



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ESTUDIO DOCUMENTAL DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE
ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS DE ORIGEN NATURAL FRENTE A
BACTERIAS MULTIRRESISTENTES**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: CARLA CECILIA IBARRA CASTILLO
PROFESORA GUÍA: BLGA. Mg. Cs. OLGA LOBOS GILABERT**

**TALCA – CHILE
2022**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023

Dedicatoria

A mi familia y amigos, en especial a mi madre Irene Castillo, por apoyarme en este proceso tan importante y difícil para mí, por animarme a luchar por lo que yo quería, sin presionarme, sin juzgarme, por escuchar mi materia de estudio, aunque no entendiera nada de lo que le decía, solo con el fin de que me sintiera más segura de mí y de mis conocimientos. A mis amigos por las risas y sobre todo por creer en mí cuando a veces no creía ni yo, por escuchar mis disertaciones y por motivarme a seguir adelante cuando quise rendirme; y a mi tía Juana por cuidarme desde el cielo.

Agradecimientos

A todos aquellos docentes que te motivan con su actitud a querer saber más sobre un tema y que buscan estrategias diferentes para enseñar, con el fin de que los alumnos aprendan con mayor facilidad. En especial agradecimiento a Olga Lobos, profesora guía de esta memoria que me dió la oportunidad de desarrollar un tema tan importante como este, por su tiempo y vocación. También quiero agradecer a los profesores de fisiología Francisco Monsalve y Oscar Arriagada por ayudarme con métodos de estudios en Morfofisiología II.

ÍNDICE DE CONTENIDOS.

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS:	2
1. OBJETIVO GENERAL	2
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN	3
MARCO TEÓRICO	4
1. INTRODUCCIÓN A LA MULTIRRESISTENCIA	4
1.1 Mecanismos de resistencia bacteriana	4
1.2 Evolución del concepto multirresistencia	5
1.3 Problemas causados por la resistencia antimicrobiana	5
1.4 Antibióticos y sus desventajas	5
1.5 Bacterias multirresistentes	6
1.6 Conceptos importantes	6
1.7 Mecanismos de combate de la multirresistencia en la actualidad	7
2. ANTIMICROBIANOS DE ORIGEN NATURAL	9
2.1 Estudio de la actividad antibacteriana de <i>Psidium guajava</i>	9
2.2 Estudio de la actividad antibacteriana de <i>Allium sativum</i>	13
2.3 Estudio de la actividad antibacteriana de Líquenes	20
2.4 Estudio de la actividad antimicrobiana de <i>Solanum nigrum</i>	25
2.5 Estudio de la actividad antibacteriana de Cianobacterias	30
2.6 Estudio de la actividad bacteriana de <i>Cinnamomun verum</i> y <i>Thymus vulgaris</i> .	34
2.7 Estudio de actividad antimicrobiana de <i>Ruscus hypophyllum</i>	39
2.8 Estudio antibacteriano de <i>Zingiber officinale</i>	41
3. CONCLUSIÓN	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Mecanismos de resistencia bacteriana.....	4
Figura 2. Productos extractivos y algunas de sus características.....	8
Figura 3. Actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de <i>Psidium</i> contra <i>K. pneumoniae</i> multirresistente.....	11
Figura 4. Zona de inhibición del extracto de <i>A. sativum</i> y del antibiótico gentamicina frente a diferentes bacterias multirresistentes.....	14
Figura 5. Actividad microbiana de diferentes antimicrobianos frente a <i>P. mirabilis</i> multirresistente.....	27
Figura 6. Actividad antimicrobiana de <i>O. thaianum</i> contra bacterias multirresistentes.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Actividad antimicrobiana de un aceite esencial de hojas de <i>Psidium</i> (guayaba) frente a <i>K. pneumoniae</i> multirresistente	11
Tabla 2. Actividad antimicrobiana de extractos naturales de <i>A. sativum</i> frente a bacterias multirresistentes.	15
Tabla 3. Patrón de sensibilidad antibacteriano frente a aislados clínicos multirresistentes.	18
Tabla 4. Actividad antibacteriana de un extracto de <i>A. sativum</i> con agua destilada frente a aislados clínicos multirresistentes.	18
Tabla 5. Actividad antibacteriana de un extracto de <i>A. sativum</i> con agua peptonada frente a aislados clínicos multirresistentes	19
Tabla 6. Actividad antimicrobiana de extractos de líquenes y antibióticos frente a bacterias Gram positivo y Gram negativo	23
Tabla 7. Actividad antimicrobiana de extractos de líquenes frente a bacterias multirresistentes	24
Tabla 8. Actividad antibacteriana de <i>S. nigrum</i> frente a una bacteria multirresistente.	27
Tabla 9. Actividad antibacteriana de diversos antimicrobianos frente a una cepa de <i>S. aureus</i> .	29
Tabla 10. Actividades antimicrobianas del extracto de <i>O. thaianum</i> ALU PBC5 y PBC8 frente a bacterias multirresistentes.	31
Tabla 11. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de <i>A. baumannii</i> frente a aceites esenciales de <i>C. verum</i> y <i>T. vulgaris</i> .	35
Tabla 12. Zona de inhibición de un aceite esencial de <i>C. verum</i> a diferentes diluciones.	36
Tabla 13. Actividad antimicrobiana de antibióticos de uso común y del aceite esencial de <i>C. verum</i> frente a diversas bacterias.	37
Tabla 14. Actividad antimicrobiana de un aceite esencial y de un extracto acuoso de <i>T. vulgaris</i> frente a cepas multirresistentes	38

Tabla 15. Concentración mínima inhibitoria de extractos de <i>R. hypophyllum</i> frente a bacterias resistentes a múltiples fármacos	40
Tabla 16. Actividad antibacteriana de un extracto de <i>Z. officinale</i> con agua destilada estéril frente a distintos microorganismos.	41
Tabla 17. Actividad antibacteriana de un extracto de <i>Z. officinale</i> con agua destilada frente a aislados clínicos multirresistentes	43
Tabla 18. Actividad antibacteriana de un extracto de <i>Z. officinale</i> con agua peptonada frente a aislados clínicos multirresistentes	43

RESUMEN

Durante los últimos años los microorganismos han cobrado una gran importancia en la salud y vida de las personas lo cual puede evidenciarse con la actual pandemia producida por SARS-COV-2. Este no es el único agente etiológico que, actualmente, amenaza a la salud pública en el planeta puesto que las bacterias, a lo largo de los años, han adquirido una serie de mecanismos que les han permitido convertirse en microorganismos con una marcada resistencia a los fármacos de uso común en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Lo anterior, ha provocado que la Organización Mundial de la Salud (OMS) publique una lista de bacterias que necesitan con urgencia de nuevos antibióticos para su tratamiento.

Del contexto anterior, nace la necesidad de buscar nuevas y efectivas alternativas terapéuticas que conduzcan a tratamientos exitosos y reduzcan la aparición de otros mecanismos de resistencia. Con base en lo anterior, en esta revisión se recopila información de investigaciones en las cuales se determinó la actividad antimicrobiana de extractos y aceites esenciales frente a bacterias multirresistentes. Teniendo como sustento la evidencia descrita, se puede concluir que los antimicrobianos de origen natural son una buena opción terapéutica para combatir la resistencia, no obstante, para poder incorporarlos como terapia a futuro es necesario hacer un análisis de los distintos factores que pueden influenciar en su efectividad. Realizar estudios más acabados en los que se logre determinar la acción antimicrobiana de estos compuestos frente a bacterias multirresistentes, es de vital importancia para seguir avanzando y lograr el establecimiento de una línea de investigación sostenible en este ámbito.

Palabras claves: multirresistencia, aceites esenciales, extractos naturales, antibióticos, concentración mínima inhibitoria.

INTRODUCCIÓN

El escenario de la resistencia a los antimicrobianos es cada día más complejo. Debido a esta, un cuadro clínico puede empeorar afectando considerablemente la estadía de un paciente en los centros de salud. Lo anterior, implica una menor disponibilidad de fármacos y un mayor gasto en tratamientos. Los motivos por lo que esto sucede tienen estrecha relación con variados factores como la inadecuada administración de medicamentos, tratamientos incompletos (por parte del paciente), o debido al consumo indirecto de estos a través de la ingesta de alimentos. Consecuencia de lo descrito precedentemente se tiene el origen de las múltiples resistencias.

El concepto de multirresistencia ha variado a lo largo de los años, siendo actualmente más amplio puesto que elimina el criterio de relevancia clínica. Ha sido tan grande el impacto de la multirresistencia que la Organización mundial de la Salud (OMS) publicó una lista de bacterias que necesitan con urgencia de nuevos antibióticos. Sin embargo, frente a la actual pandemia los investigadores se han centrado mayoritariamente en la búsqueda y análisis de SARS-COV-2 disminuyendo considerablemente las publicaciones asociadas a resistencia bacteriana. Por ende, es de suma importancia no subestimar la multirresistencia y realizar la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas surgidas durante el periodo de COVID-19. Esto es interesante de destacar ya que la resistencia a múltiples antibióticos es un problema que para el que aún no se vislumbra una solución efectiva y que puede incluso empeorar el cuadro de un paciente hospitalizado.

