

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN –TACNA

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO *in vitro* DEL ACEITE

ESENCIAL DE LAS SEMILLAS DE *Moringa oleífera* FRENTE A

GENTAMICINAY NITROFURANTOÍNA,

SOBRE *Escherichia coli* ATCC 35218,

TACNA -2017

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. KIMBERLY YELITZA XIMENA RODRÍGUEZ BERRIOS

Para optar el Título Profesional de

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Tacna – Perú
2018

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO *in vitro* DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS SEMILLAS DE *Moringa oleífera* FRENTE A
GENTAMICINA Y NITROFURANTOÍNA,
SOBRE *Escherichia coli* ATCC 35218,
TACNA -2017**

TESIS

Presentada por:

Bach. KIMBERLY YELITZA XIMENA RODRÍGUEZ BERRIOS

Para optar el Título Profesional de
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Aprobado por, ante el siguiente jurado:



MSc. Edgard Guido Calderón Copa
Presidente



Mgr. Yemile del Carmen Berrios Espejo
Miembro



Dr. Juan José Evaristo Changllo Roas
Miembro



Q.F. Orlando Agustín Rivera Benavente
Asesor

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Sandra y Oscar, ya que ellos son el núcleo dentro de mi nube electrónica, gracias a su esfuerzo, su paciencia y apoyo he logrado culminar el presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por darme la vida.

A mis padres por su apoyo incondicional.

A mi asesor de tesis por apoyarme constantemente en este trabajo.

A mis jurados de tesis por ser pacientes conmigo.

Al laboratorio del Hospital Hipólito Unanue de Tacna por proporcionarme la cepa de Escherichia coli.

Finalmente, les agradezco a todas las personas que me apoyaron de una u otra manera para llevar a cabo este trabajo.

CONTENIDO

HOJA DE JURADOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION.....	4
1.1. Descripción del problema	4
1.2. Formulación del problema	6
1.2.1. Problema general.....	6
1.2.2. Problemas específicos	6
1.3. Justificación e importancia de la investigación	7
1.4. Alcances y limitaciones.....	8

1.4.1. Alcances	8
1.4.2. Limitaciones	9
1.5. Objetivos.....	9
1.5.1. Objetivo general	9
1.5.2. Objetivos específicos	10
1.6. Hipótesis.....	10
1.6.1. Hipótesis general	10
1.6.2. Hipótesis específicas	11
1.7. Variables de la investigación	13
1.8. Definición operacional de las variables.....	14
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	18
2.1. Antecedentes a nivel internacional	18
2.2. Antecedentes a nivel nacional	30
2.3. Antecedentes a nivel local	31
2.4. Bases teóricas	31
2.4.1. Taxonomía de <i>Moringa oleífera</i>	31
2.4.2. Historia de la <i>Moringa oleífera</i>	33
2.4.3. Composición fisicoquímica del aceite de <i>Moringa oleífera</i>	34

2.4.3.1. Características físicas del aceite de <i>M. oleífera</i>	34
2.4.3.2. Composición química del aceite de <i>M. oleífera</i>	35
2.4.3.3. Actividad antimicrobiana del aceite de <i>M. oleífera</i>	38
2.4.3.4. Usos del aceite de <i>M. oleífera</i>	39
2.4.3.5. Toxicidad	43
2.4.4. Extractos vegetales	44
2.4.5. Métodos de extracción	45
2.4.6. Uso de agentes patógenos	46
2.4.7. <i>Escherichia coli</i>	47
2.4.7.1. Taxonomía	47
2.4.7.2. Patología	48
2.4.7.3. Tratamiento	48
2.4.8. Gentamicina	50
2.4.8.1. Propiedades farmacológicas	50
2.4.9. Nitrofurantoína	51
2.4.9.1. Propiedades farmacológicas	51
2.4.10. Prueba de sensibilidad antibiótica (PSA)	52
2.4.11. Concentración bactericida mínima	55

2.4.12. Concentración inhibitoria mínima	55
2.5. Definición de términos	56
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	59
3.1. Tipo de investigación	59
3.2. Diseño de la investigación	59
3.3. Nivel de investigación	59
3.4. Población y muestra	60
3.4.1. Población	60
3.4.2. Muestra	60
3.5. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	60
3.5.1. Método de la prueba de Sensibilidad Antibiótica.....	60
3.5.2. Instrumentos de recolección de datos.....	61
3.5.3. Técnica de recolección de información	61
3.6. Materiales y/o instrumentos	61
3.6.1. Equipos de laboratorio	61
3.6.2. Material de vidrio.....	62
3.6.3. Medios de cultivo	62
3.6.4. Otros	63

3.7. Procesamiento de datos	63
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	65
4.1. Análisis de prueba de normalidad	65
4.1.1. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i>	65
4.1.2. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del antibiótico Gentamicina.....	67
4.1.3. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del antibiótico Nitrofurantoína	69
4.2. Obtención de aceite a partir de las semillas de <i>Moringa oleífera</i>	71
4.3. Replicación de <i>Escherichia coli</i>	71
4.4. Preparación de los discos de sensibilidad	72
4.5. Prueba de sensibilidad antimicrobiana (PSA).....	72
4.6. Resultados de la prueba de sensibilidad antibiótica (PSA).....	72
4.7. Resultados de la actividad de los agentes antimicrobianos.....	77
4.7.1. Análisis de la actividad antimicrobiana del aceite de <i>Moringa oleífera</i>	77
4.7.2. Análisis de la actividad antimicrobiana de la Gentamicina	78
4.7.3. Análisis de la actividad antimicrobiana de la Nitrofurantoína ..	79

4.7.4. Análisis descriptivo de la actividad antimicrobiana de los antibióticos y del aceite de <i>M. oleífera</i>	80
4.8. Comprobación de hipótesis	82
4.8.1. Comprobación de la primera hipótesis específica.....	82
4.8.2. Comprobación de la segunda hipótesis específica	84
4.8.3. Comprobación de la tercera hipótesis específica.....	87
4.8.4. Comprobación de la cuarta hipótesis específica.....	90
4.8.5. Comprobación de la hipótesis general	93
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	98
CONCLUSIONES	103
RECOMENDACIONES.....	106
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108
ANEXOS	119

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Métodos de extracción.....	46
Figura 2.	Semillas trituradas de <i>Moringa oleífera</i>	121
Figura 3.	Semillas de <i>Moringa oleífera</i> preparadas para destilación..	122
Figura 4.	Semillas de <i>Moringa oleífera</i> destiladas	123
Figura 5.	Aceite de semilla de <i>Moringa oleífera</i>	124
Figura 6.	Placas preparadas con agar Mac Conkey	125
Figura 7.	Resultados de incubación de placas inoculadas.....	126
Figura 8.	Discos preparados para dilución.....	127
Figura 9.	Discos con aceite.....	128
Figura 10.	Cepas <i>E. coli</i> inoculadas en placas	129
Figura 11.	Placas incubadas con <i>E. coli</i>	130
Figura 12.	Resultados de placas incubadas con <i>E. coli</i>	131

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Operacionalización de la variable 1.	15
Tabla 2.	Operacionalización de la variable 2.	16
Tabla 3.	Operacionalización de la variable 3.	17
Tabla 4.	Taxonomía de <i>Moringa oleífera</i>	32
Tabla 5.	Composición de ácidos grasos de las semillas de <i>Moringa oleífera</i>	37
Tabla 6.	Taxonomía del <i>Escherichia coli</i>	47
Tabla 7.	Prueba de normalidad del aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i>	66
Tabla 8.	Prueba de normalidad del antimicrobiano Gentamicina.....	68
Tabla 9.	Prueba de normalidad del antimicrobiano Nitrofurantoina	70
Tabla 10.	Resultados de la prueba de sensibilidad antibiótica	73
Tabla 11.	Patrones estándar de los antibióticos	74
Tabla 12.	Categorización de antibióticos con patrones estándar.....	76
Tabla 13.	Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i>	78
Tabla 14.	Actividad antimicrobiana de Gentamicina	79
Tabla 15.	Actividad antimicrobiana de Nitrofurantoína.....	80

Tabla 16.	Análisis descriptivo de la actividad de los agentes antimicrobianos.....	81
Tabla 17.	Prueba de Chi-cuadrado Actividad antimicrobiana del aceite de <i>Moringa oleífera</i>	83
Tabla 18.	Actividad antimicrobiana del <i>aceite de Moringa</i> y el antimicrobiano Gentamicina.....	86
Tabla 19.	Actividad antimicrobiana del <i>aceite de Moringa</i> y el antimicrobiano Nitrofurantoina	89
Tabla 20.	Actividad antimicrobiana de Gentamicina y Nitrofurantoina ..	92
Tabla 21.	Diferencias de la acción antimicrobiana del aceite de <i>Moringa oleífera</i> en contraste con los antibióticos	95

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, tuvo como objetivo comparar el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli*. La metodología utilizada fue: la técnica de difusión por disco de Kirby Bauer. El procesamiento de información se realizó mediante, el estudio de frecuencias, estadístico chi-cuadrado y correlación de Pearson, obteniendo 56,70 % de sensibilidad para la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*, 96,7

% de sensibilidad para Gentamicina y Nitrofurantoína se mostró "Resistente" sobre la bacteria *Escherichia coli*.

Por lo tanto, el aceite esencial presenta diferencias significativas con la acción bactericida de Gentamicina y con la Nitrofurantoína.

Palabras clave: Aceite esencial, *Escherichia coli*, halos de inhibición, *Moringa oleífera*, sensibilidad antimicrobiana.

ABSTRACT

The objective of this research work was to compare the in vitro antimicrobial effect of the essential oil of *Moringa oleífera* seeds against Gentamicin and Nitrofurantoin on *Escherichia coli*. The methodology used was Kirby Bauer's disk diffusion technique. The information processing was carried out through frequency study, chi-square statistic and Pearson correlation, obtaining 56,70 % sensitivity for the antimicrobial activity of the essential oil of *Moringa oleífera* seeds, 96,7 % sensitivity for Gentamicin and Nitrofurantoin was "Resistant" on the bacterium *Escherichia coli*.

Therefore, the essential oil presents significant differences with the bactericidal action of Gentamicin and with Nitrofurantoin.

Key words: Antimicrobial sensitivity, Essential oil, *Escherichia coli*, inhibition halos, *Moringa oleífera*.

INTRODUCCIÓN

En recientes investigaciones se demostró la actividad antimicrobiana de las semillas de *M. oleífera* sobre las bacterias *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, causantes de la fiebre tifoidea, el cólera y la gastroenteritis, respectivamente. Se considera que este resultado puede tener gran impacto en la salud pública, ya que al trabajar con agentes antimicrobianos naturales, se pueden establecer métodos de bajo costo y biosostenibles para el control de enfermedades para mejorar la calidad de vida en comunidades pobres; ya que en muchas de ellas, debido al alto costo del cloro y otros desinfectantes, no se practica ningún tratamiento al agua de consumo diario, lo que genera enfermedades provocadas por los microorganismos contaminantes (1).

El uso de la *Moringa oleífera* ha venido siendo utilizada por décadas en la vida diaria de la población de la zona rural de África, utilizan las hojas, raíces y semillas, manifiestan que usan esta planta para tratar alrededor de 34 enfermedades(2). En la actualidad se cultiva prácticamente en todas las regiones tropicales, subtropicales y semiáridas del mundo (1)

Casi todas las partes de esta planta se han utilizado para diversas enfermedades en la medicina popular de Asia meridional, incluyendo el tratamiento de la inflamación y enfermedades infecciosas junto con enfermedades cardiovasculares, gastrointestinales, hematológicas, hepáticas y renales (3) y (4).

Aun teniendo en cuenta su utilización ancestral, su aplicación ha sido más bien empírica y la mayor parte de la información existente proviene de la tradición oral o de publicaciones de carácter general. Sólo a finales del siglo XX este árbol empezó a recibir una atención merecida por parte de la comunidad científica.

Durante las últimas dos décadas se han publicado numerosos reportes sobre la evaluación científica de los procesos de utilización de la planta, así como la identificación de principios activos y mecanismos de acción, lo que ha permitido explicar muchos de los efectos beneficiosos previamente conocidos, optimizar su explotación y proponer nuevas aplicaciones (1).

Así mismo en el ámbito nacional no se han reportado investigaciones sobre la actividad antimicrobiana de las diferentes partes de la planta *M. oleífera*.

Teniendo en cuenta la información sobre *Moringa oleífera*, la presente investigación tiene como finalidad: Comparar el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína, sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, Tacna-2017.

El trabajo consta de cinco capítulos y se describen a continuación: Capítulo I, el Planteamiento de la investigación que comprende la descripción y formulación del problema, justificación, alcances, limitaciones, determinación de objetivos, hipótesis y variables de la investigación. El capítulo II, comprende el Marco teórico que contiene los antecedentes del estudio, bases teóricas y definición de términos. El capítulo III, comprende el Marco Metodológico en esta sección se da a conocer el tipo, diseño y nivel de la investigación, además de la determinación de la población y muestra, los métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos, los materiales y/o equipos utilizados y los análisis del procesamiento de datos. En el capítulo IV se presentan los resultados, se da a conocer la información obtenida después de realizar la investigación. En el capítulo V, la discusión de los resultados alcanzados son presentados y contrastados con investigaciones de otros autores. Finalmente, son redactadas las conclusiones y recomendaciones de la investigación.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION

1.1. Descripción del problema

En la actualidad en la ciudad de Tacna las enfermedades del tracto urinario son uno de los orígenes de Mortalidad general, según causas de selección(5). Además, las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes tanto en la comunidad como en el ámbito hospitalario (6).

No sólo representan un problema clínico, sino que tienen además una gran repercusión económica por los costos sanitarios que representan. Más del 95 % de las ITU están causadas por una única especie bacteriana. *E. coli*, causa entre el 75y el95 % de los episodios de cistitis aguda no complicada. *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* y *enterococos* son responsables de la gran mayoría de los episodios restantes. Cuando el agente causal del primer episodio es *Escherichia coli* es más probable que tengan una recurrencia en los seis meses siguientes que si se trata de un microorganismo distinto(6).

La pielonefritis (infección de vía urinaria superior), suele tratarse con una serie de antibióticos como: Ceftriaxona, Ciprofloxacino, Amoxicilina, Cefuroxima, Gentamicina, Nitrofurantoína, entre otros. Estos antibióticos aparte de combatir las bacterias que originan la infección, varios de ellos poseen escasa eliminación urinaria, alteraciones en la sensibilidad, especificidad y bajo valor predictivo en las pruebas debido a que algunos antibióticos interfieren en las reacciones e interpretaciones erróneas de la lectura y sobretodo muchas de ellos generan resistencia antibacteriana (6).

Otro de los problemas que se han evidenciado es que la acción antimicrobiana de la *Moringa*, a pesar de su uso en multitud de remedios y tratamientos médicos en diferentes partes del mundo, no todo está documentado en la literatura científica. El estudio de la química y la farmacología asociadas a sus atributos médicos es reciente y aún está en desarrollo. Y aunque muchos de sus beneficios terapéuticos han sido comprobados mediante rigurosas investigaciones *in vitro e in vivo* en modernos laboratorios, otros están pendientes de ser avalados por pruebas clínicas(1).

Teniendo en cuenta la problemática mencionada se decidió investigar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas

de *Moringa oleífera* frente a la bacteria *E. coli*. A su vez realizar una comparación de su efecto antimicrobiano frente a antibióticos como Gentamicina y Nitrofurantoína con la finalidad de proponer una alternativa natural para el tratamiento de las infecciones urinarias o de cualquier infección causada por *E. coli*.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la diferencia del efecto antimicrobiano *in vitro* entre el aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*, Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218, Tacna-2017?

