prado, Avalos, Morales, Tellez, Hargis, Gracia, & Macedo. (2012). Efecto del quitosán y ácidos rgánicos contra Salmonella en carne pollo, bovino y cerdo. *AECASEM*(5), 170-175.
- Pumarola, M. (2020). Enfermedad animal, zoonosis y 'One health': lo que hemos aprendido los veterinarios a lo largo de la historia. *Forum of Animal Law Studies*, 11(4), 98-105. doi:<https://doi.org/10.5565/rev/da.520>
- Ramírez, H., Calleroa, G., Vargas, J., Pérez, E., et al., & Ramírez, L. (2015). Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de hoja de Guazuma ulmifolia Lam. contra fitopatógenos. *Rev. mex. de cienc. forestales*, 6(27), 114-124.
- Rincón, P., Ramirez, R., & Vargas, J. (2011). Transmisión de Salmonella enterica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. *Rev. Univ. Ind. Santander.*, 43(2), 167-177. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072011000200008

- Rodríguez, L. (2016). *Sistema de automatização do antibiograma por disco-difusão em aplicação clínica e ambiental*. (Tesis maestría), Universidad de Brasília, Brasília. Obtenido de [file:///C:/Users/HP/Downloads/2016_LuanFelipeRodriguesCosta%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/2016_LuanFelipeRodriguesCosta%20(1).pdf)
- Rodríguez, J. (2011). *Propuesta de control y supervisión del proceso de maceración de la cervecería "Antonio Díaz Santana"*. (Diplomado), Universidad Central Marta Abreu de la Villas, Santa Clara. Obtenido de <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/4641/Jorge%20Alejandro%20Rodr%C3%ADguez%20Cap%C3%B3.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rojas, F., & Torres, G. (2019). Árboles del Valle Central de Costa Rica: Reproducción. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 16(39), 61-63. doi:<https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/4431>
- Rosa, C., Torres, C., Camacho, O., Calderón, Z., Herrea, E., & Milena, O. (2012). Cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de *Glycine max* (soya) y su efecto larvicida contra *Aedes aegypti*. *revsta colombiana de ciencias de la salud*, 1(1), 39-43.
- Saz, P. (2020). Una consulta de medicina naturista, criterio y terapias utilizadas. *Medicina naturista*, 14(1). Obtenido de <file:///C:/Users/HP/Downloads/Dialnet-UnaConsultaDeMedicinaNaturista-7248966.pdf>
- Scharlau Microbiology. (2012). <http://m.annardx.com/>. Obtenido de AGAR MUELLER-HINTON: <http://m.annardx.com/productos/images/productos/industria/microbiologia-industrial/01136500.pdf>
- Scull, R. (1998). Plantas medicinales de uso tradicional en Pinar del Río. Estudio etnobotánico. I. *Rev Cubana Farm*, 32(1). Recuperado el 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75151998000100009&script=sci_arttext&tlng=pt
- Soto, L. D. (2013). Lectura interpretada del antibiograma. *Rev Cub Med Mil*, 42(4), 502-506. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572013000400012&script=sci_arttext&tlng=pt
- Stübing, G. (2013). Fitoterapia aplicada. *An. R. Acad. Med. Comunitat Valenciana*, 14. Obtenido de https://www.uv.es/ramcv/2013/050_VII_I_Dr_Stubing_Fitoterapia_aplicada.pdf
- Tacuri, N. (2018). *Bacterias aisladas con mayor frecuencia y perfil de resistencia antibiótica en cultivos y antibiogramas de muestras procedentes de la unidad de cuidados intensivos del hospital regional docente de cajamarca*. (Tesis de grado), Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca. Obtenido de

https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/2758/P016_43989127_S.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Universidad de Antioquia. (2009). *Medicina y Laboratorio*. Edimeco. Obtenido de <https://www.asmscience.org/docserver/fulltext/education/protocol/protocol.3189.pdf?expires=1621793890&id=id&accname=guest&checksum=D9CC8B6E7168B96F7F61F2F0CBAE622A>