En esta revisión, las nuevas opciones terapéuticas corresponden a extractos o aceites esenciales que poseen actividad antimicrobiana. Respecto de esto, serían nuevas alternativas de tratamiento a investigar, pues el número de estudios en esta área es reducido. Los nuevos estudios utilizando extractos o aceites esenciales, buscan minimizar los efectos adversos producidos por los antibióticos utilizados de forma tradicional y como consecuencia de esto, el combate de la multirresistencia.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Analizar la información existente respecto de la acción antimicrobiana de aceites esenciales y extractos naturales frente a bacterias multirresistentes.

Objetivos específicos:

1. Exponer la acción antimicrobiana de un aceite esencial o extracto natural frente a bacterias multirresistentes con base en la literatura existente.
2. Examinar los resultados obtenidos en diferentes investigaciones relacionadas con el uso de aceites esenciales o extractos naturales como antimicrobianos activos frente a bacterias multirresistentes.
3. Comparar teóricamente la acción antimicrobiana de aceites esenciales y extractos naturales frente a antibióticos de uso común o terapéutico.

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se realizó la búsqueda de investigaciones de corriente principal “Web of Science” por medio de “Google académico” y del “Metabuscador del Sistema de Bibliotecas de la Universidad de Talca”, utilizando palabras claves como multirresistencia, aceites esenciales, extractos naturales, antibióticos y concentración mínima inhibitoria, logrando recopilar 9 potenciales recursos que pueden utilizarse a futuro como antimicrobianos naturales, entre los cuales se encuentran extractos o aceites esenciales de guayaba, canela, tomillo, ajo, jengibre, laureola, hierba mora negra, líquenes y cianobacterias.

Los artículos de investigación utilizados en esta revisión fueron seleccionados según idioma inglés, discriminados por el tipo de resistencia de las cepas estudiadas, seleccionándose, preferentemente, aquellos documentos que consideraran bacterias multirresistentes. Además, se optó por artículos publicados desde el 2020 en adelante, los que contemplarían los avances más recientes. Adicionalmente, se realizó una comparación de estos con publicaciones más antiguas con el fin de exponer de mejor manera los desarrollos en esta área. Respecto al tipo de extractos analizados, se recolectó, mayoritariamente, información concerniente a extractos hidroalcohólicos, no excluyéndose extractos naturales de otra índole.

En cuanto a la organización de esta revisión se comenzó con una descripción general sobre la multirresistencia para luego ir abordando contenidos más específicos, como lo son artículos concretos sobre la temática descrita con el fin de conocer el impacto que podría tener el uso de antimicrobianos de origen natural, el tipo de bacterias sobre el cual serían utilizados, y su concentración mínima inhibitoria (CMI), entre las características más importantes. Finalmente, recopilando la información obtenida desde los artículos utilizados, fueron creadas tablas resumen que incluyen variables como los tipos de extractos o aceites y CMI frente a determinadas especies bacterianas.

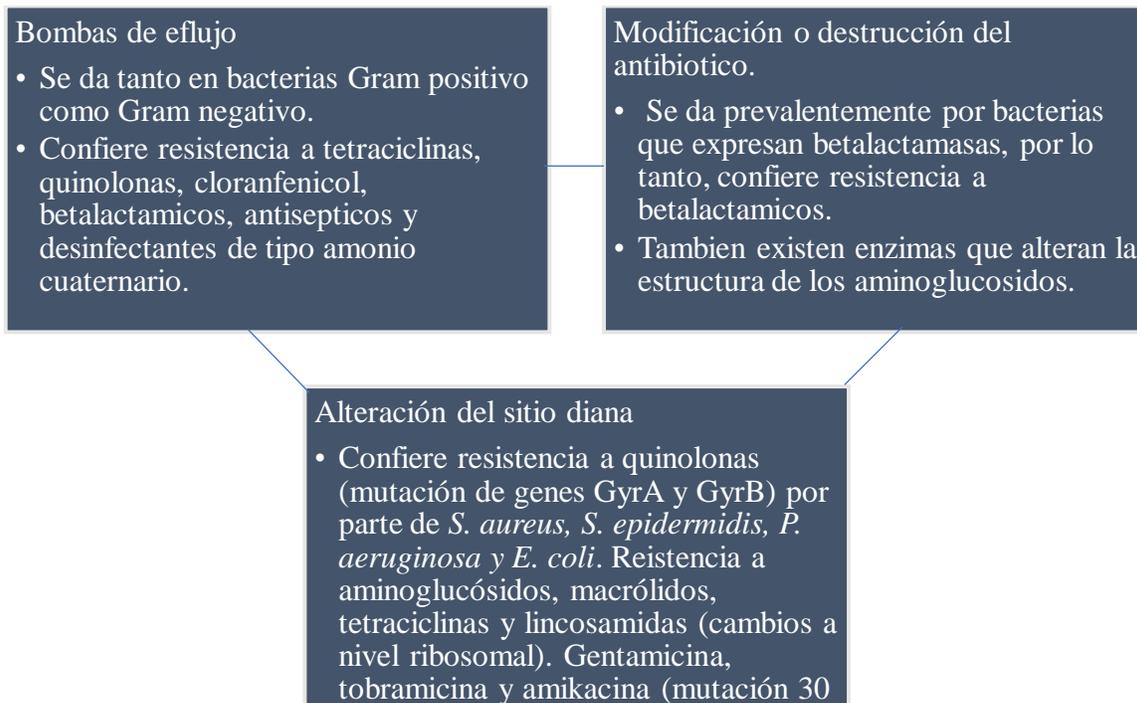
MARCO TEÓRICO

1. INTRODUCCIÓN A LA MULTIRRESISTENCIA

1.1 Mecanismos de resistencia bacteriana

Las bacterias han desarrollado una gran diversidad de mecanismos de resistencia que les han permitido sobrevivir a la acción de los antimicrobianos, entre estos se encuentra la capacidad de expresar bombas de eflujo, las que reducen la susceptibilidad de los antibióticos (1), al tomar este medicamento desde el espacio periplásmico y expulsarlo hacia el exterior evitando de esa manera que llegue a su sitio de acción. Otro mecanismo es la capacidad de generar cambios en la permeabilidad de la membrana externa, lo cual puede hacer que no se permita el paso de algunos agentes al espacio periplásmico. También, las bacterias pueden alterar el sitio donde se une el antibiótico y/o generar cambios en la estructura del fármaco, lo cual provoca, a su vez, una pérdida de función de este (2). Más información acerca de esta temática puede visualizarse en la figura 1.

Figura 1. Mecanismos de resistencia bacteriana. Tomado y adaptado de Héctor Pérez (2022) (3).



1.2 Evolución del concepto multirresistencia

El concepto de bacteria multirresistente ha variado a lo largo de los años. Hace más de una década, se definía como bacteria resistente a aquella cepa que es resistente a una o más familias de antibióticos de uso habitual y que la resistencia generada supone una dificultad en el tratamiento, es decir, tiene relevancia clínica (4). Actualmente, cuando se habla de bacterias multirresistentes se refiere solo al hecho de que sean resistentes a una o más clases de antibióticos (4).

1.3 Problemas causados por la resistencia antimicrobiana

El hecho de que un microorganismo adquiera resistencia a los antimicrobianos genera grandes problemas, sobre todo relacionados con infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), pues conlleva un mayor riesgo en el fracaso del tratamiento, se retrasan las terapias, disminuyen las opciones de tratamiento, los pacientes tardan más en recuperarse, ocurren más efectos adversos, mayores costos en salud y mayor mortalidad, entre los más importantes (5).

1.4 Antibióticos y sus desventajas

Para poder combatir las infecciones causadas por las bacterias se utilizan los antibióticos, los cuales actúan de diversas formas, ya sea inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana o síntesis proteica, alterando la membrana citoplasmática y el metabolismo o estructura de los ácidos nucleicos, bloqueando la síntesis de los factores metabólicos e inhibiendo las betalactamasas (6). Sin embargo, este tipo de medicamentos, además, de ser cada día menos efectivos, también han reportado una serie de reacciones adversas. A modo de ejemplo, se ha descrito que los antibióticos betalactámicos producen los siguientes efectos secundarios: convulsiones, alucinaciones y movimientos anormales, entre los más relevantes (7). La literatura también ha mencionado que los antibióticos pueden provocar disbiosis microbiana, causar alteraciones de la microbiota intestinal en recién nacidos y contribuir a enfermedades como la diabetes, obesidad, depresión y autismo, entre las patologías más relevantes (8).

1.5 Bacterias multirresistentes

Los microorganismos que generalmente son declarados como multirresistentes por la Organización Mundial de la Salud (OMS) son: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* resistente a vancomicina, bacterias que producen betalactamasas de espectro extendido (BLEE), Enterobacterias resistentes a carbapenémicos, y *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos, entre los más importantes (9).