1.2.2. Problemas específicos

- a) ¿Cuál será la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218?
- b) ¿Cuáles serán las diferencias del efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de semillas de *M. oleífera* y Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218?

- c) ¿Cuáles serán las diferencias del efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de semillas de *M. oleífera* y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218?
- d) ¿Cuál será la relación del efecto antimicrobiano in vitro de Nitrofurantoína y Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218?

1.3. Justificación e importancia de la investigación

La justificación desde el punto de vista académico es importante porque a nivel local no se evidencian estudios relacionados con la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Moringa oleífera*.

Desde el punto de vista científico la investigación se justifica porque a partir del estudio de las propiedades bactericidas del aceite esencial de *Moringa oleífera*, y su comparación con antibióticos como Gentamicina y Nitrofurantoína, sobre cepas de *Escherichia coli* nos permitirá evaluar si esta planta presenta actividad antimicrobiana representativa para ser usada como suplemento de alguno de los antibióticos mencionados y/o ser utilizado en el tratamiento de las

infecciones del tracto urinario u otras infecciones como una alternativa no convencional.

La presente investigación es importante porque existen investigaciones de diversos estudios que han comprobado que el aceite de las semillas de *Moringa oleífera* presenta actividad antimicrobiana sobre especies patógenas intrahospitalarias; como cepas de *E. coli*, y que, por lo tanto, pueden tomarse como base estos antecedentes para la presente investigación. Puede también ser considerada como una fuente eficaz de antimicrobianos naturales con potenciales aplicaciones, por ejemplo, en la industria farmacéutica para controlar diferentes bacterias Gram- positivas y Gram-negativas, involucradas en enfermedades gastrointestinales(7)(8) y (9).

1.4. Alcances y limitaciones

1.4.1. Alcances

El presente estudio describirá la relación existente entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*, Gentamicina y Nitrofurantoína sobre las cepas de *Escherichia coli*, se centra en el posible uso

de la *Moringa oleífera* como una alternativa al tratamiento convencional de las infecciones del tracto urinario.

1.4.2. Limitaciones

Las limitaciones que surgieron en la investigación fueron las siguientes:

- No se contó con un Botánico que hiciera un reconocimiento Taxonómico, para conocer específicamente la variedad de esta planta.
- No se realizó la estandarización del aceite, por lo cual la composición del mismo se basó en la literatura encontrada.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Comparar el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, Tacna-2017

1.5.2. Objetivos específicos

- a) Describir la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.
- b) Comparar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. oleífera* frente a la Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC35218.
- c) Comparar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. oleífera* frente a la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218.
- d) Comparar la actividad antimicrobiana de los antibióticos Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218.

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis general

H1: Hipótesis alterna: Existen diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas

de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218.

Ho: Hipótesis nula: No hay diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218.

1.6.2. Hipótesis específicas

1ra hipótesis específica

- Ho: Hipótesis nula: No existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.
- H1: Hipótesis alterna: Si existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

2da hipótesis específica

- Ho: Hipótesis nula: No existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.
- H1: Hipótesis alterna: Sí existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

3ra hipótesis específica

- Ho: Hipótesis nula: No existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.
- H1: Hipótesis alterna: Sí existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

4ta hipótesis específica

- Ho: Hipótesis nula: No existe relación entre la actividad antimicrobiana de la Gentamicina y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.
- H1: Hipótesis alterna: Sí existe relación entre la actividad antimicrobiana de la Gentamicina y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

1.7. Variables de la investigación

Las variables de la investigación son las siguientes:

Variable 1.

- Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Moringa oleífera*

Variable 2.

- Efecto antimicrobiano de la Gentamicina

Variable 3.

- Efecto antimicrobiano de la Nitrofurantoína

1.8. Definición operacional de las variables

En las Tablas 1,2 y 3 se presenta la operacionalización de las variables:

Tabla1. Operacionalización de la variable 1.

Variable 1	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala
Efecto antimicrobiano del aceite esencial de <i>Moringa oleifera</i>	Estudios bacteriológicos demostraron la actividad antimicrobiana de los extractos de semillas de <i>Moringa</i> , los cuales flocculan bacterias Gram positivas y Gram negativas. Su acción bacteriostática, cuyo principal responsable es el Isotiocianato de Bencilo, tiene acción bactericida sobre varias especies patógenas.(10)	Determinar la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> .	Actividad antimicrobiana	Tamaño del halo(mm)	Razón

Fuente: Elaboración propia

Tabla2. Operacionalización de la variable 2.

Variable 2	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala
Efecto antimicrobiano de la Gentamicina	La actividad antimicrobiana de la Gentamicina se pone en evidencia sobre bacterias gramnegativas aerobias, incluyendo enterobacteriáceas, <i>Pseudomonas</i> y <i>Haemophilus</i> . Actúa también sobre estafilococos (<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i>) incluyendo cepas productoras de penicilinas, tiene actividad muy limitada sobre estreptococos. Carece de actividad sobre bacterias anaerobias.(11)	Antibiótico de primera línea utilizado en ITU, se determinará su actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> .	Actividad antimicrobiana	Tamaño del halo (mm)	Razón

Fuente: Elaboración propia

Tabla3. Operacionalización de la variable 3.

Variable 3	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala
Efecto antimicrobiano de la Nitrofurantoína	El efecto antibacteriano de la nitrofurantoína se utiliza específicamente para el tratamiento de las infecciones urinarias producidas por gérmenes gram-negativos y por algunos gram-positivos. Se presenta bajo dos formas cristalinas: macro y microcristalina. Esta última es más eficaz, empleándose la forma microcristalina para aquellos pacientes que no toleran la forma macrocristalina.(12)	Antibiótico de primera línea utilizado en ITU, se determinará su actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> .	Actividad antimicrobiana	Tamaño del halo (mm)	Razón

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes a nivel internacional

En un estudio realizado por Pérez M, Cabrera L, Colina G (2015), en la Universidad de Zulia, Maracaibo-Venezuela; se evaluó la actividad antibacteriana del extracto acuoso de hojas y semillas de *Moringa oleífera* tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano de extractos acuosos de *Moringa oleífera* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. La concentración final del extracto fue de 50mg/ml. Para demostrar el efecto inhibitorio se utilizó la técnica de difusión en agar nutriente, incubados a 37 °C por 24 horas. Como resultado ambas especies bacterianas resultaron afectadas en su crecimiento por efecto de extractos de semillas (rango de halos entre 1,0 a5,0 mm). Los resultados reflejaron halos de inhibición de 3 mm para extractos de hojas y 5 mm para extractos de semillas para las cepas de *S. aureus* y halos de 1 y 2 mm de inhibición para extracto de semilla, por parte de cepas de *E. coli*(13).

Un estudio realizado por Ojiako EN (2014), en la Universidad de Ciencia y Tecnología de Anambra, Nigeria; se realizó la extracción de *Moringa oleífera* mediante soxhlet utilizando como solvente etanol, y el extracto se usó para realizar los análisis antimicrobianos. El resultado mostró que el extracto de etanol inhibe la acción de *Staphylococcus aureus* 9 mm, *Escherichia coli* 4 mm, *Salmonella tiphy* 6 mm, *Mucor* 3 mm y *Candida albicans* 3 mm. Extracto de N-hexano inhibe *Salmonella tiphy* 4 mm, *Mucor* 2 mm, *Candida albicans* 2 mm; mientras, que no tenía acción sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. El acetato de etilo posee la zona más alta de 10 mm en *Staphylococcus aureus* y *Salmonella tiphy* seguido de *E. coli* 8 mm, *Candida albicans* 4 mm y *Mucor* 2 mm. El análisis fitoquímico mostró la presencia de taninos y alcaloides en los tres extractos, se descubrió que las flobataninas solo estaban presentes en el extracto de n-hexano, mientras que estaban ausentes en los extractos de etanol y acetato de etilo, también estaban presentes saponinas y fenoles en el etanol y extractos de acetato de etilo y ausentes en extracto de n-hexano. Se encontró que el análisis cuantitativo era: taninos (8,22 %), saponinas (1,75 %), alcaloides (0,42 %) y fenoles (0,19 %). *Moringa oleífera* podría usarse para curar muchas enfermedades como fiebre tifoidea, diarrea, niveles altos de azúcar en la sangre, hipertensión y trastornos gastrointestinales. Se aconseja

que esta planta se utilice para cocinar y para hacer otras formulaciones que sean comestibles.(14).

Un estudio realizado por D Zotam JK, Touani FK, Kuete V (2016), en el Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias, en la Universidad de Dschang - Camerun denominado “Antibacterianos y modificadores de actividad antibiótica de tres plantas alimenticias (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleífera* Lam., y *SchottPassiflora edulis* Sims) contra bacterias (MDR) Gram-negativas multi-resistentes a los fármacos.” Cuyo objetivo fue investigar las actividades antibacterianas del extracto de metanol de tres plantas comestibles, *Xanthosoma mafaffa*, *Moringa oleífera* y *Passiflora edulis* y sus efectos sinérgicos con algunos antibióticos de uso común contra las bacterias Gram-negativas MDR que expresan bombas de eflujo activo. Se utilizó el método de microdilución de caldo para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) y las concentraciones bactericidas mínimas (MBC) de los extractos, así como las de los antibióticos en asociación con los extractos. La prueba fitoquímica indicó que todos los extractos crudos probados contenían polifenoles, triterpenos y esteroides mientras que otras clases fitoquímicas se distribuyeron selectivamente. Los extractos mostraron actividades

antibacterianas con concentraciones inhibitorias que oscilaban entre 128 y 1024 µg / ml en la mayoría de las 19 cepas bacterianas Gram-negativas ensayadas. (15).

En la Universidad Estatal de Ceará, Brasil (2015), los investigadores Nogueira Brilhante, Raimunda Sâmia; Alencar Sales, Jamille; Souza Sampaio, Celia Maria; Neto Paiva, Manoel de Araújo; Melo Guedes, Glaucia Morgana; Pereira de Alencar, Lucas, realizaron un estudio denominado: "Inhibición de *Vibrio spp.* del cultivo de camarones *Macrobrachium amazonicum* por extractos de *Moringa oleífera*". Producto de su trabajo en donde se investigó el potencial antimicrobiano *in vitro* de extractos de tallos, hojas, flores, vainas y semillas de *Moringa oleífera* contra *Vibrio spp.* del agua de incubación de la gamba *Macrobrachium amazonicum*. El mejor resultado que obtuvieron con el extracto etanólico de vainas, inhibió cuatro cepas de *V. cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio mimicus* y *E. coli* (rango de MIC 0,312-5,000 mg / ml). El extracto de cloroformo de las flores fue eficaz contra todas las cepas de *V. cholerae* y *E. coli* (rango de MIC de 0,625-1,250 mg / ml). (16).

Una investigación realizada por Gomes de Sousa et al. (2016), de la Universidad Regional de Catalao – Brasil, titulada: “Tiempo de Influencia Binomial / Temperatura en la Actividad Bactericida del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam*”. Tenía por objetivo medir la estabilidad de la actividad antimicrobiana de un extracto acuoso de las semillas de *Moringa oleífera Lam*. versus tiempo / temperatura. Se analizó a partir del método de difusión en disco en *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y especies de *Pseudomonas aeruginosa*. Los extractos fueron colocados a cuatro temperaturas diferentes (8, 25, 37, y 42 °C) y monitoreados a tiempo cero tres días, siete días y diez días. El extracto únicamente fue susceptible a *Staphylococcus aureus* (zona de inhibición > 13 mm). El aumento de volumen de extracto no condujo a una mayor eficacia del control de *Staphylococcus aureus*. Al disminuir a tres días en el extracto se observó actividad bactericida. La temperatura no influye en el tamaño de la (zona de inhibición, aunque los extractos mantenidos a 8 °C mantuvieron su efecto inhibitorio durante más tiempo. Los resultados de este estudio indican la posible aplicación del extracto de semilla de *Moringa oleífera Lam*. como una alternativa interesante a la agricultura, como en la conservación de alimentos.(17).

En la investigación llevada a cabo por Fernandes Vieira *et al.* (2013), en Sao Paulo – Brasil, examinaron los efectos antibacterianos de extractos acuosos y etanólicos de semillas de *Moringa oleífera* y de *Annona muricata*, en concentraciones de 1:5 y 1:10 en volúmenes de 50, 100, 150 y 200 μ L frente a *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* (aislada del organismo y del medio acuático) y *Salmonella Enteritidis*. Se detectó actividad antibacteriana (halo de inhibición > 13 mm) en *S. aureus*, *V. cholerae* y *E. coli* aislados del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, en extractos acuosos y etanólicos de *Moringa oleífera*; *Escherichia coli* fue aislado de la tilapia, *Oreochromis niloticus*, los resultados mostraron ser “Sensible” al extracto etanólico de *Moringa*. Los extractos acuosos de guanábana mostraron un efecto antibacteriano contra *S. aureus* y *V. cholerae*, pero no se demostró la actividad antibacteriana de los extractos de etanol de esta planta. El efecto bactericida de *Moringa oleífera* en *E. coli*, mostraron halos de inhibición con diámetros de 22,5 mm para un volumen de 50 *ul*, 23 mm para 100 *ul*, 24 mm para 150 *ul* y 27 mm para 200 *ul*.(18).

Mahamadou Bafoutché (2014), de la Universidad Central “Marta Abreu” de la Villas – Cuba, realizó una investigación titulada

Propiedades fungicida, bactericida y aglutinante de las semillas de *Moringa oleífera* Lam. La investigación se desarrolló con el objetivo de estudiar las propiedades fungicidas de semillas de *Moringa oleífera* frente *Rhizoctonia solani* y *Stemphylium solani*, bactericida contra *Escherichia coli* y aglutinantes contra coliformes totales. La acción fungicida de semillas de *M. oleífera* fue comprobada en el test de inhibición del crecimiento de hifas y/o micelios por la técnica de difusión en agar. La propiedad bactericida fue comprobada mediante el ensayo de susceptibilidad que se realizó por el método de difusión por disco. Se realizó un aislamiento de los microorganismos más representativos presentes en la muestra de agua residual. La capacidad floculante y aglutinante de semillas maceradas y extracto acuoso, respectivamente, se comprobó frente a coliformes totales. El extracto acuoso de semillas de *M. oleífera* no tuvo inhibición de crecimiento del hongo *R. solani* pero tuvo inhibición frente a *S. solani*. La prueba de susceptibilidad demostró que la cepa de *E. coli* es más "Susceptible" con las diluciones pura (1/1) y 1/2. Se aislaron y caracterizaron cuatro tipos diferentes bacterias en el agua residual y se comprobó que las semillas maceradas de *M. oleífera* poseen propiedades floculantes producto de su capacidad de adsorción y neutralización de microorganismos. El extracto acuoso de *M. oleífera*

demonstró una fuerte aglutinación frente a dos de las cepas y una aglutinación normal frente a las otras dos cepas. El tamaño de los halos presentados frente a *E. coli* por semillas de *Moringa oleífera* son las siguientes: puro (1/1) 13 mm, (1/2) 15 mm, (1/4) 12 mm, 1/8 5 mm.
(19)

Azurero A, Jaramillo C, *et al.* (2016), de la Universidad Técnica de Machala - Ecuador, en su trabajo de investigación titulado “Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador”, tuvo como objetivo recolectar doce especies vegetales en las localidades de Machala y Santa Rosa, Ecuador. Las hojas fueron lavadas, secadas, molidas y extraídas por maceración con metanol; los filtrados concentrados por evaporación a presión reducida. Para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos obtenidos, se utilizó la técnica de difusión en agar, mediante la cual éstos se probaron frente a cepas de bacterias Gram positiva (*Staphylococcus aureus*) y Gram negativa (*Escherichia coli* y *P. aeruginosa*), y una cepa del hongo (*Cándida albicans*). Todos los extractos analizados, a excepción de los de *L. citriodora* y *A. conyzoides*, exhibieron una acción bactericida contra todas las cepas bacterianas ensayadas, lo cual refleja la importancia de estas

especies en la producción de fitofármacos antibióticos. *T. officinale* y *P. carpunya* presentaron un efecto antibacteriano alto contra *E. coli*; sin embargo, *S. aureus* no presentó sensibilidad frente los extractos de *L. citriodora* y *P. carpunya*. El bioensayo de actividad antifúngica realizado a los extractos de las especies estudiadas contra *C. albicans*, mostró que todos tienen acción fungicida alta, a excepción de *T. officinale* con un menor efecto inhibitorio del crecimiento fúngico. Se puede inferir que estas plantas constituyen una fuente promisoría de compuestos químicos antimicrobianos de gran valor farmacológico. Los valores obtenidos de los halos de inhibición frente a *Escherichia coli* por acción de la planta *Moringa oleífera* es de < 6 mm es considerado como que no presenta ninguna actividad microbiana.(20).