Villatoro, R., Cazares, I., & González, a. (2006). Recurso herbario de Chapas. *Ciencia* 83, 18-26. Obtenido de file:///C:/Users/HP/Downloads/12063-11802-0-PB.pdf

Wang, X., S, B., N, P., H, P., X, L., & M, F. W. (s.f.). Antibiotic resistance in Salmonella Typhimurium isolates recovered from the food chain through national antimicrobial resistance monitoring system between 1996 and 2016. *Front. Microbiol*, 10(985). doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00985>

XI. ANEXOS

Ilustración 1: Trituraron de la semilla.



Ilustración2: muestra triturada



Ilustración 3: Obtención de aceite destilación:



Ilustración 4: Obtención de aceite.



Ilustración 5: Separación de aceite.



Ilustración 6: aceite obtenido



Ilustración 7: Maceración.



Ilustración 8: Filtración de muestra.



Ilustración 9: Muestra sin alcohol.



Ilustración 10: filtración al vacío del extracto.



Ilustración 11: preparación de tratamientos

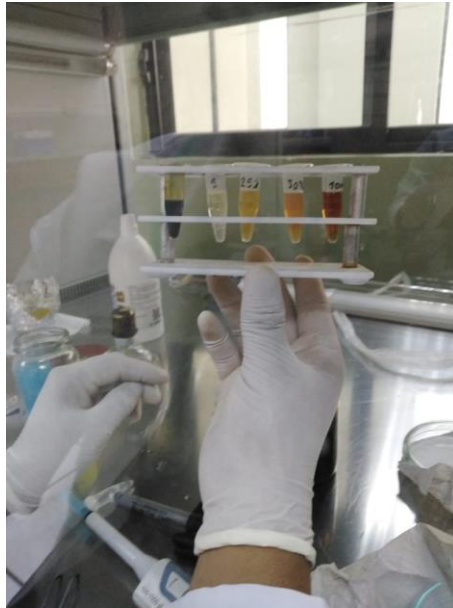


Ilustración 12: Preparación de discos de sensibilidad.

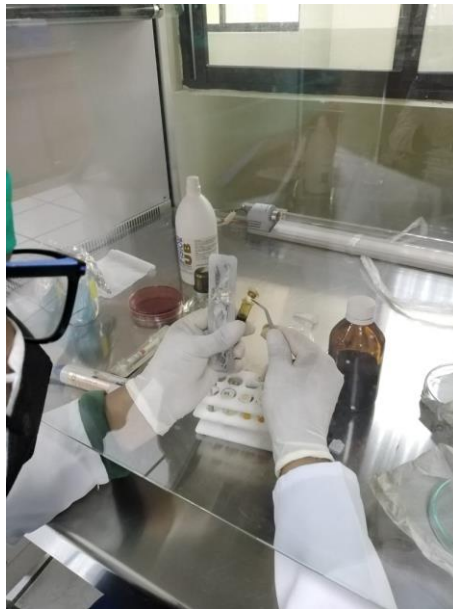


Ilustración 13: Discos de sensibilidad con principio activo.