1.6 Conceptos importantes

Algunos conceptos de importancia para comprender esta revisión son los siguientes:

- Concentración mínima inhibitoria (CMI) se define como la menor concentración del antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento bacteriano después de 18 a 24 horas de incubación con un inóculo estándar de 10^5 UFC/ml (10).
- Sinergismo es cuando la actividad de dos antimicrobianos en conjunto es mayor a la actividad individual.
- Antagonismo se refiere a que el efecto de los dos medicamentos juntos es significativamente menor que cuando actúa cada uno por separado.
- Indiferencia expresa que la actividad antimicrobiana de los fármacos utilizados en conjunto no es diferente al efecto que tiene el antimicrobiano de mayor actividad cuando actúa de manera independiente (11).

1.7 Mecanismos de combate de la multirresistencia en la actualidad

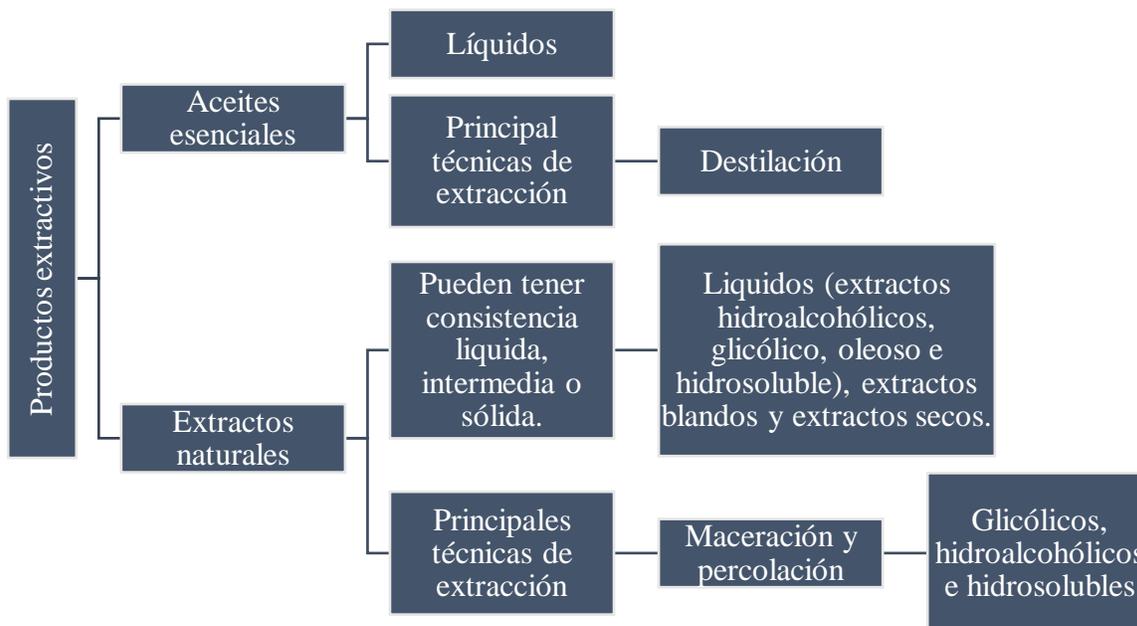
Actualmente, para poder combatir a los microorganismos multirresistentes se trabaja en nuevos tratamientos antiinfecciosos, también, en el uso combinado de los antimicrobianos existentes (12), en la realización de una correcta vigilancia para prevenir la propagación de microorganismos resistentes. Junto a esto, es importante que los centros de salud tengan una mayor capacidad de respuesta epidemiológica para poder controlar y contener la diseminación de una bacteria multirresistente (13). Una de las alternativas terapéuticas más prometedoras relacionadas con el freno de la resistencia es el uso de extractos naturales y los aceites esenciales. Estos han demostrado ser buenas fuentes de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas (14).

Los aceites esenciales son líquidos aromáticos, volátiles que se obtienen a partir de material vegetal. Son compuestos químicamente puros en condiciones normales. Los métodos más tradicionales y comúnmente utilizados para su obtención son aquellos que se basan en la destilación de agua y vapor, cada una por si sola o en combinación. Otros métodos utilizados son la cohobación (la que se usa cuando la solubilidad de un aceite esencial en agua es alta), la maceración y el enflorado. La maceración es útil cuando el rendimiento de la destilación es bajo y el enflorado sirve cuando los materiales son costosos, delicados y térmicamente inestables (15).

En cuanto a los extractos naturales, se puede decir que son preparados concentrados de consistencia líquida, sólida o intermedia obtenidos, generalmente, a partir de materia vegetal desecada. Las técnicas por las cuales se producen son la percolación y la maceración. Los extractos pueden clasificarse según su consistencia en extractos fluidos y tinturas, si su consistencia es líquida (16), son extractos blandos si su consistencia es semisólida y si es sólida, se trata de extractos secos. También pueden clasificarse según el medio en el que ocurre la maceración, existiendo, de ese modo, los extractos glicólicos (propilenglicol), hidroalcohólicos (tinturas), oleosos (aceite vegetal) e hidrosolubles (glicerina y agua). Las tinturas son los preparados que se obtienen por extracción en frío con solventes a partir de

una droga seca, siendo las más usadas las hidroalcohólicas. Toda la información anteriormente descrita se puede ver en la figura 2.

Figura 2. Productos extractivos y algunas de sus características. Tomado y adaptado de Encarna Castillo (2022) (16).



Con base en lo anterior, es importante recopilar información y comparar la concentración mínima inhibitoria de los extractos o aceites esenciales estudiados y también comparar la información existente de un determinado compuesto natural en el transcurso de los años. Adicionalmente, es relevante analizar si se ha descrito el mecanismo de acción que tienen estos aceites o extractos y frente a que bacterias multirresistentes son efectivos.

En torno a la temática propuesta, existen diferentes estudios como los que se presentan a continuación:

2. AGENTES ANTIMICROBIANOS DE ORIGEN NATURAL

2.1 Estudio de la actividad antibacteriana de *Psidium guajava*

Los primeros antimicrobianos de origen natural a mencionar corresponden a los detectados a partir del género *Psidium*, especie *P. guajava* más conocida como guayaba. La guayaba es un fruto que se da ampliamente en las zonas tropicales, siendo muy cultivado, principalmente, en México, Colombia, Brasil y España (17). La amplitud de zonas de cultivo es de suma relevancia, ya que lo ideal es que los recursos a utilizar para la generación de posibles terapias alternativas surgidas de extractos, aceites esenciales o productos naturales en general, no sean escasos o difíciles de obtener. Lo anterior, asegura la disponibilidad de la materia prima a largo plazo.

Algunos estudios reportan actividad antibacteriana de extractos de guayaba frente a especies de *Staphylococcus aureus*, *Alcaligenes faecalis*, *Escherichia coli* y géneros como *Bacillus* y *Salmonella* (18). Según esto, la guayaba podría tener acción sobre las bacterias multiresistentes definidas por la OMS en el año 2017 (19). En este sentido, investigaciones en las que se usa la guayaba como aceite esencial o extracto natural frente a cepas de *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido, *S. aureus* resistente a la meticilina y cepas de *Salmonella* resistente a las fluoroquinolonas, podrían ser muy útiles para lograr avances científicos relacionados con la multiresistencia antimicrobiana.

Uno de los estudios más destacables publicados recientemente se basa en la actividad antimicrobiana de un aceite esencial de hojas de guayaba adherido a nanopartículas de quitosano contra una cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente a múltiples fármacos (20). Lo interesante de este estudio es que las hojas de guayaba pasaron por un proceso de nanoencapsulación. Dicho proceso protege la vida útil del producto, mejora su estabilidad y además permite la liberación controlada de los compuestos activos; en este caso para la encapsulación se utilizó el quitosano, que es un biopolímero que mejora la naturaleza del

fármaco, puesto que es biodegradable, biocompatible, presenta actividad antibacteriana, es antioxidante y antibiofilm (21).

Es sabido que los aceites esenciales tienen una serie de compuestos activos con actividad antibacteriana como los compuestos polifenólicos, flavonoides y los taninos (22), Respecto de esto, en el experimento anteriormente descrito, la detección de este tipo de compuestos se ejecutó mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HRLC-MS). Los resultados obtenidos en este estudio indicaron que la capacidad antimicrobiana del aceite esencial radicaba en los compuestos bioactivos y los compuestos fitoquímicos presentes. Otras investigaciones han documentado que los terpenoides han demostrado ser capaces de potenciar el efecto de los antimicrobianos convencionales (23), lo cual fue verificado en otro estudio en el cual se indicó la existencia de terpenoides y flavonoides en un extracto de guayaba, particularmente, *P. guajava* (18).

En el mismo estudio de nano encapsulación se realizó un análisis de la capacidad antibacteriana por medio de la espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FT- IR) y fue confirmada por medio del método de difusión en pocillos de agar. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto fue de 100 ug/ml, la cual logró un porcentaje de inhibición del 96%. Respecto a la actividad microbiana del aceite esencial se observó una zona de inhibición de 22 mm contra *Klebsiella pneumoniae* resistente a múltiples fármacos a una concentración de 70 ug/ml (Fig. 1) (20), esta información relevante se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Actividad antimicrobiana de un aceite esencial de hojas de *Psidium* (guayaba) frente a *K. pneumoniae* multirresistente. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Antimicrobiano natural	CMI	Zona de inhibición	Bacteria multirresistente
Aceite esencial de hojas de guayaba	100 ug/ml	>22 mm	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

CMI: concentración mínima inhibitoria del aceite esencial con la respectiva zona de inhibición que presentó frente a una determinada bacteria multirresistente.