Los autores Oliveira Peixoto, *et al.*, de la Universidad Federal de Ceará – Brasil, realizaron la investigación titulada: “Efecto antibacteriano *in vitro* de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Moringa*” (2013), tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Moringa* (*Moringa oleífera*) sobre el crecimiento de bacterias gram positivas y negativas. Los métodos utilizados fueron discos de papel se remojaron con 100, 200, 300 y 400 µl de extracto a 20 g / 180 ml y 10 g / 190 ml. Todos

los extractos fueron probados contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* y *Aeromonas caviae*. Las pruebas de susceptibilidad se realizaron usando el método de difusión de disco modificado. Los resultados fueron los siguientes: las cepas *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. enteritidis* fueron resistentes a todos los tratamientos. En general, los discos con 400 μ l de extracto fueron los más eficientes contra *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *E. faecalis* y *A. caviae*. Entre las principales conclusiones es que el estudio indica que las hojas de *Moringa oleífera* poseen un potencial prometedor en extracto acuoso y etanólico, como alternativa para tratar infecciones causadas cepas bacterianas (21).

Varela Alonso (2013), de la Pontificia Universidad Javeriana Bogotá – Colombia, realizó su investigación titulada “Comparación de la resistencia al tratamiento de infecciones urinarias no complicadas a nivel internacional, con historias clínicas del servicio de urgencias del hospital San Ignacio”. Se analizaron la acción bactericida de numerosos antibióticos en diversas bacterias y los resultados fueron los siguientes: el promedio ponderado (%) de “Resistencia” a *E. coli*

de los antibióticos como Ampicilina es de 47,6 %, Gentamicina 5,3 % y Nitrofurantoína 3,7 %(22).

Pavón Gómez NJ (2013) Jefe del servicio de Ruta crítica, Hospital Bertha Calderón Roque, Managua – Nicaragua, realizó una investigación titulada Diagnóstico y tratamiento de infección de las vías urinarias en embarazadas que acuden a Emergencia y consulta externa del Hospital Bertha Calderón Roque en Managua, Nicaragua. La infección de vías urinarias es una de las más comunes durante el embarazo y su importancia radica en las complicaciones que se han reportado en la mujer embarazada y en el neonato. En el periodo 2011-2012 se llevó a cabo un estudio que incluyó a 1256 mujeres embarazadas con síntomas de infección urinaria y urocultivo positivo, en el cual se evaluó la sensibilidad y resistencia a los antibióticos. El 55,6 % de las pacientes tenía menos de 20 semanas de gestación y el 33,5 % se encontraba entre las edades de 15 a 25 años. El 84,9 % de pacientes presentó infección urinaria con síntomas leves. El agente etiológico más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli* en el 76,6 % de los casos; el 7,1 % de las infecciones fueron causadas por *Proteus* y 6,6 % por *Klebsiella sp.* La sensibilidad general de nitrofurantoína para los patógenos urinarios fue de 94,3 %, la de

ampicilina de 73 % y la de gentamicina 78 %; los antibióticos más sensibles fueron ceftazidima e imipenem. Por lo tanto, el mayor porcentaje de infección urinaria fue causado por *Escherichia coli*; la edad más frecuente de aparición entre los 15 y 25 años; los antibióticos con mayor sensibilidad a los patógenos urinarios fueron nitrofurantoína, ceftazidina e imipenem; la gentamicina tuvieron una sensibilidad baja(23).

Orrego Marin CP, Henao Mejia CP y Cardona Arias JA (2014), Medellín – Colombia, desarrollaron una investigación titulada Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. Tuvo como objetivo determinar la prevalencia de ITU, uropatógenos y el perfil de susceptibilidad antimicrobiana en una institución prestadora de servicios de salud (IPS) de Medellín, 2011- 2012. Estudio de prevalencia en 1959 individuos atendidos en una IPS de tercer nivel. Se calcularon medidas de resumen, proporciones, razones de prevalencia, Chi cuadrado y Fisher. Se cuantificó la modificación del efecto (confusión o interacción) con análisis estratificado y modelos de regresión logística binaria en SPSS 21.0®. Los antibióticos estudiados presentaron la siguiente categorización frente a la acción bactericida

con *Escherichia coli*. Gentamicina 81,9% “Sensible”, 1 % “Intermedia”, 17,1 % “Resistencia”, Ampicilina 68 % “Sensible”, 12,1 % “Intermedia”, 19,8 % “Resistencia” y Nitrofurantoína 92,9 % “Sensible” 3,4 % “Intermedia” y 2,7 % “Resistencia”. La elevada prevalencia de ITU, la multiplicidad de uropatógenos aislados, la identificación de grupos de mayor riesgo y la diversidad de perfiles de resistencia antibiótica, evidencian la necesidad de desarrollar investigaciones locales que permitan orientar las acciones en salud y vigilancia epidemiológica, acordes con las particularidades de cada población (24).

Por todos los antecedentes mencionados, el presente trabajo aborda el tema de la comparación del efecto antibacteriano de las semillas de *Moringa oleífera*, lo cual reúne las condiciones metodológicas y temáticas suficientes para ser considerado como una investigación.

3.1. Antecedentes a nivel nacional

A nivel nacional no se han encontrado investigaciones que tengan relación con el tema de estudio. Sin embargo, se han encontrado investigaciones sobre la planta de *Moringa oleífera* en el

área de Ingeniería Agroindustrial, por sus propiedades coagulantes que posee.

3.2. Antecedentes a nivel local

A nivel de la Región de Tacna no se evidencia investigaciones que tengan relación con el tema de estudio.

3.3. Bases teóricas

3.3.1. Taxonomía de *Moringa oleífera*

Moringa oleífera (Familia *Moringaceae*) es una de las 13 especies del género *Moringa*. Se identifica por el fruto en forma de vaina larga y leñosa, que al madurar se abre en tres valvas, y contiene las semillas trivalvas con alas longitudinales. Sus hojas pinnadas están divididas en folíolos dispuestos sobre un raquis.

Las flores son zigomórficas con cinco pétalos, cinco sépalos, cinco estambres funcionales y varios estaminodios; tienen pedicelos e inflorescencias axilares. La planta posee tallos erectos y raíces tuberosas (25). Es un árbol que puede alcanzar hasta 10 m de altura(26)(27).

Tabla4. Taxonomía de *Moringa oleífera*

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Brassicales
Familia:	<i>Moringaceae</i>
Género:	<i>Moringa</i>

Fuente:Paliwal R, Sharma P, Sharma A. (2013), Velázquez Zavala M, Peón Escalante IE, Zepeda-Bautista R, Jiménez Arellanes MA (2016)

Variedades: Hay doce especies adicionales de *Moringa* que también son conocidas. (28)

- *M. arborea*
- *M. borziana*
- *M. concanensis*
- *M. drouhardii*
- *M. hildebrandtii*
- *M. longituba*
- *M. ovalifolia*

- *M. peregrina*
- *M. pygmaea*
- *M. rivae*
- *M. ruspoliana*
- *M. stenopetala*

3.3.2. Historia de la *Moringa oleífera*

Moringa oleífera Lam., es originaria de la zona de los Himalaya(29). Como especie comestible se introdujo a América durante el siglo XIX(30), o quizá en la época colonial desde Filipinas por los tripulantes de la Nao de China(25).

Moringa oleífera es la especie más conocida de trece especies del género Moringácea. La *Moringa* tuvo un valor muy alto en el mundo antiguo. Los romanos, los griegos y los egipcios extrajeron aceite comestible de las semillas y lo usaron para perfume y loción (31).

Se identifica por sus hojas pinnadas y su vaina larga y leñosa, que al madurar se abre en tres valvas, la cual contienen las semillas con tres alas(25). Esta planta se

consume como alimento por su valor nutricional, y de acuerdo con la medicina ayurvédica(32), se le atribuyen propiedades para el tratamiento de algunos padecimientos como asma, epilepsia, enfermedades de los ojos y de la piel, fiebre y hemorroides(29).

En el siglo 19, plantaciones de *Moringa* en el Caribe exportaron el aceite de la planta hacia Europa para perfumes y lubricantes para maquinaria. La gente del sub-continente de India ha ocupado las vainas de *Moringa* como comida. Las hojas comestibles se consuman en muchos países de África occidental y partes de Asia (28).La semilla se usa para tratamiento de agua de río con sólidos suspendidos y aguas subterráneas(33)y como fuente de aceite para la producción de biodiesel (34).

3.3.3. Composición fisicoquímica del aceite de *Moringa oleífera*

3.3.3.1. Características físicas del aceite de *M. oleífera*

Los aceites extraídos de las diferentes variedades de las semillas de *Moringa oleífera* son de

color amarillo intenso poco viscoso, siendo empleados en preparaciones y bálsamos para la piel. Actualmente el uso de estos, se ha extendido con éxito ya que su estructura ofrece una enorme cantidad de ácidos grasos y tocoferoles, convirtiéndose en un complemento poderosamente eficaz para combatir el colesterol (35).

3.3.3.2. Composición química del aceite de *M. oleífera*

El aceite de *moringa* es rico en ácido oleico y en tocoferoles. Excepto por su menor contenido de ácido linoleico, dicho aceite presenta composición química y propiedades físicas que lo asemejan al de oliva. Se utiliza en el aderezo de ensaladas en Haití y otras islas del Caribe, sin que se hayan reportado casos de efectos adversos, alergias o toxicidad. También puede ser empleado en el mejoramiento de la estabilidad oxidativa de otros aceites. Durante la conservación, cocción y fritura de los aceites vegetales tradicionales ocurre el deterioro de sus cualidades nutritivas debido a reacciones colaterales de degradación del ácido

linoleico. El ácido oleico, el cual es más resistente a la oxidación que el linoleico, está contenido en grandes cantidades en el aceite de *M. oleífera*; por eso, la adición de este a otros aceites permite obtener mezclas con propiedades mejoradas para el uso culinario sin que se afecten las propiedades nutricionales (1).

Se ha logrado identificar 44 componentes de los aceites esenciales que pueden ser utilizados en el desarrollo futuro de fármacos para el tratamiento de enfermedades cutáneas típicas de las áreas tropicales (36).

La semilla contiene un 40 % de aceite, de alta calidad, poco viscoso y dulce, con un promedio del 60 al 65 % de ácido oleico, similar al aceite de oliva (37).

En la siguiente tabla se muestra los tipos de ácidos grasos que poseen cuatro variedades de semilla de *Moringa oleífera*:

Tabla5. Composición de ácidos grasos de las semillas de *Moringa oleífera*

Ácidos Grasos	%
C 14:0 (mirístico)	0,1
C 16:0 (palmítico)	6,2
C16:1 (palmitoleico)	1,1
C18:0 (esteárico)	4,8
C18:1 (oleico)	74,4
C18:2 (linoleico)	1,2
C18:3 (linolénico)	0,4
C20:0 (araquídico)	3,5
C20:1 (gondoico)	1,6
C22:0 (behénico)	6,2
C24:0 (lignocérico)	0,5

Fuente: Gómez Mitjans D, Pita Bravo V, Zumalacárregui de Cárdenas B (2016)

Estudios realizados en Brasil, habiendo extraído el aceite de la semilla seca (39 %) con hexano arrojó un índice de acidez de 7,95 mg KOH/g. Contiene un 6,2 % de ácido palmítico, 1,1 % de palmitoleico, 4,8 % de esteárico, 74,4 % de oleico, 1,2 % de linoleico, 3,5 % de araquídico y 6,2 % de behénico (38).

3.3.3.3. Actividad antimicrobiana del aceite de *M. oleífera*

Estudios bacteriológicos demostraron la actividad antimicrobiana de los aceites de semillas de *moringa*, los cuales flocculan bacterias Gram positivas y Gram negativas del mismo modo que lo hacen con los coloides del agua. Su acción bacteriostática consiste en la disrupción de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales. El principal ingrediente responsable de dicha actividad es el 4-(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el cual tiene acción bactericida sobre varias especies patógenas, incluyendo aislados de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Legionella* resistentes a antibióticos. La potencia de los isotiocianatos como antibióticos también quedó demostrada en un estudio con *Helicobacter pylori*, que es el causante de úlceras gástricas y duodenales. En una investigación muy reciente realizada en Kenia se demostró la actividad antimicrobiana de extractos de semillas de *M. oleífera* sobre las bacterias *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, causantes de

la fiebre tifoidea, el cólera y la gastroenteritis, respectivamente. Los autores de la presente reseña consideran que ese resultado puede tener un gran impacto, ya que se trata de agentes antimicrobianos naturales que constituyen un método barato y sostenible para el control de enfermedades y para mejorar la calidad de vida en comunidades pobres. Debe tenerse en cuenta que, en muchas regiones rurales de los países subdesarrollados, debido al alto costo del cloro y otros desinfectantes, no se les practica ningún tratamiento a las aguas, lo que genera enfermedades provocadas por los microorganismos contaminantes (1).

3.3.3.4. Usos del aceite de *M. oleífera*

Usos tradicionales: El aceite representa entre el 22 y el 40 % del peso de las semillas de *M. oleífera* y contiene alrededor de un 70 % de ácido oleico. Además de los usos comestibles discutidos anteriormente, su aceite—conocido comúnmente como “aceite de ben” o de Behen en Madagascar, se

emplea para calmar y suavizar la piel de los bebés. Algunas empresas cosméticas incluyen este activo en la formulación de leches y tónicos limpiadores que reivindican una acción purificante o desintoxicante (35).

También recibe diversos usos no comestibles, muchos de los cuales se remontan a las civilizaciones clásicas de la Antigüedad y están relacionados con sus particulares propiedades físicas y químicas. Este aceite tiene la propiedad de absorber y retener fragancias florales, lo que lo hace muy apropiado para la industria de perfumería y la de cosméticos. En el Antiguo Egipto el aceite de *moringa* se usaba en la preparación de perfumes, cremas de belleza, ungüentos sagrados, protectores de la piel contra infecciones, repelente contra insectos, humectante y acondicionador de la piel y el cabello. Las civilizaciones griegas, etrusca y romana también lo usaron con los mismos fines. En la industria cosmética moderna, se utiliza en la fabricación de

jabones y perfumes como humectante y para el cuidado del cabello. Durante mucho tiempo fue muy bien valorado como lubricante de relojería y maquinaria de precisión y también se ha reportado su uso en la iluminación debido a que arde sin humo (1).