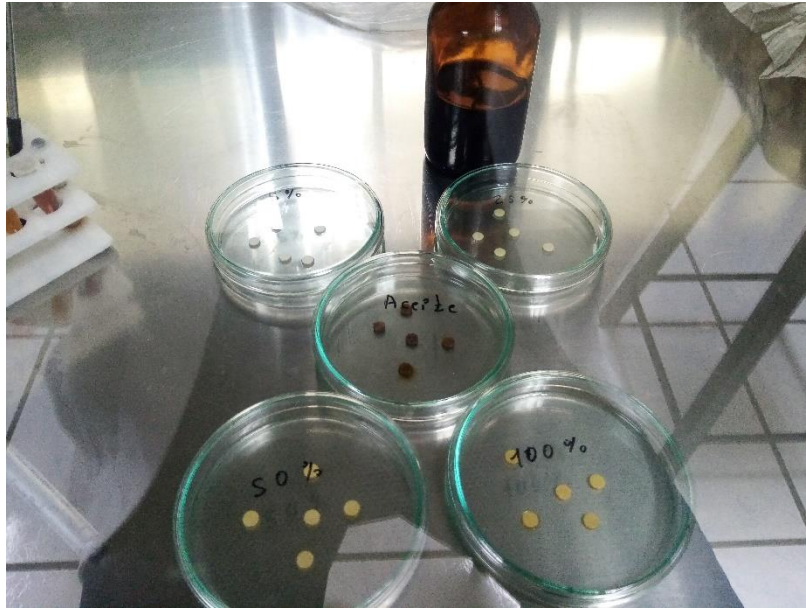


Ilustración 14: *Salmonella typhi* ATCC 14028 ®.



Ilustración 15: Incubación con discos de sensibilidad.

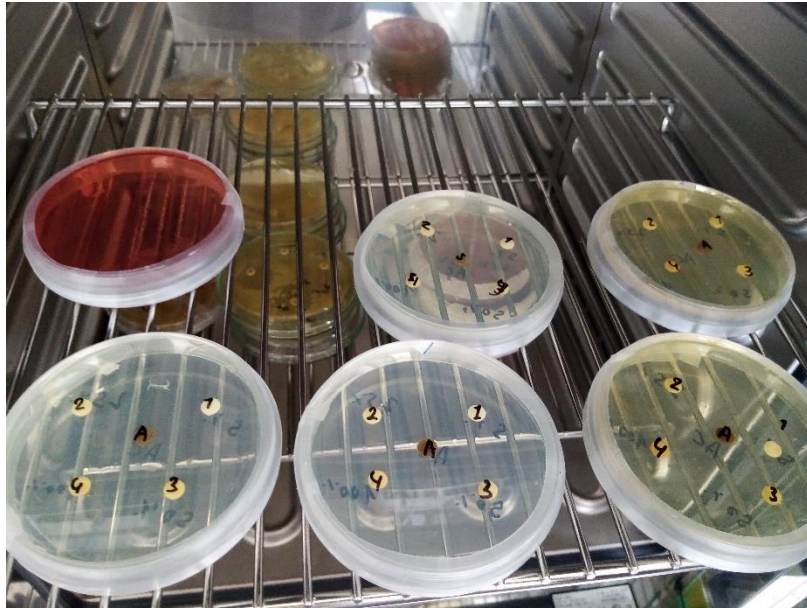


Ilustración 16: antibiograma.



Anexo 17: Informe de originalidad.

ANÁLISIS DEL EFECTO DEL ESXTRACTO DE LA GUÁCIMA (GUAZUMA ULMIFOLIA) EN CEPAS CERTIFICADAS DE SALMONELLA TYPHI

INFORME DE ORIGINALIDAD

3%	3%	1%	1%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.normalizacion.gob.ec Fuente de Internet	1%
2	diariooficial.gob.mx Fuente de Internet	1%
3	Submitted to Universidad Pedagogica y Tecnologica de Colombia Trabajo del estudiante	1%
4	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	<1%
5	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	<1%
6	antoniopizarrobarrera.info Fuente de Internet	<1%

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Anexo 18: Declaración de autoría y responsabilidad.

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Italo Adrian Morocho Duy portador(a) de la cédula de ciudadanía N° 0302126750. Declaro ser el autor de la obra: “Análisis del efecto del extracto de la guácima (guazuma ulmiforma) en cepas certificadas de Salmonella typhi”, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, 9 de septiembre de 2021



Italo Adrian Morocho Duy

C.I. 0302126750

Anexo 19: Autorización de uso del documento para fines educativos.

Italo Adrian Morocho Duy portador de la cédula de ciudadanía N° 0302126750. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “Análisis del efecto del extracto de la guácima (guazuma ulmiforma) en cepas certificadas de Salmonella typhi” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 9 de septiembre de 2021



Italo Adrian Morocho Duy

C.I. 0302126750