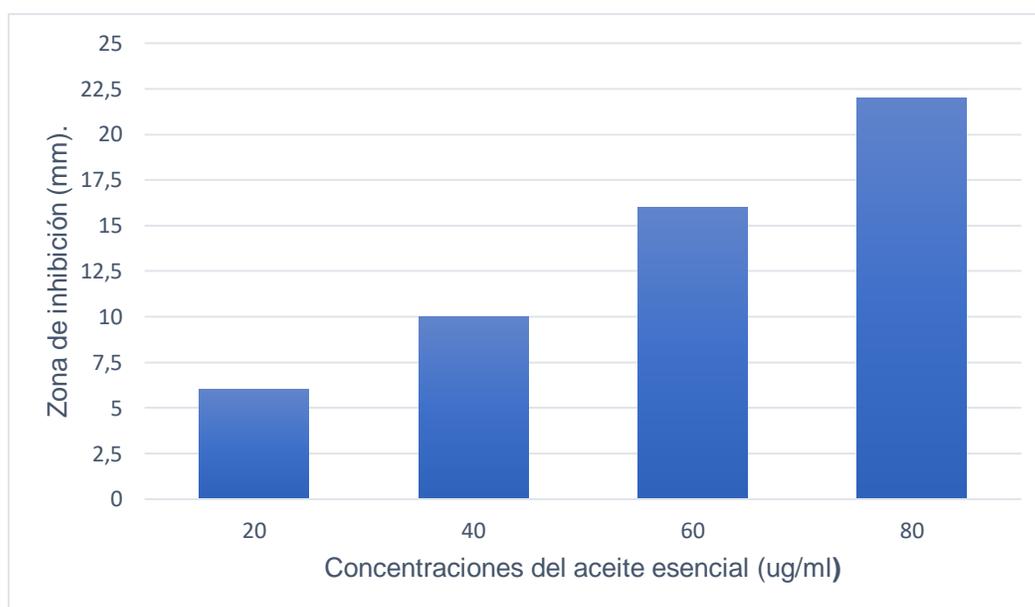


Fig. 3 Actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Psidium* (guayaba) contra *K. pneumoniae* multirresistente. Representación de la zona de inhibición del aceite esencial a diferentes concentraciones. Tomado y adaptado de Feng Zhang ^a y G. Ramachandran (2020) (20).

La información respecto a los extractos o aceites esenciales hechos a partir de hojas de guayaba es controversial, algunos estudios afirman que la actividad antibacteriana de la guayaba es alta contra bacterias Gram positivo y moderada contra bacterias Gram negativo (17). Otras investigaciones han reportado que los extractos de este antimicrobiano natural no presentaron actividad frente a ninguna de las bacterias Gram negativo analizadas (18). Lo cual es controversial dados los resultados del estudio descrito anteriormente puesto que en él se presentó actividad antimicrobiana frente a una bacteria Gram negativo multirresistente, específicamente *K. pneumoniae*. Por ello es importante la realización de más estudios que demuestren si la eficacia de este antimicrobiano es alterada por determinados factores.

2.2 Estudio de la actividad antimicrobiana de *Allium sativum*

Otro recurso natural es *Allium sativum* (nombre común: ajo), el cual corresponde a una especie herbácea aromática perteneciente a la familia *Amaryllidaceae* (24), la cual es muy utilizada debido a su sabor, olor y a sus propiedades terapéuticas.

Estudios realizados reportan una muy buena actividad antimicrobiana frente a especies como *Escherichia coli*, *Pseudomonas pyocyaneus*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, entre otros (25). Por lo tanto, al igual que los antimicrobianos naturales surgidos de guayaba, los fabricados a partir de ajo podrían ser una alternativa frente a los patógenos que son prioridad para la creación de nuevas alternativas terapéuticas.

Entre los estudios que destacan teniendo a *Allium* sp como productor de actividad antimicrobiana, se reporta una investigación en la cual se analizó las propiedades antibacterianas de un extracto de ajo frente a bacterias multirresistentes y su sinergia con antibióticos de uso corriente (26). En esta investigación, para el cultivo del ajo no se usaron herbicidas, tampoco se aplicaron fungicidas ni agentes químicos y para el control de malezas se utilizaron métodos manuales. Mediante este estudio se buscó evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de ajo frente a bacterias multirresistentes emergentes que suelen encontrarse en entornos sanitarios, para ello se usaron las siguientes bacterias: *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina y con un alto nivel de resistencia a aminoglucósidos (RAN), *Escherichia coli* productora de metalo- β -lactamasa (MBL), *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) y *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) (26).

Se visualizó la sinergia del extracto con determinados antibióticos; se usó un disco de gentamicina (30 ug/ml) como antibiótico de referencia contra las especies bacterianas, ya que estas eran sensibles a gentamicina, recordando que este antimicrobiano es un aminoglucósido, y que su mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis de proteínas (10).

Para las pruebas de susceptibilidad se utilizó el método de dilución en caldo; el extracto mostró una actividad antibacteriana significativamente más eficaz que el antibiótico gentamicina contra *E. faecalis*. No hubo diferencias significativas entre la actividad antimicrobiana del extracto de ajo y del antibiótico de control en *K. pneumoniae* y *E. coli*. Sin embargo, sí hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el extracto y la gentamicina frente a *S. aureus* MRS, donde se pudo visualizar menos susceptibilidad a los efectos bactericidas del extracto de ajo (26), lo cual puede evidenciarse en la figura 4.

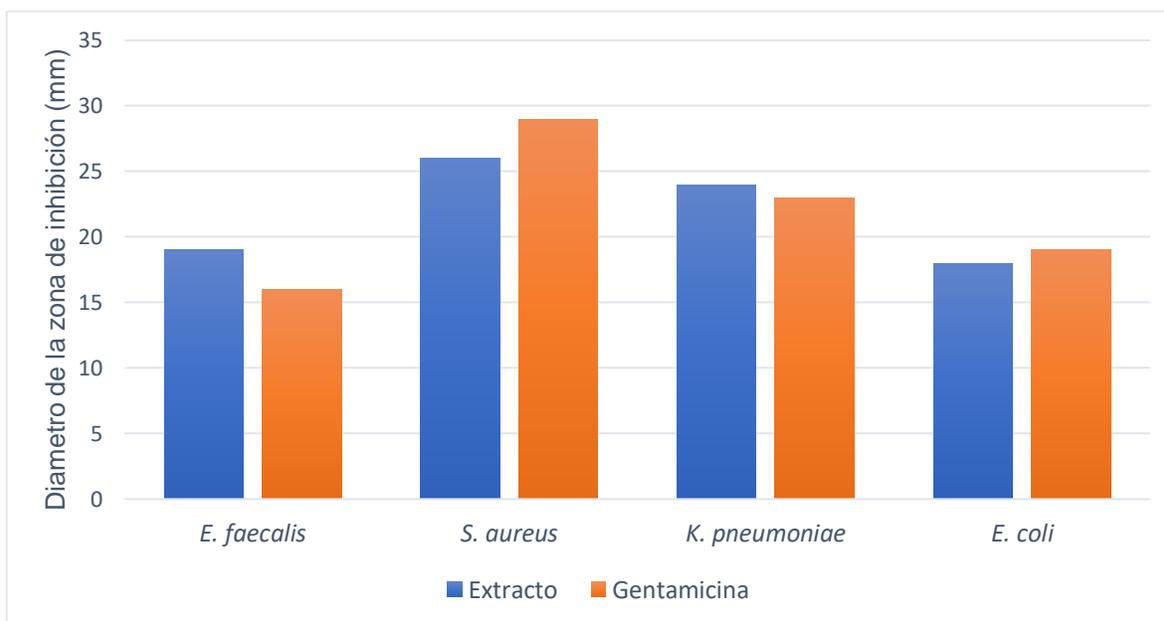


Fig. 4. Zona de inhibición del extracto de *A. sativum* y del antibiótico gentamicina frente a diferentes bacterias multirresistentes. Representación de las zonas de inhibición del extracto de ajo fresco y gentamicina (control +) para las cepas bacterianas *E. faecalis* resistente a vancomicina con un alto nivel de resistencia a aminoglucósidos. *E. coli* productora de metalo- β -lactamasa. *S. aureus* resistente a la meticilina y *K. pneumoniae* productora de β -lactamasa de espectro extendido. Tomado y adaptado de Magrýs, A., y Olender (2022) (26).

En esa misma investigación se realizó la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) y de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de diferentes cepas bacterianas. Así, *E. faecalis* tuvo una CMI de 50 mg/ml. La concentración mínima inhibitoria de SARM, de *K. pneumoniae* productora de β -lactamasa de espectro extendido y de *E. coli* MBL fue de 6,25 mg/ml; esta información se puede encontrar en la Tabla 2. Por otro lado, la concentración mínima bactericida fue de 12,5 mg/ml para *K. pneumoniae* productora BLEE y para *E. coli* MBL y de 50 mg/ml para la cepa de *S. aureus* (26).