En la industria farmacéutica: El aceite es utilizado como adyuvante de principios activos, además como emoliente y saborizante; su consumo se ha incrementado paulatinamente viéndose reflejada su aceptación a través del aumento en las exportaciones hacia Europa como lubricantes de maquinaria y en la cosmética(35).

Producción de biodiesel: *M. oleífera*, por ser una planta de crecimiento rápido, resistente a la sequía y con un alto rendimiento de aceite, es una excelente opción para la producción sostenible de biodiesel en países con tierras áridas. En un estudio de las plantas oleaginosas con potencial para producir biodiesel en África, esta especie –con un rendimiento anual de tres

toneladas de aceite por hectárea– resultó la segunda más prometedora, por encima de *Jatropha curcas* y superada solo por *Croton megalocarpus*. Investigaciones recientes han demostrado el potencial del aceite de *moringa* para la producción de biodiesel. Las propiedades de productos de la transesterificación de dicho aceite, tales como: densidad, viscosidad cinemática, lubricidad, estabilidad oxidativa, índice de cetano y punto de enturbiamiento, cumplen con los estándares internacionales para su uso como combustible. Recientemente se reportó la optimización de las condiciones de transesterificación alcalina del aceite de *M. oleífera* para la producción de biodiesel (1).

Antioxidante: Puede ser usado, además, en terapias antioxidantes para disminuir la genotoxicidad del arsénico y otros metales pesados, cuyos mecanismos de acción carcinogénica están relacionados con especies reactivas de oxígeno (1).

3.3.3.5. Toxicidad

Ayotunde *et al.*, el 2011, realizaron un estudio de 96 horas sobre la determinación de la toxicidad del extracto acuoso de semillas de *Moringa oleífera* sobre *Oreochromis niloticus* crías y adultos, encontrando que una concentración de 252- 242 mg/L resulta tóxica para las crías y una concentración de 351-332 mg/L resulta toxica para los adultos. La reacción se manifestó por movimientos erráticos, perdida de reflejos, decoloración, descamación y hemorragia, debida a una alteración de los parámetros hematológicos; el índice de mortalidad es, entonces, directamente proporcional al aumento de la concentración (39).

La concentración del extracto de semilla recomendada para la purificación de agua asciende a 200 mg/L, lo cual se encuentra por debajo de las dosis toxicas para peces y no representan un riesgo para la salud pública (40).

3.3.4. Extractos vegetales

Los extractos son preparados concentrados obtenidos por el tratamiento de productos vegetales con solventes adecuados, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta seca o fresca(41)(42).

El extracto vegetal puede ser líquido, semisólido o en polvo y se puede obtener por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos, a partir de una fuente vegetal y puede ser utilizado en cualquier campo de la tecnología(42)(43).

Cuando la materia vegetal seca o fresca se pone en contacto con el solvente empieza un proceso opuesto al del secado, es decir, se reconstituye el estado original de la célula. El proceso extractivo empieza cuando el solvente penetra en la célula, logrando sacar el aire contenido en el citoplasma, de esta manera se consigue el aislamiento de metabolitos secundarios (44).

3.3.5. Métodos de extracción

Los métodos de extracción permiten obtener los productos en formas farmacéuticas adecuadas para su administración oral o externa de acuerdo al lugar de acción que se recomiende. Los procesos de extracción consisten en la separación de las sustancias biológicamente activas de los materiales inertes o inactivos de una planta, a partir de la utilización de un disolvente seleccionado y de un proceso de extracción adecuado; donde siempre se obtienen, por lo menos, dos componentes: la solución extraída en su disolvente (el extracto) y el residuo (el bagazo) (41)(43).

En la extracción continua con disolventes o también conocida como dinámica el disolvente utilizado para la extracción se hace pasar por la droga, arrastrando a los principios activos de un paso. Este proceso permite extraer casi por completo los compuestos químicos presentes en la droga. En la Figura 1 se puede observar algunos métodos de extracción(42)(44)(43).

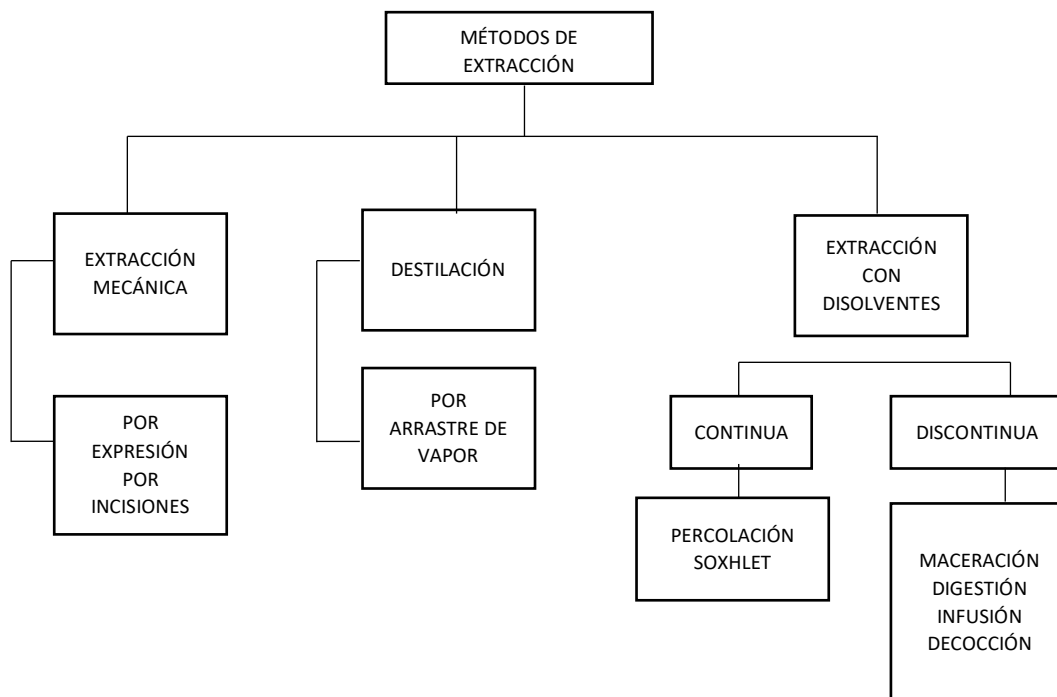


Figura 1. Métodos de extracción

Fuente: Danielski L, Michielin E (2007); Medina Bernal M (2015); Mena G (1994)

3.3.6. Uso de agentes patógenos

Las sustancias naturales se han utilizado desde épocas antiguas, como sustancias aromáticas y como preservantes. Sin embargo, estas cubren un amplio espectro de actividades tales como efectos farmacológicos, antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos contra una amplia gama de organismos como: bacterias, hongos, virus, protozoos e insectos (45).

3.3.7. *Escherichia coli*

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, produce endotoxinas, fermenta la lactosa y glucosa, positivos al indol, no tienen cápsula, presentan movilidad por la presencia de flagelos. Las cepas lisas forman colonias incoloras, convexas y brillantes, pero al ser sub cultivadas se convierten en cepas rugosas que forman colonias granuladas y opacas (46).

3.3.7.1. Taxonomía

En la tabla 6, se muestra la clasificación taxonómica de la *Escherichia coli*.

Tabla6. Taxonomía del *Escherichia coli*.

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>E. coli</i>
Nombre binomial	<i>Escherichia coli</i>

Fuente:García P (1994)

3.3.7.2. Patología

La encontramos en el intestino grueso, causan enfermedad intestinal primaria, así como infección extra intestinal. Es un microorganismo que puede desplazarse del conducto intestinal al tracto urinario y a los riñones por vía hematológica o linfática presentando con mayor frecuencia procesos patológicos en el tracto urinario (46).

3.3.7.3. Tratamiento

En más del 95 % de los casos, un único microorganismo es el responsable de la ITU. El agente etiológico más frecuente de ITU en ambos sexos es la *Escherichia coli*, responsable del 75 al 80 % de casos; el 20 al 25 % restante incluye microorganismos como: *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

El tratamiento de la ITU depende de si es complicada o no complicada y siempre se debe tener en cuenta a los factores de riesgo. Es importante seleccionar en forma empírica –hasta que se cuente con el resultado del urocultivo y antibiograma– un antibiótico con alta eficacia sobre el agente sospechado, muy buena distribución corporal, alta concentración en las vías urinarias y con toxicidad baja. (47).

Los objetivos del tratamiento deben ser la obtención de una respuesta rápida y efectiva, prevención de la recurrencia y evitar la aparición de resistencia a los antibióticos. La elección de un antibiótico, en diversas infecciones, depende de los niveles de concentración plasmática que alcanza el antibiótico para lograr una susceptibilidad antimicrobiana alta. Pero, en el caso de la ITU, lo importante es la concentración del antibiótico en el parénquima renal, en la capa más profunda de la pared de la vejiga y de la próstata. Por tanto, la

excreción -concentración urinaria y la determinación de la actividad del antibiótico en la orina son importantes para la decisión de si su uso se justifica o no en el tratamiento de la ITU. (47)

3.3.8. Gentamicina

3.3.8.1. Propiedades farmacológicas

Pertenecen al grupo terapéutico (código ATC): J01GB: Otros aminoglucósidos. Es un antibiótico del grupo que es activo *in vivo* e *in vitro* frente a gran variedad de bacilos aeróbicos gram negativos, así como frente algunos bacilo-cocos gram negativos y cocos gram positivos. Ejerce un efecto bactericida sobre *Enterobacteriaceae*, pero muestra actividad bacteriostática frente a muchos microorganismos. Gentamicina es transportada de forma activa a través de la membrana bacteriana, se une irreversiblemente a una o más proteínas receptoras específicas de la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos e

interfiere con el complejo de iniciación entre el ARNm y la subunidad 30S (48).

El ADN puede leerse de forma errónea, lo que da lugar a la producción de proteínas no funcionales; los polirribosomas se separan y no son capaces de sintetizar proteínas. Esto da lugar a un transporte acelerado de gentamicina, con lo que aumenta la ruptura de las membranas citoplasmáticas de las bacterias y la consiguiente muerte celular (48).

3.3.9. Nitrofurantoína

3.3.9.1. Propiedades farmacológicas

Grupo farmacoterapéutico: Otros antibacterianos, derivados de nitrofurano. Código ATC: J01XE01. El mecanismo de acción bactericida no está bien establecido, aunque se ha demostrado que actúa inhibiendo varios sistemas enzimáticos bacterianos en bacterias Gram negativas y Gram positivas. Las concentraciones plasmáticas y tisulares

a las dosis terapéuticas son generalmente bajas con una vida media de eliminación de 20 - 30 min. La nitrofurantoína se une en un 20 - 60 % a las proteínas plasmáticas. La fracción metabolizada se excreta principalmente por vía intestinal. Alrededor del 40 % de la dosis absorbida se recupera en la orina en forma de compuesto inalterado y activo. A dosis terapéuticas, las concentraciones urinarias máximas son de 50 a 150 $\mu\text{g/ml}$ durante las tres primeras horas (49).

3.3.10. Prueba de sensibilidad antibiótica (PSA)

- 1) Funda el medio de cultivo y déjelo enfriar a 45–50°C.
- 2) Vierta asépticamente suficiente cantidad de medio de cultivo en una placa de Petri, para obtener una capa de 4 mm de espesor. Para una placa de 10 cm de diámetro se requieren 30 ml de medio y para una de 15 cm se requieren 70 ml

- 3) Deje solidificar el medio de cultivo y luego seque las placas durante 30 minutos antes de usarlas para la inoculación.
- 4) Inocule la placa mediante un hisopo estéril utilizando una suspensión del germen de 18 a 24 horas de incubación. Para la inoculación sumerja un hisopo estéril en el cultivo y elimine el exceso rotándolo firmemente contra la pared interna del tubo. Frote el hisopo sobre la superficie del medio de cultivo.
- 5) Repita esta operación por tres veces sucesivas, rotando la placa para obtener una dispersión uniforme del inóculo en toda la superficie.
- 6) Coloque la tapa a la placa y deje secar el inóculo por 3 a 5 minutos.
- 7) Coloque los discos con los antibióticos sobre el agar mediante pinzas estériles o usando un aplicador de discos. Oprima los discos suavemente con una pinza

para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo. Los discos deben estar espaciados de manera que su distancia a la pared de la placa sea de 15 mm y entre ellos de 30 mm.

8) Incube a 35 – 37 °C hasta el siguiente día (aproximadamente 18-19 horas).

9) Si se requieren los resultados con rapidez se pueden leer las zonas de inhibición después de 6-8 horas de incubación, pero estos resultados deben ser confirmados mediante una nueva lectura después de la incubación por las 18 -19 horas.

10) La medida del diámetro de la zona de inhibición se hace preferentemente desde el exterior de la placa, sin quitar la tapa, esto puede hacerse con una regla milimetrada, un vernier o cualquier otro Instrumento similar(50)(51).

3.3.11. Concentración bactericida mínima

Se define como la concentración mínima del antibiótico que reduce la población de colonias viables en un 99,9 % de las iniciales, después de una incubación de 16-24 horas en caldo de cultivo(52)(53)(54).

3.3.12. Concentración inhibitoria mínima

Es posiblemente la técnica más adecuada para el estudio de la sensibilidad. Se define como la concentración más baja de un antibiótico que inhibe el crecimiento bacteriano visible en un periodo de 16-24 horas, de un inóculo estándar del microorganismo con una serie de diluciones del antibiótico en un caldo de agar(43)(53).

De esta manera se podrá conocer la concentración precisa del antibiótico que se debe realizar para inhibir el crecimiento del microorganismo.

3.4. Definición de términos

1) Antibiótico

Agente biológico o químico que inhibe el crecimiento de los microorganismos (55).

2) Cepa

Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento (55).

3) Colonia

Crecimiento visible bacteriano, generalmente en medios sólidos, originada por la multiplicación de una sola bacteria preexistente (55).

4) Concentración inhibitoria mínima (CIM)

Corresponde a la concentración más débil de un antibiótico capaz de inhibir el crecimiento visible de una cepa bacteriana al cabo de 18 – 24 horas de incubación (55).

5) Disco de sensibilidad

Discos impregnados con algún antimicrobiano usados para determinar la Susceptibilidad antimicrobiana por disco difusión (55).

6) Incubación

Mantenimiento de cultivos bacterianos en condiciones favorables para su desarrollo y Multiplicación (55).

7) Inóculo

Alícuota de un cultivo bacteriano transferida a un medio de cultivo (55).

8) Intermedio (I)

Categoría clínica definida para las pruebas de susceptibilidad *in vitro*. Esta categoría incluye las cepas bacterianas que pueden ser inhibidas por concentraciones del antibiótico superiores a las obtenidas con las dosis habituales, siempre y cuando se puedan aumentar las dosis empleadas y/o que el antibiótico se concentre fisiológicamente en el tejido o lugar infectado (55).

9) Medio de cultivo

Medio artificial de sustancias nutritivas, que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación bacteriana *in vitro*(55).

10) Resistente (R)

Categoría clínica definida para las pruebas de susceptibilidad *in vitro*. Las cepas Bacterianas incluidas en esta categoría no son inhibidas por las

concentraciones séricas del antibiótico normalmente alcanzadas con las dosis habituales del mismo, poseen comúnmente mecanismos Específicos de resistencia bacteriana o la eficacia clínica del antibiótico frente a la bacteria no ha sido comprobada (55).

11) Sensible (S)

Categoría clínica definida para las pruebas de susceptibilidad *in vitro*. Implica que una infección debida a la cepa bacteriana estudiada puede ser tratada apropiadamente con la dosis deAntibiótico recomendado para el tipo de infección y la especie infectante, a menos que existan contraindicaciones (55).

12) UFC

Unidad formadora de colonias (55)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación es aplicada, porque se ha realizado sobre hechos concretos y específicos utilizando los conocimientos teóricos en la práctica. (56)

3.2. Diseño de la investigación

El diseño es no experimental transversal, porque las variables no serán manipuladas por el investigador y se recogió la información en un momento determinado en el tiempo. (56)

3.3. Nivel de investigación

Correlacional, por que identificó características, estableció comportamientos concretos, comprobó y analizó las variables de investigación. Actúan sobre más de dos variables, de las cuales se mide el grado de relación.(56)

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

Cultivos de *E. coli* realizado “*in vitro*”.

3.4.2. Muestra

30 repeticiones del número de placas Petri.

3.5. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.5.1. Método de la prueba de Sensibilidad Antibiótica

- **Medio de Cultivo**

Agar Mueller Hinton

Marca: *Merck*

- **Inóculo**

Método de crecimiento o suspensión directa de la colonia.

- **Incubación**

37 °C

- **Lectura**

18 a 24 h(57)

3.5.2. Instrumentos de recolección de datos

- Fichas de Observación
- Hojas de registro

3.5.3. Técnica de recolección de información

- Lectura de la medición de halos de inhibición de crecimiento bacteriano (mm).

3.6. Materiales y/o instrumentos

3.6.1. Equipos de laboratorio

- Autoclave
Marca: *All American*
- Balanza analítica
Marca: *Kern WL 1602 18*
- Baño María
Marca: *Lab -line*
- Cocina eléctrica
- Estufa
Marca *Selecta*

- Refrigerador

Marca: *Daewoo*

- Incubadora

Marca: *Bionet 1B 15-171105*

3.6.2. Material de vidrio

- Baguetas.
- Balón 50 ml
- Matraz Erlenmeyer 50 ml
- Láminas portaobjetos
- Luna de reloj
- Pipetas
- Probetas 100 ml
- Placas Petri
- Tubos de ensayo 10 ml
- Vasos de precipitado 50 ml

3.6.3. Medios de cultivo

- Agar Mac Conkey

Marca: *HIMEDIA M081A-5006*

- Agar Mueller Hinton

Marca: *Merck*

3.6.4. Otros

- Algodón
- Asa de kolle
- Barbijo
- Espátula
- Gradilla para tubos de ensayo
- Guantes quirúrgicos
- Papel filtro
- Discos de sensibilidad de Gentamicina y Nitrofurantoína.
- Pinzas

3.7. Procesamiento de datos

Los datos se analizarán mediante los siguientes análisis estadísticos:

- Estadística descriptiva

- Análisis de frecuencia: tablas y gráficos
 - Medida de tendencia central: media, mediana y moda
 - Medidas de dispersión: varianza, desviación estándar, límite superior e inferior.
-
- Prueba de normalidad
 - Análisis de Shapiro-Wilk

 - Estadística inferencial
 - Estadístico chi-cuadrado

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Análisis de prueba de normalidad

4.1.1. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*

Para realizar la prueba de normalidad el planteamiento de la hipótesis es el siguiente:

1° Formulación de la hipótesis

Ho: Los datos provienen de una distribución normal

Hi: Los datos no provienen de una distribución normal

2° Nivel de significancia: 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Prueba de Shapiro-Wilk

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia: Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la tabla 7, se muestran los resultados obtenidos de la prueba de normalidad del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*:

Tabla7. Prueba de normalidad del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*

Muestra	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i>	0,804	30	0,000

Fuente: Software estadístico SPSS 24.

5° Toma de decisiones: Teniendo en cuenta el nivel de significancia obtenido que es menor a 0,05 se procede a contrastar la hipótesis de normalidad:

6° Contratación de la hipótesis de normalidad

Ho: Los datos provienen de una distribución normal. SE
RECHAZA

Hi: Los datos no provienen de una distribución normal. SE
ACEPTA

7° Conclusión: Se concluye que los datos de los halos de
inhibición del aceite esencial de las semillas de *Moringa*
oleífera no provienen de una distribución normal

4.1.2. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del antibiótico Gentamicina

Para realizar la prueba de normalidad el planteamiento
de la hipótesis es el siguiente:

1° Formulación de la hipótesis

Ho: Los datos provienen de una distribución normal

Hi: Los datos no provienen de una distribución normal

2° Nivel de significancia: 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Prueba de Shapiro-Wilk

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia: Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la tabla 8, se muestran los resultados obtenidos de la prueba de normalidad del antimicrobiano Gentamicina:

Tabla8. Prueba de normalidad del antimicrobiano Gentamicina

Muestra	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Antimicrobiano Gentamicina	0,787	30	0,000

Fuente: Software estadístico SPSS 24.

5° Toma de decisiones: Teniendo en cuenta el nivel de significancia obtenido que es menor a 0,05 se procede a contrastar la hipótesis de normalidad:

6° Contrastación de la hipótesis de normalidad

Ho: Los datos provienen de una distribución normal. SE RECHAZA

Hi: Los datos no provienen de una distribución normal. SE ACEPTA

7° Conclusión: Se concluye que los datos de los halos de inhibición del antibiótico Gentamicina no provienen de una distribución normal

4.1.3. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del antibiótico Nitrofurantoína

Para realizar la prueba de normalidad el planteamiento de la hipótesis es el siguiente:

1° Formulación de la hipótesis

Ho: Los datos provienen de una distribución normal

Hi: Los datos no provienen de una distribución normal

2° Nivel de significancia = 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Prueba de Shapiro-Wilk

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia: Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la tabla 9, se muestran los resultados obtenidos de la prueba de normalidad del antimicrobiano Nitrofurantoína:

Tabla9. Prueba de normalidad del antimicrobiano Nitrofurantoína

Muestra	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Antimicrobiano Nitrofurantoína	0,847	30	0,001

Fuente: Software estadístico SPSS 24.

5° Toma de decisiones: Teniendo en cuenta el nivel de significancia obtenido que es menor a 0,05 se procede a contrastar la hipótesis de normalidad:

6° Contrastación de la hipótesis de normalidad

Ho: Los datos provienen de una distribución normal. SE RECHAZA

Hi: Los datos no provienen de una distribución normal. SE ACEPTA

7° Conclusión: Se concluye que los datos de los halos de inhibición del antibiótico Nitrofurantoína no provienen de una distribución normal

4.2. Obtención de aceite a partir de las semillas de *Moringa oleífera*

Se procedió a la obtención del aceite a partir de las semillas de *Moringa oleífera*, las etapas del procedimiento se muestran en el Anexo 2.

4.3. Replicación de *Escherichia coli*

Otro de los procedimientos realizados fue el de Replicación de *Escherichia Coli*, este procedimiento se llevó a cabo con la finalidad de contar con una cantidad representativa de esta bacteria para realizar los ensayos posteriores. Las etapas del procedimiento se detallan en el Anexo 3.

4.4. Preparación de los discos de sensibilidad

Para llevar a cabo la prueba de sensibilidad antimicrobiana (PSA), previamente se realizó la preparación de los discos de sensibilidad considerando como muestra el aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*. El procedimiento realizado se muestra en el anexo 4.

4.5. Prueba de sensibilidad antimicrobiana (PSA)

El procedimiento de la prueba de sensibilidad antimicrobiana (PSA), con método de Kirby Bauer realizada para la investigación se explica en el Anexo 12.

4.6. Resultados de la prueba de sensibilidad antibiótica (PSA)

Los resultados obtenidos de la prueba de sensibilidad antibiótica se presentan en la tabla 10:

Tabla10. Resultados de la prueba de sensibilidad antibiótica

Discos	Tr	[]	Tamaño de halos de inhibición (mm)																													
			Repeticiones																													
			N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7	N° 8	N° 9	N° 10	N° 11	N° 12	N° 13	N° 14	N° 15	N° 16	N° 17	N° 18	N° 19	N° 20	N° 21	N° 22	N° 23	N° 24	N° 25	N° 26	N° 27	N° 28	N° 29	N° 30
Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i>	1	25µg	15	14	15	15	14	15	14	15	13	14	15	14	15	15	14	15	14	15	13	14	15	14	15	15	14	15	14	15	15	
Gentamicina	2	10µg	15	16	15	16	15	15	16	15	16	15	15	16	15	16	15	14	16	15	16	15	15	16	15	16	15	15	16	17	16	15
Nitrofurantoina	3	300µg	13	12	12	13	11	13	12	12	13	11	13	12	12	13	11	13	11	13	12	12	13	11	13	14	12	13	11	13	12	11
Blanco	4	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	

Fuente: Elaboración propia
 Tr = Tratamientos
 Rep= Repeticiones
 [] = concentración

Se puede observar en la tabla 10 que los tratamientos correspondientes al antimicrobiano Gentamicina y del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera*, son los que tuvieron mayor efecto antimicrobiano en comparación a la Nitrofurantoína.

Para comprobar el grado de acción antimicrobiana de los antibióticos y teniendo en cuenta los resultados obtenidos, existen tablas con parámetros que permiten categorizarlas en función de su sensibilidad y se presentan en la tabla 11:

Tabla11. Patrones estándar de los antibióticos

Antimicrobiano	[]	Diámetro del halo producido (mm)		
		R	I	S
*Gentamicina	10ug	≤12	13-14	≥15
**Nitrofurantoína	300ug	≤14	15-16	≥17

Fuente:Manual de Procedimientos para las Pruebas de Sensibilidad Antimicrobiana por método de Disco Difusión- INS *(55) p.33,47; ** (58) p.81
 [] = concentración
 R (Resistente); I (Intermedio); S (Sensible)

Teniendo en cuenta los patrones estándar de halos de inhibición presentados en la tabla anterior, perteneciente a las tablas contenidas en el Manual de Procedimientos para las Pruebas de Sensibilidad Antimicrobiana por método de Disco Difusión-INS(55)(58), la categorización de los discos de antibióticos se muestra en el Tabla 12:

Tabla12. Categorización de antibióticos con patrones estándar

		Tamaño de halos de inhibición (mm)																													
		Repeticiones																													
Discos	[]	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7	N° 8	N° 9	N° 10	N° 11	N° 12	N° 13	N° 14	N° 15	N° 16	N° 17	N° 18	N° 19	N° 20	N° 21	N° 22	N° 23	N° 24	N° 25	N° 26	N° 27	N° 28	N° 29	N° 30
Gentamicina	10µg	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Nitrofurantoína	300µg	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Fuente: Elaboración propia

*R: resistente, I: Intermedio, S: Sensible

En el análisis anterior se puede observar que el antibacteriano Nitrofurantoina es “Resistente” es decir posee un mecanismo de acción mucho más débil en comparación que la Gentamicina que tiene una categoría de “Sensible”, frente a *Escherichia coli*.

4.7. Resultados de la actividad de los agentes antimicrobianos

Los resultados del análisis descriptivo de los agentes antimicrobianos son los siguientes:

4.7.1. Análisis de la actividad antimicrobiana del aceite de *Moringa oleífera*

En la Tabla siguiente, se tomaron los datos obtenidos del Tabla 10, y tomando la escala de patrones estándar del antibiótico Gentamicina (Tabla 11), se analizaron para determinar los valores porcentuales y evidenciar el tipo de actividad antimicrobiana en el aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *E. coli*.

Tabla 13. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Moringa oleífera*

	Frecuencia (N)	Porcentaje (%)	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Intermedio	13	43,30	43,30	43,30
Sensible	17	56,70	56,70	100,00
Total	30	100,00	100,00	

Fuente: Elaboración propia

Se puede observar que el 56,7% de las pruebas analizadas en laboratorio evidenciaron que el aceite de *Moringa oleífera* consigue que la bacteria *Escherichia coli* muestre “Sensibilidad” y un 43,30 % que presente una reacción “Intermedia”, o regular a la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Moringa oleífera*.

4.7.2. Análisis de la actividad antimicrobiana de la Gentamicina

En la Tabla siguiente, se tomaron los datos obtenidos del Tabla 10, y tomando la escala de patrones estándar del antibiótico Gentamicina (Tabla 11), se analizaron para

determinar los valores porcentuales y evidenciar el tipo de actividad antimicrobiana de la Gentamicina sobre *E. coli*.

Tabla 14. Actividad antimicrobiana deGentamicina

	Frecuencia (N)	Porcentaje (%)	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Intermedio	1	3,3	3,3	3,3
Sensible	29	96,7	96,7	100,00
Total	30	100,00	100,00	

Fuente: Elaboración propia

Se puede observar que la mayoría de las pruebas analizadas en laboratorio (96,7 %) evidenciaron que la Gentamicina consigue que la bacteria *Escherichia coli* muestre “Sensibilidad” ante su actividad antimicrobiana.

4.7.3. Análisis de la actividad antimicrobiana de la Nitrofurantoína

En la Tabla siguiente, se tomaron los datos obtenidos dela Tabla 10, y tomando la escala de patrones estándar del antibiótico Gentamicina (Tabla 11), se analizaron para

determinar los valores porcentuales y evidenciar el tipo de actividad antimicrobiana de la Nitrofurantoína sobre *E. coli*.

Tabla 15. Actividad antimicrobiana de Nitrofurantoína

	Frecuencia (N)	Porcentaje (%)	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Resistencia	30	100,00	100,00	100,00
Total	30	100,00	100,00	

Fuente: Elaboración propia

Se puede observar que todas las pruebas realizadas (100,0 %) evidenciaron que la Nitrofurantoína consigue que la bacteria *Escherichia coli* muestre “Resistencia” ante su actividad antimicrobiana, es decir no tiene actividad significativa antimicrobiana ante esta bacteria.

4.7.4. Análisis descriptivo de la actividad antimicrobiana de los antibióticos y del aceite de *M. oleífera*

En la siguiente tabla se muestra el análisis descriptivo de la actividad antimicrobiana de los antibióticos y del aceite de *Moringa oleífera*:

Tabla16. Análisis descriptivo de la actividad de los agentes antimicrobianos

Discos	Antimicrobianos	N	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Media (mm)	Mediana (mm)	Desviación estándar	Varianza	Límite superior	Límite inferior
	Aceite esencial de las semillas	30	13	15	14,50	15,00	0,630	0,464	14,79	14,28
Halos (mm)	Gentamicina	30	14	17	15,43	15,00	0,626	0,392	15,67	15,20
	Nitrofurantoína	30	11	14	12,23	12,00	0,858	0,737	12,55	11,91

Fuente: SPSS 24

4.8. Comprobación de hipótesis

4.8.1. Comprobación de la primera hipótesis específica

1° Formulación de la primera hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

H1: Hipótesis alterna: Si existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

2° Nivel de significancia: 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Análisis de frecuencia y prueba de Chi-cuadrado

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia: Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la tabla 13, se puede observar que en un 56,7 % de los tratamientos la bacteria *Escherichia coli* es sensible a la acción del aceite esencial de *Moringa oleífera*.