Tabla 2. Actividad antimicrobiana de extractos naturales de *A. sativum* frente a bacterias multirresistentes. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Antimicrobiano natural	CMI	Zona de inhibición	Bacteria multirresistente
Extracto de ajo	50 mg/ml	19 mm	<i>ERV + RAN.</i>
	6,25 mg/ml	24 mm	<i>Klebsiella pneumoniae</i> BLEE
	6,25 mg/ml	18 mm	<i>Escherichia coli</i> MBL
	6,25 mg/ml	27 mm	<i>SARM</i>

CMI: concentración mínima inhibitoria de cada extracto natural con la respectiva zona de inhibición obtenida frente a diversas bacterias multirresistentes. EVR: *Enterococcus* resistente a vancomicina. RAN: resistencia de alto nivel a aminoglucósidos. SARM: *S. aureus* resistente a meticilina. MBL: productora de metalo- β -lactamasa. BLEE: productora de β -lactamasa de espectro extendido.

En esta publicación además se determinó la interacción que tenía el extracto de ajo fresco con los fármacos antimicrobianos gentamicina y ciprofloxacina por medio del método del tablero de ajedrez, el cual valora la actividad in vitro de dos o tres antimicrobianos. Esto permite determinar si la combinación es más activa que la de los dos antimicrobianos cuando se administran por separado (27). La combinación del extracto con gentamicina mostró una actividad mejorada en *S. aureus* y *K. pneumoniae* resistentes a múltiples fármacos, la misma combinación dio un efecto antagonista para *E. coli* MBL. Por su parte, la combinación de estos compuestos presentó un resultado de indiferencia frente a *E. faecalis*. La combinación de ciprofloxacina con el extracto de ajo tuvo una actividad antagonista frente a *E. faecalis*, una actividad indiferente contra *S. aureus* y contra *E. coli*, puesto que la combinación no

produjo un aumento en la actividad inhibitoria o el aumento fue ligero. Por último, al mezclar el antimicrobiano con el extracto se originó una interacción sinérgica frente a *K. pneumoniae* (26).

Con relación a la actividad antibacteriana, se conoce que la alicina es uno de los principales compuestos de *A. sativum* que inhibe de manera significativa a algunos agentes infecciosos. La alicina es un tioéster del ácido sulfénico, que presenta actividad antioxidante y además puede interaccionar con proteínas que contienen tiol (24).

No se conoce con claridad el mecanismo de acción antibacteriano que tiene la alicina, sin embargo, hay estudios que avalan que este compuesto erradicó significativamente la biopelícula de *S. aureus* (28). Asimismo, se propone que la alicina reacciona con enzimas que contienen cisteína, lo cual genera la oxidación e inhibición enzimática. El carácter lipofílico de esta sustancia genera cambios en la estructura e integridad de las membranas de los fosfolípidos microbianos, lo cual explica la fuga de contenido celular (29). Como este compuesto no se dirige a una proteína específica en la célula bacteriana se cree que el mecanismo de resistencia asociado a la modificación del sitio diana no debiese ocurrir. También es relevante mencionar que el hecho de que la alicina penetra fácilmente la pared de células Gram positivo pudo haber influido en la susceptibilidad del extracto contra *S. aureus* resistente a múltiples fármacos.

Además, un estudio reciente reveló que la alicina conduce a la fragmentación del peptidoglicano en *S. aureus*, que se propone es causado por la S-tioalilación de la síntesis de la pared celular y enzimas hidrolíticas (30). La tioalilación corresponde a la unión de un ácido alil-sulfénico al tiol de la cisteína 118, lo cual conduce la activación de la oncoproteína p21ras y a la estimulación de la fosforilación de ERK1/2 (31).

De este estudio también es importante destacar el análisis de la interacción entre el extracto y algún antibiótico de uso común, puesto que si la combinación mejora la actividad antimicrobiana se puede, de manera inicial, empezar a probar los antimicrobianos naturales en conjunto con los ya utilizados y de uso común. Esto puede contribuir a introducir esta alternativa terapéutica. Asimismo, en investigaciones posteriores podría ser importante buscar formas para que la alicina no pierda sus propiedades de manera rápida y ver si su consumo como antimicrobiano podría generar alguna reacción adversa, de tal forma que se busque la mayor seguridad para las personas.

Indagando en la literatura más reciente, estudios sobre antimicrobianos naturales hechos a partir de ajo confirman la gran efectividad que presenta esta especie frente a diversas bacterias. Así, se reporta la actividad antimicrobiana de un extracto de *A. sativum* frente a patógenos clínicos multirresistentes, entre los cuales se encontraba *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. También, en esta investigación se hizo un análisis para determinar la sensibilidad de los antibióticos según el método de difusión en disco, lo que permite analizar y determinar el tipo de resistencia que presentan las cepas analizadas, los resultados del patrón de sensibilidad se observan a continuación en la Tabla 3 (32).

En esta investigación también se hizo un análisis de la producción de biopelículas por parte de las cepas bacterianas: *S. aureus* produjo una alta cantidad de esta estructura. La actividad antimicrobiana del extracto fue analizada a través de la técnica de difusión en pocillos. Los extractos tenían diferentes concentraciones y se prepararon agregando agua destilada y agua peptonada. Los resultados pueden visualizarse en la Tabla 4 y Tabla 5 respectivamente (32).

Tabla 3. Patrón de sensibilidad antibacteriano de los aislados clínicos multirresistentes.

Tomado y adaptado de Ambreen Rafique (2022) (32).

Antibiótico	Zona de inhibición según especie		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Eritromicina	N/D	R	14 mm
Ampicilina	24 mm	R	15 mm
Piperacilina	28 mm	19 mm	21 mm
Azitromicina	17 mm	N/D	11 mm
Levofloxacina	26 mm	R	22 mm
Cefoxitina	N/A	11	11 mm
Vancomicina	15 mm	N/A	N/A
Ciprofloxacina	30 mm	N/A	N/A
Ceftriaxona	N/D	R	N/A

N/D: no disponible. R: resistente.

Tabla 4. Actividad antibacteriana de un extracto de *A. sativum* con agua destilada frente a aislados clínicos multirresistentes. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Extracto de <i>A. sativum</i> dilución en agua destilada	<i>Cepas bacterianas multirresistentes</i>		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
25%	10 mm	29,57 mm	27 mm
50%	12 mm	31 mm	30 mm
75%	14 mm	32 mm	32,55 mm
100%	15 mm	35 mm	37 mm

Tabla 5. Actividad antibacteriana de un extracto de *A. sativum* con agua peptonada frente a aislados clínicos multirresistentes. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Extracto de <i>A. sativum</i> dilución en agua peptonada	<i>Cepas bacterianas multirresistentes</i>		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
25%	8 mm	24 mm	23 mm
50%	12 mm	25 mm	24 mm
75%	14 mm	26 mm	26 mm
100%	16 mm	34 mm	30 mm

Cabe destacar que el extracto produjo una mayor actividad antibacteriana en su forma pura.

Ante los resultados presentados en la tabla 4 y 5, se corrobora la efectividad de los antimicrobianos hechos a partir de extractos de ajo, obteniendo halos de inhibición similares a los del primer estudio para *E. coli*, pues en el primer estudio se generó un halo de 18 mm y en este último uno de 15 o 16 mm. En cuanto a *S. aureus* hay una diferencia de 6 o 7 mm en el halo de inhibición, lo cual puede deberse a la forma en la que se confeccionó el extracto o a la cepa frente a la cual se enfrentó el antimicrobiano (32). También cabe mencionar que al menos en este estudio los resultados fueron más prometedores para los extractos en los que se utilizó agua destilada, respecto a los que usaron agua peptonada.

2.3 Estudio de la actividad antibacteriana de líquenes.

Los líquenes son asociaciones simbióticas que se establecen entre los hongos y determinados grupos de cianobacterias o algas verdes unicelulares (33). A lo largo de los años, han sido utilizados en la medicina para tratar dolencias e infecciones en forma de extractos crudos o como compuestos puros aislados. Por lo tanto, ante la necesidad de buscar nuevas fuentes prometedoras de antimicrobianos diversos científicos han analizado la actividad antimicrobiana de los líquenes frente a diversas bacterias.

Entre los estudios que sobresalen esta uno en el cual se investigó las propiedades antibacterianas de extractos metanólicos de seis líquenes recolectados del monte Camerún, estos corresponden a *Usnea articulata*, *Usnea florida*, *Leptigium gelatinisum*, *Physcia parietina*, *Ramalina sinensis* y *Xanthoparmelia plitti* (34).

Investigaciones han reportado que el extracto de *Usnea subfloridiana* con cloroformo ha presentado actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, pero no contra *Enterococcus faecalis* y *S. aureus* (35). Sin embargo, es importante mencionar que existe una gran variedad de especies de líquenes, lo que significa un amplio repertorio para realizar investigaciones en el ámbito de su acción como antimicrobianos. A modo de ejemplo, se reporta el aislamiento del ácido divaricático a partir del liquen *Evernia mesomorpha*. Este ácido es activo contra bacterias Gram positivo, como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecium*. Adicionalmente, es igual de eficaz que la vancomicina contra *S. aureus* resistente a meticilina (36).