En la siguiente Tabla se muestra el resultado del análisis de Chi-cuadrado:

Tabla17. Prueba de Chi-cuadrado Actividad antimicrobiana del aceite de *Moringa oleífera*

Chi-cuadrado	11,400 ^a
Gl	2
Sig. Asintótica	0,003

a. 0 casillas (0,0%) han esperado frecuencias menores que 5. La frecuencia mínima de casilla esperada es 10,0.

Se puede observar que el nivel de significancia obtenido es de 0,003; por lo tanto, se procede a comprobar la primera hipótesis específica:

5° Toma de decisiones: Debido a que el nivel de significancia es menor que 0,05 se procede a contrastar la hipótesis específica:

6° Contrastación de la primera hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE RECHAZA

H1: Hipótesis alterna: Si existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE ACEPTA

7° Conclusión

Se concluye que el aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* si presenta actividad antimicrobiana en un 56,7 %, mostrando que la bacteria *Escherichia coli*, presenta un grado de Sensibilidad correspondiente a la categoría de “Sensible” y un 43,3 % en un grado “Intermedio” o regular.

4.8.2. Comprobación de la segunda hipótesis específica

1° Formulación de la segunda hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

H1: Hipótesis alterna: Sí existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

2° Nivel de significancia: 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Análisis de correlación de Pearson

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia: Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la siguiente tabla se muestran los resultados:

Tabla 18. Actividad antimicrobiana del *aceite de Moringa* y el antimicrobiano Gentamicina

Discos		Aceite de <i>Moringa</i>	Gentamicina
Aceite de <i>Moringa</i>	Correlación de Pearson	1	-0,071
	Sig. (Bilateral)		0,710
	N	30	30
Gentamicina	Coefficiente de correlación	-0,071	1
	Sig. (Bilateral)	0,710	
	N	30	30

Fuente: SPSS 24

En la tabla anterior se observa que el valor de significancia es igual a 0,710 que es mayor que 0,05.

5° Toma de decisiones: Debido a que el nivel de significancia es mayor que 0,05, se procede a contrastar la hipótesis específica:

6° Contrastación de la segunda hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera*

y la Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE ACEPTA

H1: Hipótesis alterna: Sí existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE RECHAZA

7° Conclusión

Los resultados permitieron evidenciar que no existen diferencias entre la actividad microbiana del aceite de *Moringa oleífera* y el antimicrobiano Gentamicina. Es decir, su actividad antimicrobiana presenta cierto grado de similitud. Esto se comprueba con los resultados obtenidos de la tabla 13 y 14, donde se observa que *E. coli* presenta un grado de "Sensibilidad", en el 56,70 % con el aceite de *Moringa oleífera* y en un 100 % con la Gentamicina.

4.8.3. Comprobación de la tercera hipótesis específica

1° Formulación de la tercera hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

H1: Hipótesis alterna: Sí existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

2° Nivel de significancia: 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Análisis de correlación de Pearson

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia: Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la tabla siguiente se observan los resultados obtenidos:

Tabla 19. Actividad antimicrobiana del *aceite de Moringa* y el antimicrobiano Nitrofurantoina

Discos		Aceite de <i>Moringa</i>	Nitrofurantoina
Aceite de <i>Moringa</i>	Correlación de Pearson	1	0,446
	Sig. (Bilateral)		0,013
	N	30	30
Nitrofurantoina	Coefficiente de correlación	0,446	1
	Sig. (Bilateral)	0,013	
	N	30	30

Fuente: SPSS 24

En la tabla anterior se observa que el valor de significancia es igual a 0,013 que es menor que 0,05. Por lo tanto, se procede a comprobar la tercera hipótesis específica:

5° Toma de decisiones: Debido a que el nivel de significancia es menor que 0,05, se procede a contrastar la hipótesis específica:

6° Contrastación de la tercera hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera*

y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE RECHAZA

H1: Hipótesis alterna: Sí existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *M. oleífera* y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE ACEPTA

7° Conclusión

Los resultados permitieron evidenciar que sí existen diferencias entre la actividad microbiana del aceite de *Moringa oleífera* y el antimicrobiano Nitrofurantoína. Es decir, su actividad antimicrobiana no presenta rasgos de similitud. Esto se comprueba con los resultados obtenidos de la tabla 13 y 14, donde se observa que *E.coli* presenta un grado de “Sensibilidad”, en el 56,70 % con el aceite de *Moringa oleífera* y en un 100 % “Resistencia” con la Nitrofurantoína.

4.8.4. Comprobación de la cuarta hipótesis específica

1° Formulación de la cuarta hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe relación entre la actividad antimicrobiana de la Gentamicina y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

H1: Hipótesis alterna: Existe relación entre la actividad antimicrobiana de la Gentamicina y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

2° Nivel de significancia: 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Análisis de correlación de Pearson

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia: Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la tabla siguiente se observan los resultados obtenidos:

Tabla 20. Actividad antimicrobiana de Gentamicina y Nitrofurantoína

Discos		Gentamicina	Nitrofurantoína
Gentamicina	Correlación de Pearson	1	-0,074
	Sig. (Bilateral)		0,698
	N	30	30
Nitrofurantoína	Coeficiente de correlación	-0,074	1
	Sig. (Bilateral)	0,698	
	N	30	30

Fuente: SPSS 24

En la tabla anterior se observa que el valor de significancia es igual a 0,698 que es mayor que 0,05. Por lo tanto, se procede a comprobar la cuarta hipótesis específica:

5° Toma de decisiones: Debido a que el nivel de significancia es mayor que 0,05, se procede a contrastar la hipótesis específica:

6° Contrastación de la cuarta hipótesis específica

Ho: Hipótesis nula: No existe relación entre la actividad antimicrobiana de la Gentamicina y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE ACEPTA

H1: Hipótesis alterna: Existe relación entre la actividad antimicrobiana de la Gentamicina y la Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218. SE RECHAZA

7° Conclusión

Los resultados permitieron evidenciar que no existe relación entre la actividad microbiana de Gentamicina Nitrofurantoína. Es decir, su actividad antimicrobiana no se relaciona entre sí. Esto se comprueba con los resultados obtenidos de la tabla 14 y 15, donde se observa que *E.coli* presenta un grado de "Sensibilidad", de 100 % con la Gentamicina y un 100 % de "Resistencia" con la Nitrofurantoína.

4.8.5. Comprobación de la hipótesis general

1° Formulación de la hipótesis general

Ho: Hipótesis nula: No hay diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218

H1: Hipótesis alterna: Existen diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218

2° Nivel de significancia: 5 % = 0,05

3° Elección de la prueba estadística: Prueba de Tukey

4° Estimación del p-valor o Nivel de Significancia. Si $p < 0,05$ se rechaza la hipótesis Nula y se acepta la hipótesis del investigador.

En la siguiente tabla, se observan los resultados obtenidos del procesamiento de datos:

Tabla21. Diferencias de la acción antimicrobiana del aceite de *Moringa oleífera* en contraste con los antibióticos

Discos	Antibióticos	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %	
					Límite inferior	Límite superior
Aceite	Gentamicina	-,900	,188	,000	-1,35	-,45
	Nitrofurantoína	2,300	,188	,000	1,85	2,75

Fuente: SPSS 24

Se puede observar que el nivel de significancia obtenido es de 0,000, entre el aceite de *Moringa oleífera* con los antibióticos Nitrofurantoína y Gentamicina por lo tanto, presenta un mecanismo de acción antimicrobiana diferente a los antimicrobianos.

Por lo tanto, se procede a comprobar la hipótesis general:

5° Toma de decisión: Debido a que el nivel de significancia es menor que 0,05, procedemos a contrastar la hipótesis general:

6° Contrastación de hipótesis general

Ho: Hipótesis nula: No hay diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218. SE RECHAZA

H1: Hipótesis alterna: Existen diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas

de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC35218. SE ACEPTA

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede observar que el aceite de *Moringa oleífera* posee una acción antimicrobiana diferente con cada uno de los antibióticos Gentamicina y Nitrofurantoína; en relación a la Nitrofurantoína se ha evidenciado que su acción frente a *Escherichia coli* ha presentado “Resistencia” con la cepa y la Gentamicina por otro lado su acción es mayor debido a que *Escherichia coli* presenta “Sensibilidad”. Se puede concluir que el aceite de *Moringa oleífera* se ubica en segunda posición como agente antimicrobiano algo menor que la Gentamicina pero mayor que la Nitrofurantoína.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de los análisis se procede a realizar la presente discusión.

Al realizar el análisis del efecto antimicrobiano del aceite de *Moringa oleífera* en comparación con la acción antibiótica de los antibacterianos estudiados como la Gentamicina, Nitrofurantoína, sobre cepas de *Escherichia coli*, se obtuvo como resultado, que el aceite de *Moringa oleífera* posee una acción antimicrobiana diferente con cada uno de los antibióticos Gentamicina y Nitrofurantoína; el aceite de *Moringa oleífera* se ubica en el segundo lugar después de la Gentamicina con tamaño de halo de hasta 15 mm para el aceite y de 16 mm para la Gentamicina, finalmente de 13 mm para la Nitrofurantoína. El mejor resultado lo obtuvo los autores Nogueira Brilhante, Raimunda Sámia; Alencar Sales et al. (2015), con el extracto de aceite, que inhibió cuatro cepas de *V. cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio mimicus* y *E. coli* (rango de MIC 0,312-5,000 mg / ml). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Pérez, M.; Cabrera, L.; Colina, G. (2016), donde las cepas de

Escherichia coli resultaron afectadas en su crecimiento por efecto de extractos de semillas en un rango de halos entre 2 mm mayor a 1 mm que resultó del extracto de hojas de *Moringa oleífera*. Estos resultados demuestran que la *Moringa oleífera* podría potencialmente servir como una alternativa natural a muchas condiciones médicas, asociadas a afecciones crónicas debido a la multirresistencia a los antibióticos por parte de las bacterias estudiadas. (13). Fernandes Vieira et al. (2013), examinó los efectos antibacterianos de extractos acuosos y etanólicos de semillas de *Moringa oleífera* en concentraciones de 1:5 y 1:10 en volúmenes de 50, 100, 150 y 200 ml. como resultados se detectó actividad antibacteriana (halo de inhibición > 13 mm) en *E. coli*. El efecto bactericida de *Moringa oleífera* en *E. coli*, mostraron halos de inhibición con diámetros de 22,5 mm para un volumen de 50 μ l, 23 mm para 100 μ l, 24 mm para 150 μ l y 27 mm para 200 μ l (18). Mahamadou Bafoutché (2014), realizó una investigación con el objetivo de estudiar las propiedades fungicidas de semillas de *Moringa oleífera* frente *Escherichia coli*. La prueba de susceptibilidad demostró que la cepa de *E. coli* es más "Susceptible" con las diluciones pura (1/1) y 1/2. El tamaño de los halos presentados frente a *E. coli* por semillas de *Moringa oleífera* son las siguientes: puro (1/1) 13 mm, (1/2) 15 mm, 1/4 12 mm, 1/8 5 mm. (19).

En los resultados del análisis de la actividad antimicrobiana del aceite de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli*, se obtuvo que el aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* si presenta actividad antimicrobiana en un 56,7 %, mostrando que la bacteria presenta un grado de “Sensible”, ante su acción bactericida. En la investigación realizada por Dzutam JK, Touani FK, Kuete V, (2016), los extractos de *Xanthosoma mafaffa Lam.*, *Moringa oleífera Lam.*, y *Schott Passiflora edulis Sims*, mostraron actividades antibacterianas con concentraciones inhibitorias que oscilaban entre 128 y 1024 µg / ml en la mayoría de las 19 cepas bacterianas Gram-negativas ensayadas. (16). Una investigación realizada por Gomes de Sousa et al. (2016), donde tenía por objetivo medir la estabilidad de la actividad antimicrobiana de un extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam.* versus tiempo / temperatura. Los resultados fueron que la bacteria únicamente que fue susceptible (“Sensible”), es la de *Staphylococcus aureus* (zona de inhibición > 13 mm), es decir que las cepas de *E. coli*. mostraron “Resistencia” a los extractos de *Moringa oleífera Lam.* El aumento de volumen de extracto no condujo a una mayor eficacia del control. La temperatura no influye en el tamaño de la zona de inhibición, aunque los extractos mantenidos a 8 °C mantuvieron su efecto inhibitorio durante más tiempo. Los resultados de este estudio indican la posible aplicación del extracto de semilla de *Moringa oleífera Lam.* como

una alternativa interesante a la agricultura, como en la conservación de alimentos. (18). Azurero A, Jaramillo Jaramillo C, et al. (2016), en su trabajo de investigación obtuvo como resultado la planta de *Moringa oleífera* entre otras plantas exhibieron una acción antimicrobiana contra todas las cepas bacterianas ensayadas, pero los valores obtenidos de los halos de inhibición frente a *Escherichia coli* por acción de la planta *Moringa oleífera* es de < 6 mm es considerado como que no presenta ninguna actividad microbiana. (21). Los autores Oliveira Peixoto, et al., (2013), los resultados fueron los siguientes: las cepas *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. enteritidis* fueron resistentes a todos los tratamientos. En general, los discos con 400 ul de extracto fueron los más eficientes contra *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *E. faecalis* y *A. caviae*. (22). Ojiako, E. N. (2014), también señala que la *Moringa oleífera* podría usarse para curar muchas enfermedades como fiebre tifoidea, diarrea, niveles altos de azúcar en la sangre, hipertensión y trastornos gastrointestinales, aconseja que esta planta se utilice para cocinar y para hacer otras formulaciones que sean comestibles. (14)

En los resultados del análisis de la actividad antimicrobiana entre los antibióticos: Gentamicina, Nitrofurantoína, sobre cepas de *Escherichia coli*, se obtuvo que teniendo en cuenta su escala de categorización tuvieron diferentes efectos antimicrobianos sobre la *Escherichia coli*. La

Gentamicina en un 96,7 %, posee una categoría de “Sensible”, es decir que una infección ocasionada por la cepa de *E. coli* puede ser tratada apropiadamente con la dosis recomendada de este antibiótico. La Nitrofurantoína en un 100 %, posee una categoría de “Resistente”, señalando que las cepas de *E. coli*, no son inhibidas por las concentraciones séricas del antibiótico, normalmente alcanzadas con las dosis habituales del mismo y por lo tanto su eficacia no ha sido comprobada. En un estudio realizado por Varela Alonso (2013), analizó la acción antimicrobiana de numerosos antibióticos a diversas bacterias y los resultados fueron: el promedio ponderado de “Resistencia” a *E. coli* de los antibióticos fue: Ampicilina 47,6 %, Gentamicina 5,3 % y Nitrofurantoína 3,7 %. (22). En el estudio realizado por Pavón Gómez (2013), llegó a la conclusión que la sensibilidad general de nitrofurantoína para los patógenos urinarios como la *E. coli*, fue de 94,3 %, la de ampicilina de 73 % y la de gentamicina 78 %; los antibióticos más sensibles fueron ceftazidima e imipenem. (23). Orrego et al. (2014) en su investigación obtuvo los siguientes resultados: los antibióticos estudiados presentaron la siguiente categorización frente a la acción antimicrobiana con *E. coli*. Gentamicina 81,9 % “Sensible”, 1 % “Intermedia”, 17,1 % “Resistencia”, y Nitrofurantoína 92,9 % “Sensible” 3,4 % “Intermedia” y 2,7 % “Resistencia”. (24)

CONCLUSIONES

PRIMERA

El efecto antimicrobiano, del aceite de *Moringa oleífera*, en comparación con cada uno de los antibióticos (Gentamicina y Nitrofurantoína), sobre cepas de *Escherichia coli*, dió como resultado que los tres tratamientos presentan diferencias. El aceite presenta diferencias significativas con la acción bactericida de Gentamicina y con la acción bactericida de la Nitrofurantoína, finalmente se observó que el aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* presenta menor actividad bactericida que la Gentamicina, pero mayor actividad bactericida que la Nitrofurantoína.

SEGUNDA

La actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* presentó un grado de "Sensibilidad" de 56,70 % y un grado "Intermedio" del 43,30 %, sobre la bacteria *Escherichia coli* presentando medidas de halo que están en el rango de 13-15 mm.

TERCERA

En la comparación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, no presenta diferencias significativas entre los tratamientos, es decir su poder antimicrobiano presenta similitudes. La actividad antimicrobiana de la Gentamicina presentó un grado de "Sensibilidad" de 96,7 % y el aceite esencial de *Moringa oleífera* presentó un grado de "Sensibilidad" del 56,70 % sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

CUARTA

En la comparación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, los resultados evidenciaron que presentan diferencias entre los tratamientos, es decir su actividad antimicrobiana no presenta similitudes entre sí. La actividad antimicrobiana de Nitrofurantoína presentó un grado de "Resistencia" en un 100,00 % sobre la bacteria *Escherichia coli* presentando medidas de halo que están en el rango de 11-14 mm. y el aceite esencial de *Moringa oleífera* presentó un

grado de "Sensibilidad" en un 56,70 % sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

QUINTA

En la comparación de la actividad antimicrobiana de Gentamicina frente a Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, los resultados evidenciaron que no presentan relación ambos tratamientos, es decir su actividad antimicrobiana no presenta similitudes entre sí. La actividad antimicrobiana de Nitrofurantoína presentó un grado de "Resistencia" en un 100,00 % sobre la bacteria *Escherichia coli* y la Gentamicina presentó un grado de "Sensibilidad" en un 96,7 % sobre *Escherichia coli* ATCC 35218.

RECOMENDACIONES

PRIMERA

Para futuros trabajos se recomienda ahondar en la investigación y realizar más tratamientos utilizando aceite esencial de las semillas de *Moringa* de diversas procedencias a nivel nacional, debido a que existen diversos estudios donde se evidencia la existencia de diferencias en el efecto antimicrobiano de esta planta en cepas de *E. coli*, dependiendo del origen de la planta.

SEGUNDA

Se recomienda en investigaciones posteriores analizar el efecto antimicrobiano del aceite *Moringa oleífera*, sobre hongos para probar si posee propiedades antifúngicas.

TERCERA

Se recomienda poner a prueba el efecto bactericida del aceite de semillas de *Moringa oleífera* con los antibióticos utilizados en esta investigación, pero frente a otras bacterias como el *Staphylococcus* u otros.

CUARTA

Se recomienda realizar estudios posteriores sobre la actividad bactericida del aceite de semillas de *Moringa oleífera* frente a otros antibióticos con diferente concentración, con la finalidad de comprobar si influye en su actividad antimicrobiana.

QUINTA

Se recomienda realizar pruebas comparativas de la actividad antimicrobiana del aceite de semillas de *Moringa oleífera*, Gentamicina y Nitrofurantoína, en animales de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martín C, Martín G, García A, Fernández T, Hernández E, Puls J. Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. *Pastos y forrajes*. 2013 Abril-Junio; 36(2): p. 137-149.
2. Agoyi EE, Assogbadjo AE, Gouwakinnou G, Okou FA, Sinsin B. Ethnobotanical Assessment of *Moringa oleifera* Lam., in Southern Benin (West Africa). *Ethnobotany Research and Applications*. 2014;(12): p. 551-560.
3. Fahey JW. *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life journal*. 2005; V(1).
4. Mbikay M. Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic Hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Frontiers in pharmacology*. 2012;(3).
5. Región de Salud Tacna. Análisis de situación de salud (ASIS), de la región Tacna. Tacna:, Dirección Ejecutiva de Epidemiología; 2017.

6. Pigrau Serrallach C. Infección del tracto urinario. Primera ed. Autónoma U, editor. Barcelona: Salvat; 2013.
7. Oluduro AO. Evaluation of antimicrobial properties and nutritional potentials of *Moringa oleifera* Lam. leaf in South-Western Nigeria. *Malaysian J. Microbiol.* 2012; 8(59-67).
8. Bukar A, Uba A, Oyeyi TI. Antimicrobial profile of *Moringa oleifera* Lam. Extracts against some food-borne microorganisms. *Bayero. J. Pure Applied Sci.* 2010;(3): p. 43-48.
9. Rahman MM, Rahman MM, Akhter S, Jamal MA, Pandeya DR, Haque MA, et al. Control of coliform bacteria detected from diarrhea associated patients by extracts of *Moringa oleifera*. *Nepal Med. Coll. J.* 2010;(12): p. 12-19.
- 10 Fahey J. Actividad antimicrobiana de moringa oleífera. [Online].; 2012 . [cited 2018 Junio 19. Available from: <https://moringacanaryisland.com/actividad-antimicrobiana/?lang=es>
- 11 Universidad Nacional Autónoma de México. Gentamicina. Catálogo de medicamentos genéricos. México.; Facultad de medicina; 2007.

- 12 Instituto Químico biológico-IQB. Vademecum-Nitrofurantoína. [Online].; 2011 [cited 2018 Mayo 18. Available from: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/n028.htm>
- 13 Pérez M, Cabrera L, Colina G. actividad antibacteriana in vitro de extractos acuoso de Moringa oleifera sobre especies patogenas intrahospitalarias. Redieluz. 2015 Enero-Diciembre; 5(1-2).
- 14 Ojako EN. Phytochemical analysis and antimicrobial screening of Moringa oleifera leaves extract. The International Journal of Engineering and Science. 2014 Enero; 3(3): p. 32-35.
- 15 Dzotam JK, Touani FK, Kuete V. Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2016; 9(16).
- 16 Nogueira Brilhante RS, Alencar Sales J, Souza Sampaio CM, Neto Paiva MdA, Melo Guedes GM, Pereira de Alencar L. *Vibrio* spp. from *Macrobrachium amazonicum* prawn farming are inhibited by *Moringa oleifera* extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2015

Noviembre; 8(11): p. 919-922.

- 17 Gomes de Sousa JP, da Rosa CE, dos Santos Assunção DE, Paiva EC. Tiempo de Influencia Binomial / Temperatura en la Actividad Bactericida del extracto acuoso de Moringa oleifera Lam. Engenharia na agricultura, viçosa. 2016 Abril; 24(2): p. 131-138.
- 18 Fernandes Vieira GH, Mourão JA, Ângelo ÂM, Costa A. Efecto Antibacteriano (in vitro) de Moringa oleifera y Annona muricata en contra de las bacterias gram positivas y gram negativas. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 2013 Mayo-Julio; 52(3).
- 19 Mahamadou Bafoutché AN. Propiedades fungicida, bactericida y aglutinante de las semillas de Moringa oleifera Lam. Tesis. Santa Clara, Cuba: Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Biología; 2014.
- 20 Azuero A, Jaramillo-Jaramillo C, San Martin D, D'Armas H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. Revista Ciencia UNEMI. 2016 Septiembre; 9(20).
- 21 Oliveira Peixoto JR, Silva GC, Albuquerque Costa RJ. Efecto antibacteriano in vitro de extractos de hojas de moringa acuosas y

- etanólicas. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2013 Febrero;: p. 201-204.
- 22 Varela Alonso CT. Comparación de la resistencia al tratamiento de infecciones urinarias no complicadas a nivel internacional, con historias clínicas del servicio de urgencias del hospital San Ignacio. Monografía. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas; 2013.
- 23 Pavón Gómez NJ. Diagnóstico y tratamiento de infección de las vías urinarias en embarazadas que acuden a Emergencia y consulta externa del Hospital Bertha Calderón Roque en Managua, Nicaragua. *Perinatología y reproducción humana*. 2013 Enero - Marzo; 27(1).
- 24 Orrego Marin CP, Henao Mejia CP, Cardona Arias JA. Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. *Acta Médica Colombiana*. 2014 Octubre - Diciembre; 39(4).
- 25 Olson ME, Fahey JW. Moringa oleífera: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Revista mexicana de Biodiversidad*. 2011;(82): p. 1071-1082.

- 26 Paliwal R, Sharma P, Sharma A. A review on Horse radish tree (*Moringa oleifera*): A multipurpose tree with high economic and commercial importance. *Asian Journal of Biotechnology*. 2013; 3(4): p. 317-328.
- 27 Velázquez Zavala M, Peón Escalante IE, Zepeda-Bautista R, Jiménez Arellanes MA. *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.): potential uses in agriculture, industry and medicine. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 2016; 2(22).
- 28 Fuglie Lowell J. *The Miracle Tree: Moringa oleifera: Natural Nutrition for the Tropics*. Training Manual. Church World Service. Dakar, Senegal; 2002.
- 29 Sanjay P, Dwivedi KN. Shingru (*Moringa oleifera* Lam.): A critical review. *International Journal of Ayurveda and Pharmaceutical Chemistry*. 2015; 3(1): p. 217-227.
- 30 Falasca S, Bernabé MA. Potenciales usos y delimitación del área de cultivo de *Moringa oleifera* en Argentina. *Revista virtual REDESMA*. 2008;(3): p. 1-16.
- 31 Fuglie LJ. Combating malnutrition with *Moringa*. In: *The miracle tree:*

- the multiple attributes of Moringa. Fuglie LJ, editor. Wageningen, The Netherlands.: CTA Publication.; 2001.
- 32 Singh N. Panchakarma: Cleaning and rejuvenation therapy for curing the diseases. *Journal of Pharmacognosy and Ohytochemistry*. 2012; 1(2): p. 1-9.
- 33 Aziz N, Jayasuriya N, Fan L. Application of 'Moringa oleifera' seeds and 'Musa cavendish' as coagulants for lead, nickel and cadmium removal from drinking water. In *APCChe CHEMECA*; 2015; Melbourne.
- 34 Mofijur M, Masjuki HH, Kalam MA, Atabani AE, Fattah IMR, Mobarak HM. Comparative evaluation of performance and emission characteristics of Moringa oleifera and Palm oil based biodiesel in a diésel engine.. *Industrial Crops and Products*. 2014;(53): p. 78-84.
- 35 Gómez Mitjans D, Pita Bravo V, Zumalacárregui de Cárdenas B. Caracterización de aceites de las semillas de Moringa oleifera a partir de la extracción por diferentes métodos. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2016 Julio-Diciembre; XVIII(2): p. 106-111.
- 36 Price ML. The Moringa Tree. Educational Concerns for Hunger Organization (ECHO). Technical Note. ; 1985 (revised 2002).

- 37 Tsaknis JS, Lalas V, Gergis V, Spiliotis V. Characterization of Moringa oleifera variety Mbololo seed oil of Kenya. Journal of Agricultural and Food Chemistry. ;(47): p. 4495-4499.
- 38 Benitez JB, Fortunato RH, Gómez NI, Radice S. Grupo ad Hoc Moringa oleifera. .
- 39 Ayotunde EO, Fagbenro OA, Adebayo OT, Amoo AI. Toxicity of Aqueous Extracts of Drumstick, Moringa oleifera, Seeds to Nile tilapia, Oreochromis niloticus, Fingerlings and Adults. International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science. 2011; 1(4): p. 200-208.
- 40 Canett-Romero R, Arvayo-Mata KL, Ruvalcaba-Garfias NV. Aspectos tóxicos más relevantes de Moringa oleífera y sus posibles daños. Biotecnia. 2014; 2(16): p. 36-43.
- 41 Lullman H, Mohr K, Hein L. Farmaconogsia. sexta ed. Madrid: Médica Panamericana; 2008.
- 42 Danielski L, Michielin E. Horsetail (Equisetum giganteum L.) oleoresin and supercritical CO₂: Experimental solubility and empirical data correlation. Journal Food Eng. 2007.

- 43 Medina Bernal M. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto de Equisetum giganteum L. (cola de caballo) sobre el crecimiento de Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Candida albicans. Tesis. Arequipa: Universidad Católica de Santa María., Facultad de ciencias farmacéuticas bioquímicas y biotecnológicas; 2015.
- 44 Mena G. Obtención y aprovechamiento de extractos y vegetales de la flora salvadoreña. Segunda ed. Salvador: Editorial Universitaria; 1994.
- 45 Aricapa D. Actividad antimicrobiano de plantas sobre microorganismos cariogénicos. Tesis de Bacteriólogo. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana., Facultad de Ciencias Básicas.; 2009.
- 46 Garcia P. Microbiología Clínica Práctica. Segunda ed. Andalucía Cádiz; 1994.
- 47 Echevarría Zarate J, Sarmiento Aguilar E, Osoreo Plenge F. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Acta Médica Per. 2006; 1(23).
- 48 AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica de Gentamicina Braun. [Online].; 2015 [cited 2017 Octubre 2. Available from:

https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/59658/FichaTecnica_59658.html.pdf

- 49 AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica de Nitrofurantoína. [Online].; 2015 [cited 2017 octubre 2. Available from: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/22974/FichaTecnica_22974.html.pdf
- 50 Clavell L, Pedrique de Aulacio M. Microbiología. Segunda ed.: Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.; 1992.
- 51 Palavecino Rosales E. Boletín Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. 1997;(26): p. 156-160.
- 52 Bustamante Z, Funes F, Zamora J, Panozo A, Villaroel P. Identificación Microbiológica, molecular; serológica y la Determinación de la susceptibilidad a la Penicilina y Eritromicina en la Ciudad de Cochabamba. ; 2009.
- 53 Jawhetz E. Microbiología Médica. Quinceava ed. México: Manual Moderno S.A.; 1995.