La atranorina, el ácido salazínico, el ácido lecanórico y el ácido úsnico son constituyentes activos bien conocidos aislados de líquenes y se informa que poseen fuertes actividades biológicas tales como actividades antibacterianas, antifúngicas, antitumorales y antioxidantes (37).

Los líquenes de la investigación anteriormente mencionada pasaron por una serie de procedimientos los cuales permitieron la obtención de extractos crudos, asimismo se realizaron pruebas fitoquímicas para poder detectar metabolitos secundarios. La importancia del estudio de estos metabolitos radica en que son la base material de los efectos clínicamente curativos de las plantas y líquenes usados en la medicina (38).

En el estudio anterior, para analizar la susceptibilidad antibacteriana se utilizó el método de Kirby Bauer, donde se incrustaron 12 antibióticos de referencia (amikacina, gentamicina, ceftriaxona, cefuroxima, cefotaxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, norfloxacina, imipenem, nitrofurantoina, tetraciclinas, trimetoprima). Por otra parte, para medir la actividad antimicrobiana se prepararon diferentes soluciones del extracto. Como se dijo anteriormente se usó un disco de gentamicina como control positivo y de dimetilsulfoxido como control negativo puesto que no tiene actividad antimicrobiana. Es importante mencionar que los experimentos se hicieron por duplicado. En este artículo la concentración mínima inhibitoria fue definida como la concentración más baja que mostró más del 50% de inhibición del crecimiento bacteriano (34). También, es importante destacar que en esta investigación se añadieron pruebas de citotoxicidad y pruebas para detectar grupos funcionales específicos en los extractos, en estas pruebas los resultados más relevantes fueron los siguientes:

U. articulata es rica en alcaloides, flavonoides, terpenoides y esteroides. *U. florida* presenta gran cantidad de saponinas y esteroides. Por su parte *X. plitti* es rica en saponinas y terpenoides. Los fitoquímicos de *R. sinensis*, *L. gelatinisum* y *P. parietina* no se visualizaron por rendimiento insuficiente. Respecto a la citotoxicidad *L. gelatinisum* y *X. plitti* tenían los valores de CC50 más altos, por ende, eran menos citotóxicos (34).

Otro punto por el cual esta investigación sobresale es que para el ensayo se usaron dieciséis cepas bacterianas de las cuales seis fueron usadas como control y 10 eran aislados clínicos, dentro de esas cepas, nueve eran resistentes a múltiples fármacos, siendo *Providencia rettgeri* la más resistente, ya que presentó resistencia ante ceftriaxona,

cefuroxima, cefotaxima, cloranfenicol, imipenem, nitrofurantoina, tetraciclinas y trimetoprima. Luego le siguen *Proteus vulgaris* y *Salmonella typhi*, estas bacterias son resistente a 5 clases de antimicrobianos; Por otro lado, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* presentan mecanismos de resistencia ante 4 clases de antibióticos. *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter youngae* y *Salmonella sp* tuvieron resistencia frente a solo 3 clases de antibióticos. Para la elección de estos microorganismos se realizaron ensayos de microdilución y de difusión en disco (34).

En general la concentración mínima de los extractos varió de 4 mg/dl a 10 mg/dl, obteniéndose los siguientes resultados:

Frente a *E. coli* se obtuvo una concentración mínima inhibitoria de 4 mg/dl por parte de *P. parietina*, de 6 mg/dl por *U. articulata*, de 8 mg/dl por *U. florida* y de 10 mg/dl *X. plitti*. Contra *C. freundii* el extracto de *U. florida* tuvo una CMI de 5 mg/dl y *U. articulata* de 7 mg/dl; contra *C. youngae* se presentó una CMI de 4 mg/dl frente a *U. articulata* y de 6 mg/dl ante *U. florida*, para las otras especies de líquenes no se realizó la determinación de la concentración mínima inhibitoria frente a estas bacterias, puesto que hubo una inhibición menor al 50%. Frente a *P. mirabilis* se obtuvo una CMI de 7 y 9 mg/dl frente a *U. articulata* y a *U. florida* respectivamente, tanto *R. sinensis* y *P. parietina* presentaron una CMI de 8 mg/dl ante *P. rettgeri* y *X. plitti* frente a esta misma especie tuvo una CMI de 7 mg/dl (34).

U. articulata y *U. florida* presentaron una concentración mínima inhibitoria de 8 mg/dl y de 10 mg/dl respectivamente ante *S. typhi*. No se pudo determinar la concentración mínima inhibitoria para *L. gelatinisum* (34). Todos estos resultados fueron expresados en la Tabla 7, sin hacer distinción entre las especies.

Adicionalmente, se realizó la determinación de las zonas de inhibición de diferentes antimicrobianos, entre los cuales se encontraban diferentes especies de líquenes y antibióticos de uso común, estos resultados fueron expresados en la Tabla 6.

Entonces, en la tabla 6 se expresan todos los resultados de la zona de inhibición diferenciándolo por especies de líquenes y por antibióticos y en la Tabla 7 se expresan los rangos en los que varía la zona de inhibición y la concentración mínima inhibitoria.

Tabla 6. Actividad antimicrobiana de extractos de líquenes y antibióticos frente a bacterias Gram positivo y Gram negativo. Tomado y adaptado de Bate, P y Orock (2020) (34).

	Especies	Extractos de líquenes						Antibióticos		
		UA	UF	RS	LG	PP	XP	GN	TE	C
	Zona de inhibición (mm)									
	<i>E. cloacae</i>	24	25	17				27	16	ND
	<i>E. coli</i>	19	27	18	9	10	12	22	ND	ND
	<i>C. freundii</i>	13	19	21		11	12	23	15	ND
	<i>C. youngae</i>	16	16	24				24	10	ND
	<i>P. mirabilis</i>	22	21	18		10	11	22	ND	ND
	<i>P. rettgeri</i>	19	23	22		11	10	21	ND	ND
	<i>P. vulgaris</i>	21	29	25	11			24	10	ND
	<i>S. typhi</i>	26	23	26		11		ND	ND	27
	<i>S. aureus</i>		30	ND		9	14	ND	ND	ND
Controles	<i>E. coli</i>	7		ND	ND	ND	ND	23	ND	ND
	<i>P. aeruginosa</i>	28	18	ND	ND	ND	ND	26	ND	ND
	<i>S. choleraesius</i>	9	12	ND	ND	ND	ND	20	ND	ND
	<i>S. enterica</i>			ND	ND	ND	ND	18	ND	ND
	<i>S. aureus</i>	29	25	22	ND	ND	ND	29	ND	ND
	<i>S. epidermidis</i>			ND	ND	ND	ND	21	ND	ND

Descripción de abreviaturas, UA = *Usnea articulata*, UF = *Usnea florida*, RS = *Ramalina sinensis*, LG = *Leptogium gelatinisum*, PP = *Physcia parietina*, XP = *Xanthoparmelia plitti*, GN = Gentamicina, TE = Tetraciclina, C= Cloranfenicol, ND = no realizado.

Tabla 7. Actividad antimicrobiana de extractos de líquenes frente a bacterias multirresistentes. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Antimicrobiano natural	CMI	Zona de inhibición	Bacteria multirresistente
Extractos de Líquenes**	4 mg/dl – 10 mg/dl	9 – 27 mm	<i>Escherichia coli</i>
	5 mg/dl - 7 mg/dl	12 – 23 mm	<i>Citrobacter freundii.</i>
	4 mg/dl - 6 mg/dl	10 – 24 mm	<i>Citrobacter youngae</i>
	7 mg/dl - 9 mg/dl	10 – 22 mm	<i>Proteus mirabilis</i>
	7 mg/dl - 8 mg/dl	10 – 23 mm	<i>Providencia rettgeri</i>
	8 mg/dl - 10 mg/dl	11 – 27 mm	<i>Salmonella typhi</i>

CMI: concentración mínima inhibitoria de cada extracto natural con la respectiva zona de inhibición obtenida frente a diversas bacterias multirresistentes. **La CMI y la zona de inhibición depende de la especie de extracto utilizada.

Por lo tanto, frente a estos resultados se puede concluir que extractos crudos y acuosos hechos a partir de líquenes, pueden ser efectivos contra bacterias multirresistentes.

2.4 Actividad antimicrobiana de *Solanum nigrum*

Se puede obtener un aceite esencial a partir de *Solanum nigrum* (también conocida como hierba mora negra), que corresponde a una planta herbácea perteneciente a la familia de las solanáceas, la cual ha sido ampliamente utilizada para tratar síntomas y enfermedades en muchos países, como, por ejemplo, para el tratamiento de tiña, quemaduras e infecciones dérmicas (39).

En la literatura se observaron distintos estudios entre los cuales destacó una investigación en la que se determinó actividad anti-biofilm del aceite esencial de *Solanum nigrum* (hierba mora negra) frente a *Proteus mirabilis* resistente a múltiples fármacos (40). Para poder obtener el aceite de la planta, se realizó un proceso de hidrodestilación, luego por medio de cromatografía líquida con espectrometría de masas se observó los componentes que poseía la planta, mediante este método se visualizaron aceites esenciales, proteínas, aminoácidos, hormonas del crecimiento; la cromatografía indicó que existía una alta cantidad de terpenos, adicionalmente, este estudio demostró que los aceites de *S. nigrum* contienen una suma importante de derivados antimicrobianos (40).

En cuanto a la medición de la actividad antimicrobiana, se determinó por medio del método de difusión en pocillos de agar frente a una cepa de *P. mirabilis*, los científicos que llevaron a cabo la investigación eligieron esta bacteria, debido a que corresponde al segundo microorganismo que más suele causar infecciones urinarias. Por otra parte, para corroborar que presentaba una biopelícula que ejercía un efecto de resistencia a múltiples fármacos, se colocó un disco antibiótico de ceftazidima en la superficie del agar y agua destilada como control negativo (40).

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria se colocaron diferentes concentraciones del aceite esencial las cuales fluctuaban desde 10 ug/ml a 100 ug/ml. Se determinó que a 200 ug/ml se logra inhibir la biopelícula, por ende, también corresponde a la concentración de inhibición del biofilm (40).

En esta investigación además se evaluó como se modificaban las sustancias exopoliméricas (EPS) al adicionar el aceite esencial de *S. nigrum*. Recordando que las sustancias exopoliméricas son componentes estructurales de la matriz extracelular en la que se incrustan células durante el desarrollo de una biopelícula (41).

Los resultados obtenidos en este estudio fueron que tras la administración del producto antimicrobiano (250 ug/ml) la degradación de esta sustancia fue del 94%. En cuanto al mecanismo de acción, lo que sucede es que el aceite penetra la bacteria a través de la pared celular, dañando fimbrias, flagelos, proteínas, organelos intracelulares, incluso genera daños a nivel del DNA y de los ácidos nucleicos (40).

El método de detección de las EPS fue validado por el método de Agar Rojo Congo (ARC), que corresponde a un ensayo cualitativo para controlar el potencial de un microorganismo para formar una biopelícula cuando se cultiva en una placa de ARC (42). El uso de microscopio confocal con láser de barrido permitió ver la mortalidad celular de las células que fueron tratadas con el aceite y las que no.

La biopelícula de *P. mirabilis* tratada con el aceite esencial mostró una zona de inhibición de 32 mm cuando la concentración era de 100 ug/ml. Por su parte, el extracto crudo generó una zona de inhibición de 16 mm (Tabla 8).

Tabla 8. Actividad antibacteriana de *S. nigrum* frente a una bacteria multirresistente.

Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Antimicrobiano natural	CMI	Zona de inhibición	Bacteria multirresistente
Aceite esencial de hierba mora negra	100 ug/ml	32 mm	<i>Proteus mirabilis</i>
Extracto natural de hierba mora negra	200 ug/ml	16 mm*	<i>Proteus mirabilis</i>

CMI: concentración mínima inhibitoria de cada antimicrobiano, con la respectiva zona de inhibición que presentaron frente a diversas bacterias multirresistentes. *El diámetro obtenido es a una concentración diferente a la CMI.

Por lo tanto, al compararlo con los controles se deduce que el antimicrobiano natural es efectivo contra la formación de biopelículas generada por esta bacteria; como se mencionó anteriormente el disco de ceftazidima permitió demostrar que se trataba de una bacteria multirresistente, puesto que no se visualiza un halo de inhibición (Fig. 5).

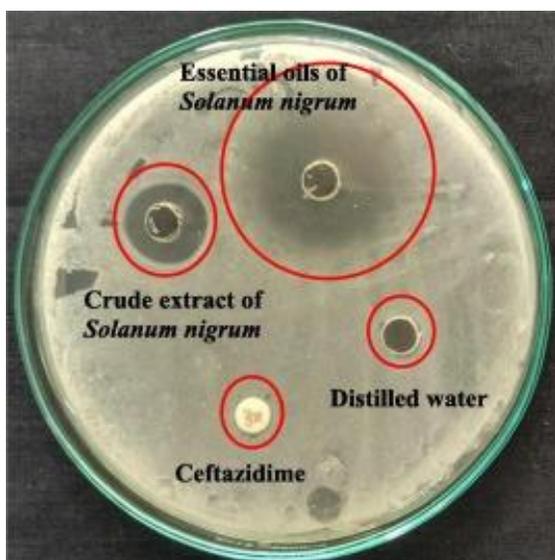


Figura 5. Actividad microbiana de diferentes antimicrobianos frente a *P. mirabilis* multirresistente. Representación de la zona de inhibición de ceftazidima, agua destilada, del extracto crudo y del aceite esencial de *Solanum nigrum* frente a una cepa multirresistente. DOI: [10.1016 / j.sjbs.2020.10.003](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.003)

La tasa de desactivación de la supervivencia significa que la bacteria pierde sus mecanismos de virulencia como la producción de enzimas, de quorum sensing, formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), entre otros. La tasa de desactivación de la bacteria al ser tratada con el aceite esencial (200 ug/ml) fue de un 92%, esto quiere decir, que se redujo la supervivencia de *P. mirabilis*.

Respecto a la mortalidad celular la cepa bacteriana mostró un aumento de la muerte celular al ser tratada con el aceite esencial a una concentración de 200 ug/ml. Otro resultado obtenido fue que las células tratadas con el antimicrobiano mostraron más daños morfológicos y de la pared celular al ser examinados por microscopio electrónico de barrido.

Por consiguiente, frente a estos sucesos se puede decir, que los resultados fueron concordantes en todo momento, demostrando que el aceite esencial de *S. nigrum* tiene un mecanismo antibiofilm, que puede ser prometedor para bacterias Gram negativo, particularmente para *P. mirabilis*, incluso si esta bacteria es multirresistente.

Otro artículo de investigación científica que reporta el efecto antibacteriano de *S. nigrum*, es uno en el cual se fabrican extractos a partir de la hierba mora. En este estudio se obtuvo un extracto hidroalcohólico por método de percolación (43), el cual corresponde a un procedimiento de extracción exhaustivo en el cual todos los constituyentes solubles se eliminan por completo de un material vegetal triturado, extrayendo el fármaco crudo con un disolvente nuevo (44). El otro extracto que se elaboró en este experimento fue un extracto acuoso mediante un sistema de reflujo.

Se evaluó el efecto antimicrobiano a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hierba mora mediante el método de difusión en pocillos de agar frente a patógenos que son comunes en las infecciones de heridas por quemadura como *S. aureus*, *P.*

aeruginosa y *A. baumannii*. Cabe mencionar que las especies recién mencionadas también suelen presentar mecanismos de resistencia que las hacen ser multirresistentes a los fármacos de uso común. En este estudio se usó una solución salina como control negativo y un disco de ciprofloxacino (20 ug/ml) como control positivo, obteniéndose los siguientes resultados; el extracto hidroalcohólico de hierba mora negra inhibe el crecimiento de *S. aureus* a concentraciones igual o superiores a 50 mg/ml. El extracto acuoso no presentó buena actividad antimicrobiana. Los extractos confeccionados al ser probados frente a cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* no mostraron buenos resultados, no obstante, estos resultados no descartan del todo que la hierba mora negra pueda usarse como antimicrobiano natural, pues se ha visto en otras investigaciones mejores efectos al fabricar aceites esenciales en vez de extractos naturales, de igual manera al ver los resultados obtenidos en la Tabla 9 se puede observar que respecto al ciprofloxacino el extracto no tuvo una actividad estadísticamente significativa, sin embargo, se recomiendan estudios complementarios que analicen la combinación de ambos antimicrobianos para ver si la combinación genera sinergia, de ese modo, podría ser útil en la práctica (43).

Tabla 9. Actividad antibacteriana de diversos antimicrobianos frente a una cepa de *S. aureus*. Tomado y adaptado de Parisa Rashidi Ashjerdi (2022) (43).

Antimicrobiano	Concentración	Cepa de <i>S. aureus</i> Halo de inhibición en mm
Ciprofloxacino	20 ug/ml	34,7 ± 0,3
Extracto hidroalcohólico de hierba mora negra	25 mg/ml	0.0
	40 mg/ml	0.0
	50 mg/ml	14 ± 0,6
	75 mg/ml	16,3 ± 1,2
	100 mg/ml	19,7 ± 0,3
Extracto acuoso de hierba mora negra	25 mg/ml	0.0
	40 mg/ml	0.0
	50 mg/ml	0.0
	75 mg/ml	0.0
	100 mg/ml	0.0

2.5 Estudio de la actividad antibacteriana de Cianobacterias

Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos que colonizan diversos entornos en todo el mundo, desde el océano hasta el agua dulce, los suelos y los entornos extremos. Adicionalmente, se sabe que sintetizan una diversidad de productos naturales y producen toxinas, no obstante, también producen una gran variedad de moléculas que exhiben propiedades beneficiosas (45). Entre las propiedades beneficiosas asociadas al ámbito de microbiología se encuentran las propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales. Por esta razón, una de las investigaciones más interesantes y nuevas es aquella en la cual se evaluó el potencial bioactivo de un extracto clorofórmico de la cianobacteria marina *Oxynema thaianum* ALU PBC5; el extracto concentrado extraído fue usado frente a patógenos Gram negativo multirresistentes, que correspondían específicamente a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (46).