- 54 Ferraro MJ. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Quinta ed.: National Committee for Clinical Laboratory Standards.; 2002.
- 55 Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Manual de procedimientos. Lima: Ministerio de salud del Perú, Organismo público descentralizado de sector salud; 2002.
- 56 Zorrilla Arena S. Introducción a la metodología de la investigación. Segunda ed. Cal ALy, editor.: México Oceáno; 2007.
- 57 Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas N°30. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2002.
- 58 Cockerill FR. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Informe de parámetros. Pennsylvania: Clinical and laboratory standards institute; 2013.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

“Comparación del efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína, sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, Tacna – 2017”

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA	TÉCNICAS/INSTRUMENTO
<p>Pregunta general ¿Cuál es la diferencia del efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> entre el aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i>, Gentamicina y Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC35218, Tacna-2017?</p> <p>Preguntas específicas a) ¿Cuál será la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i> sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218? b) ¿Cuáles serán las diferencias del efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del aceite esencial de semillas de <i>M. oleífera</i> y Gentamicina sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218? c) ¿Cuáles serán las diferencias del efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del aceite esencial de semillas de <i>M. oleífera</i> y Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218? d) ¿Cuál será la relación del efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> de Nitrofurantoína y Gentamicina sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218?</p>	<p>Objetivo General Comparar el efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i> frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218, Tacna-2017.</p> <p>Objetivos Específicos a) Describir la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i> sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218. b) Comparar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>M. oleífera</i> frente a la Gentamicina sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218. c) Comparar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>M. oleífera</i> frente a la Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218. d) Comparar la actividad antimicrobiana de los antibióticos Gentamicina y Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.</p>	<p>Hipótesis General Existen diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i> frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.</p> <p>Hipótesis Específicas <i>1ra hipótesis específica</i> Si existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de <i>Moringa oleífera</i> sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218. <i>2da hipótesis específica</i> Si existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de <i>M. oleífera</i> y la Gentamicina sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218. <i>3ra hipótesis específica</i> Si existen diferencias entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de <i>M. oleífera</i> y la Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218. <i>4ta hipótesis específica</i> Si existe relación entre la actividad antimicrobiana de la Gentamicina y la Nitrofurantoína sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.</p>	<p>Variable V1=Actividad antimicrobiana del Aceite de <i>Moringa oleífera</i> V2= Actividad antimicrobiana de la Gentamicina V3= Actividad antimicrobiana de la Nitrofurantoína</p> <p>Dimensiones Actividad antimicrobiana</p> <p>Indicadores Tamaño del halo (mm)</p>	<p>TIPO DE ESTUDIO Aplicada</p> <p>DISEÑO DE INVESTIGACION No experimental-Transversal</p> <p>NIVEL DE INVESTIGACIÓN: Es descriptiva-correlacional</p> <p>POBLACIÓN: Cultivo de <i>E. coli</i> realizado <i>in vitro</i></p> <p>MUESTRA: Repeticiones del número de placas Petri</p>	<p>Método: Prueba de sensibilidad antibiótica (PSA).</p> <p>Análisis: Estadística descriptiva e inferencial</p> <p>Técnicas de recogida de datos: Medición de halos de inhibición de crecimiento bacteriano.</p> <p>Instrumento de recolección de datos: Fichas de observación, hojas de registro</p> <p>Materiales -Medios de cultivo: Agar Mac Conkey y Agar Mueller Hinton -Material de vidrio -Equipos de laboratorio</p>

Fuente: Elaboración propia

Anexo 2. Aceite a partir de las semillas de *Moringa oleífera*

1º Semillas trituradas en el mortero

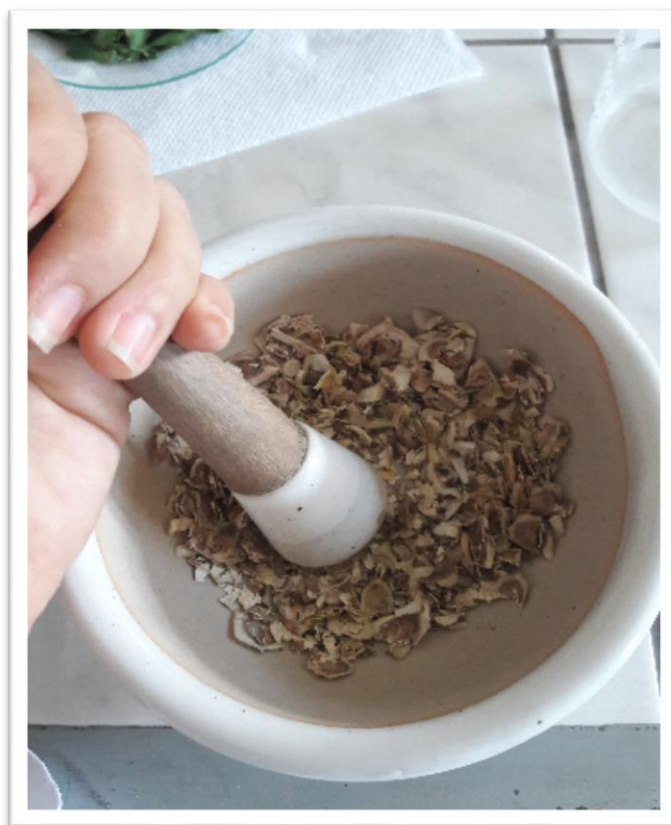


Figura 2. Semillas trituradas de *Moringa oleífera*
Fuente: Elaboración propia

2º Se pesan 15 gr de muestra y se coloca en el cartucho de papel filtro



Figura 3. Semillas de *Moringa oleifera* preparadas para destilación
Fuente: Elaboración propia

- 3º Luego se ensambla el soxhlet y como solvente se agrega Alcohol Eílico Absoluto ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) en el balón.



Figura 4. Semillas de *Moringa oleífera* destiladas

Fuente: Elaboración propia

- 4º Se realizaron 4 recirculaciones

5° Se realiza la evaporación del solvente, dejando unos ml para observar que se forma un precipitado el cual corresponde al aceite de las semillas de *Moringa oleífera*.



Figura 5. Aceite de semilla de *Moringa oleífera*
Fuente: Elaboración propia

6° Finalmente, el aceite de las semillas de *Moringa oleífera*, se decanta obteniéndose 2ml del mismo, se reserva para ser usado más adelante.

Anexo 3. Replicación de *Escherichia coli*

El procedimiento de replicación realizado de la cepa de *Escherichia coli*, es el siguiente:

- 1º Se obtuvo la cepa estandarizada de *Escherichia coli* del Laboratorio de Microbiología del Hospital Hipólito Unanue.
- 2º Luego se llevó esa cepa al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.
- 3º Seguidamente se prepararon las placas para replicar la cepa; se utilizó Agar Mac Conkey para el crecimiento de nuestras colonias.

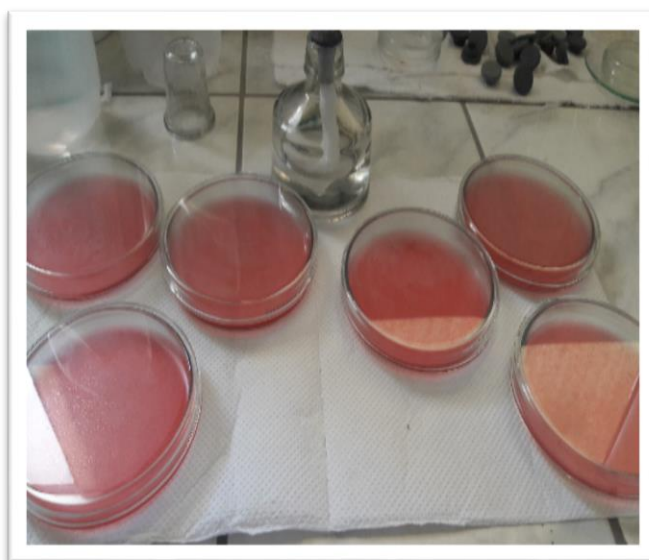


Figura 6. Placas preparadas con agar Mac Conkey
Fuente: Elaboración propia

4° Para el crecimiento de las colonias, se dejaron incubando las placas inoculadas a 37 °C por 48hr.

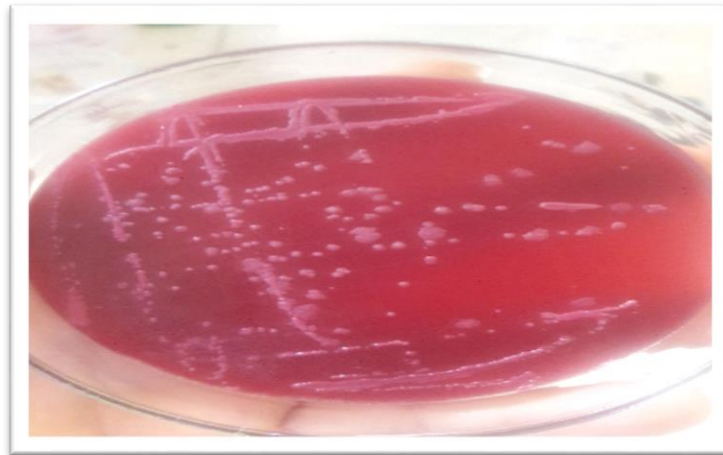


Figura 7. Resultados de incubación de placas inoculadas
Fuente: Elaboración propia

Anexo 4. Preparación de los discos de sensibilidad

Para la preparación de los discos de sensibilidad se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

- 1º Se prepararon los discos con ayuda del perforador, esterilizados a 120 °C por 10min.
- 2º Seguidamente se colocaron 10ul de aceite en los discos.

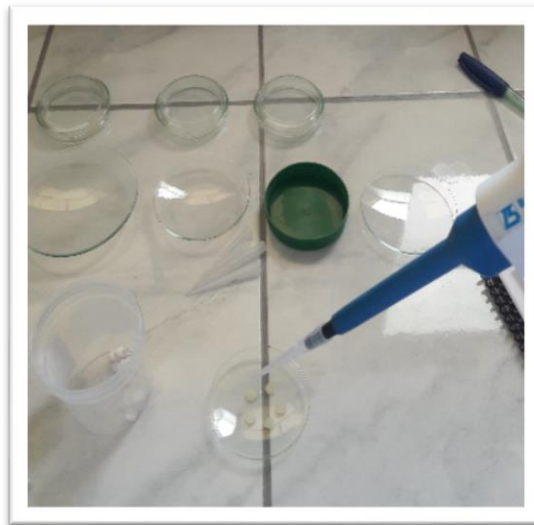
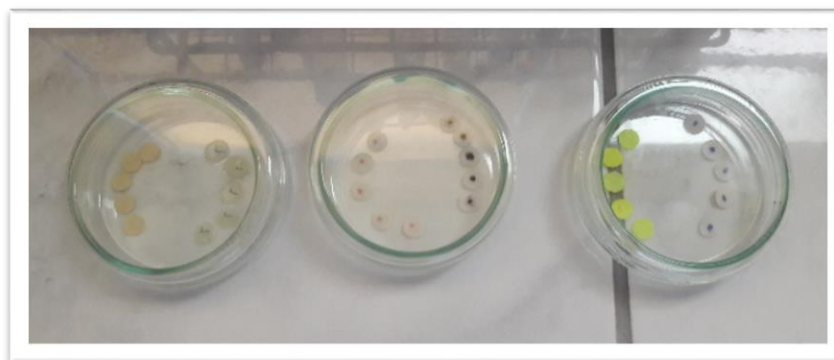


Figura 8. Discos preparados para dilución
Fuente: Elaboración propia

3º Se prepararon 30 discos con aceite para realizar las repeticiones correspondientes.



Fuente: Elaboración propia

Anexo 5. Preparación de sensibilidad antimicrobiana (PSA)

El procedimiento realizado para la prueba de sensibilidad antimicrobiana con método Kirby Bauer es el siguiente:

- 1º Se prepararon las placas con Agar Mueller Hinton para la realización de la Prueba de Sensibilidad Antibiótica con el Método Kirby-Bauer.
- 2º Se recogió, con ayuda de un hisopo estéril, las colonias incubadas en Agar Mac y se suspendieron en una solución salina al 0,09 %.

3º Con ayuda de otro hisopo estéril se inocularon las cepas de *E. coli* en las placas, secándose cualquier rastro de humedad por 5 min a temperatura ambiente.

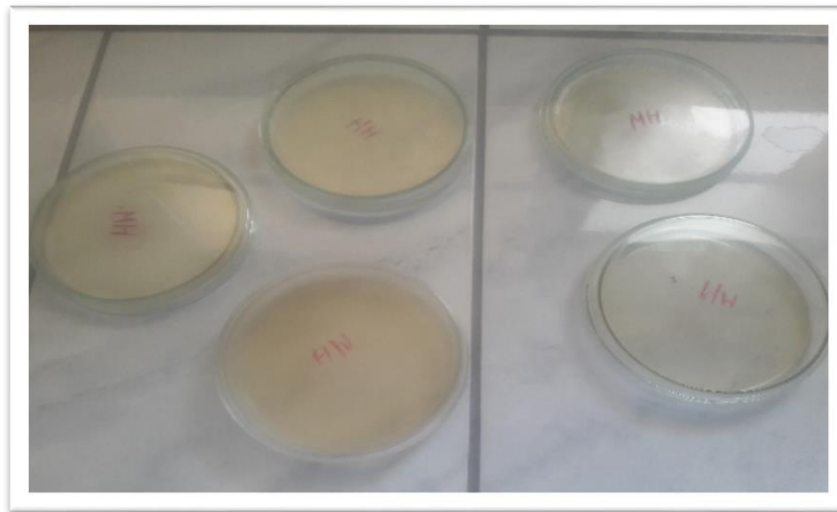


Figura 9. Cepas *E. coli* inoculadas en placas
Fuente: Elaboración propia

4º Con ayuda de una aguja estéril se colocaron los discos en las placas con Agar Mueller Hinton.

5° Se dejaron incubando las placas a 37 °C por 48 hrs.

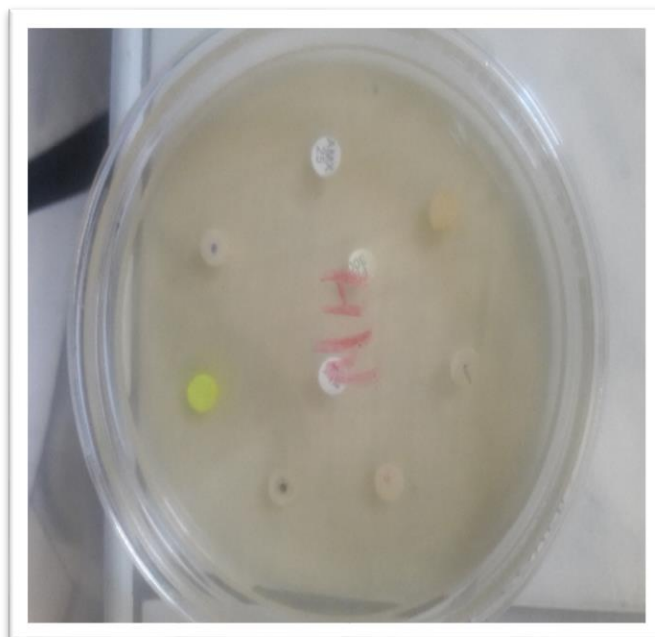


Figura 10. Placas incubadas con *E. coli*
Fuente: Elaboración propia

6° Los resultados se obtuvieron a las 48 hrs.

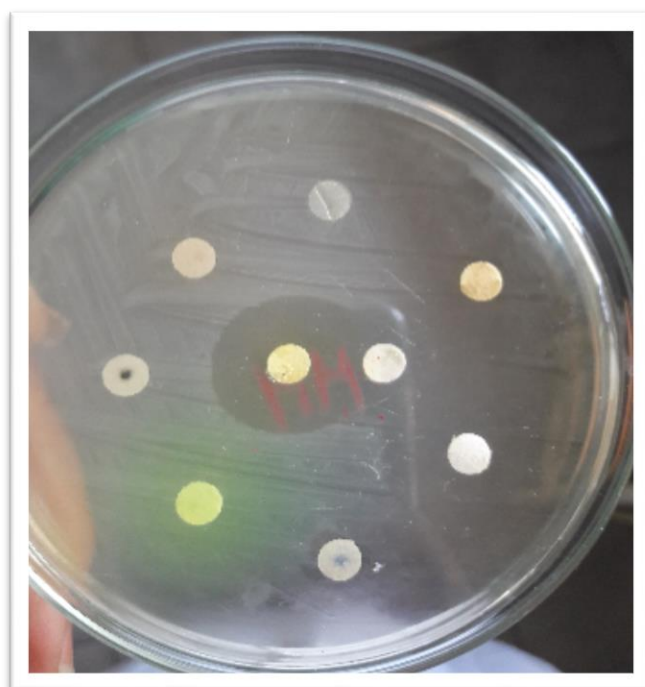


Figura 11. Resultados de placas incubadas con *E. coli*

Fuente: Elaboración propia