Las cianobacterias aisladas y caracterizadas de ese estudio correspondieron a un total de ocho cepas de la especie *O. thaianum*, sin embargo, solo una de ellas logró la zona máxima de inhibición en los bioensayos. La cepa *Oxynema thaianum* ALU PBC5 fue seleccionada por su marcada actividad antimicrobiana, por el contrario, la cepa PBC8 generó una reducida o nula zona de inhibición, por lo cual se usó como control negativo.

El extracto de PBC5 mostró una zona efectiva de eliminación contra *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en el método de difusión por disco. Para la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto crudo se usó el método de difusión en agar (Tabla 10), pudiéndose visualizar las zonas de inhibición del extracto que mostró la mayor actividad antimicrobiana contra las cepas multirresistentes. Es trascendental mencionar que el hecho de que en la tabla anexa aparezca el extracto en conjunto con un disolvente orgánico, no quiere decir que la actividad antimicrobiana está siendo influenciada por la presencia de un solvente orgánico, ya que tras disolver el extracto en los solventes se utilizó un rotavapor a 40°C, lo que permitió la evaporación del solvente.

Tabla 10. Actividades antimicrobianas del extracto de *O. thaianum* ALU PBC5 y PBC8 frente a bacterias multirresistentes. Tomado y adaptado de N. Padmini (2022) (46).

Extracto/Disolvente orgánico	Diámetro de la zona de inhibición (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Extracto PBC5 /Cloroformo	17,0 ± 0,457	15,0 ± 0,33
Extracto PBC5 /Acetona	9,0 ± 0,67	6,0 ± 0,89
Extracto PBC5 /Diclorometano	13,0 ± 0,99	11,0 ± 0,44
Extracto PBC5 /Acetato de etilo	5,0 ± 0,21	4,0 ± 0,11
Extracto PBC8 /Cloroformo	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Extracto PBC8 /Acetona	1,0 ± 0,0	2,0 ± 0,44
Extracto PBC8 /Diclorometano	3,0 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Extracto PBC8 /Acetato de etilo	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

PBC5: cepa de cianobacteria que mostró buena actividad antimicrobiana. PCB8: control negativo.

Adicionalmente, con el fin de confirmar la actividad del extracto, se usó como control positivo un disco del antibiótico gentamicina, como control negativo se utilizó la cianobacteria PBC8 y como control de disolvente el cloroformo, lo cual se evidencia en la figura 6.

La concentración mínima inhibitoria se determinó mediante el método de microdilución utilizando caldo Mueller Hinton, obteniéndose un valor de 100 ug/ml, en esta investigación además se determinó la concentración mínima bactericida, la cual tuvo un valor de 150 ug/ml.

También se visualizaron las actividades biológicas del extracto, donde 11 compuestos fueron identificados, entre los cuales destacó el ácido eicosanoico, el éster metílico, el ácido trans-13-octadecenoico. Los lípidos y los ácidos grasos activos están presentes en una alta concentración en las cianobacterias, lo cual es importante puesto que son agentes antibacterianos prometedores que desestabilizan las membranas celulares bacterianas y provocan una amplia gama de efectos inhibidores directos e indirectos, específicamente lo que sucede es que la membrana de los ácidos grasos y de los monoglicéridos poseen un comportamiento lítico derivado de las propiedades anfipáticas, lo que lleva a conjuntos superpuestos de fenómenos biofísicos que incluyen la desestabilización de la membrana y la formación de poros; esto produce a su vez un aumento en la permeabilidad celular y la lisis celular, por ende, ejerce un efecto bacteriostático y bactericida (47).

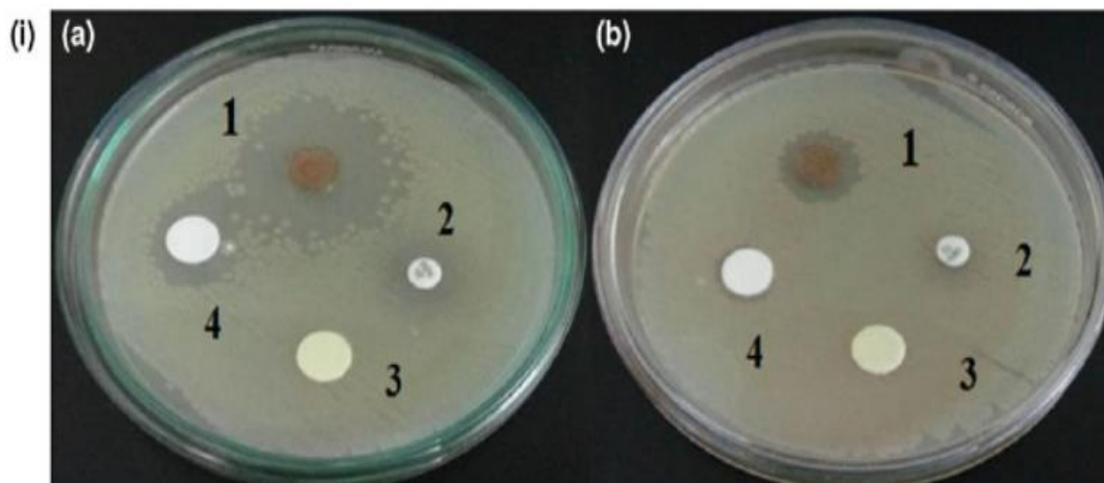


Figura 6. Actividad antimicrobiana de *O. thaianum* contra bacterias multirresistentes. Representación de la zona de inhibición del extracto frente a *E. coli* (a) y *K. pneumoniae* (b). (1) Extracto clorofórmico de la cianobacteria, (2) Control positivo: gentamicina, (3) Control negativo: extracto de PBC8, (4) disolvente: control. DOI: [10.1111/jam.14760](https://doi.org/10.1111/jam.14760)

Por lo tanto, mediante este estudio se demostró que las cianobacterias pueden ser una buena alternativa para combatir la multirresistencia.

Una investigación más reciente relacionada con la temática descrita trata sobre la detección *in vivo* e *in silico* de compuestos antimicrobianos de cianobacterias, lo interesante de este estudio es que permitió observar como la variación de algunos parámetros en el cultivo pueden mejorar o desfavorecer la producción de los compuestos antimicrobianos, como, por ejemplo, la temperatura a la que se incubó, el tiempo, el medio de cultivo, la intensidad de la luz, etc. Respecto a esto se hace mención que, por lo general se utilizan medios estándar como BG-11 con o sin nitrógeno, a no ser que se esté en presencia de una cianobacteria terrestre. Como se dijo anteriormente la intensidad de la luz también fue uno de los parámetros analizados, los resultados obtenidos en este estudio determinaron que las condiciones de la luz influyen significativamente en la productividad de la biomasa y que una intensidad de la luz de 7 $\mu\text{mol fotones}/\text{m}^2\text{s}$ es baja y genera una disminución de la tasa de crecimiento. No obstante, también hay que tener en consideración que la intensidad tolerable a la luz depende de la especie de cianobacteria utilizada (48).

Una interrogante que ha surgido al analizar las diferentes investigaciones publicadas es la elección del disolvente, este estudio menciona que es complejo elegir el disolvente cuando las propiedades del compuesto se desconocen, sin embargo, es de conocimiento general que un buen solvente debe tener un punto de ebullición relativamente bajo y que no debe interferir con la actividad antimicrobiana. En la literatura descrita también se menciona que usar solventes polares parece ser lo más adecuado para la extracción de los compuestos bioactivos y que utilizar distintos disolventes con polaridades diferentes ayuda a aumentar la pureza del extracto (48).

Si bien, la investigación recién mencionada no da valores de la concentración mínima inhibitoria, ni concede comparar la efectividad de los extractos o aceites esenciales hechos a partir de cianobacterias, permite analizar los diferentes factores que pueden influir en la actividad de estos.

2.6 Estudio de la actividad bacteriana de *Cinnamomun verum* (canela) y *Thymus vulgaris* (tomillo)

Una especia muy utilizada por las personas diariamente es la canela, además de utilizarse como saborizante se ha reportado que presenta actividad antimicrobiana, por ejemplo, antiguas investigaciones reportan que el aceite esencial de canela es útil frente a cepas de *S. aureus* (49). Por su parte, el tomillo es una planta herbácea, que crece en zonas montañosas que además de usarse para darle sabor a las bebidas o alimentos se ha usado para tratar infecciones de la boca, estómago, intestino, vías respiratorias, entre otras (50).

Una investigación que aborda tanto a la canela como el tomillo es una realizada recientemente y que reporta el efecto inhibitorio de sus aceites esenciales frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* (51). Este estudio nace a causa de que muchos patógenos humanos pueden transferirse a través de la cadena alimentaria (52) como *Acinetobacter spp* en leche cruda y productos lácteos. Considerando que *A. baumannii* suele presentar multirresistencia, fue que en este experimento se realizó su detección en diferentes productos lácteos, evaluando también la actividad antibacteriana de aceites esenciales de canela y tomillo. Para poder analizar la incidencia de estas bacterias en los lácteos, se obtuvo un muestreo total de 250 productos, de los cuales 30 estaban contaminadas con *Acinetobacter*, para el aislamiento se utilizó medio agar Leed - *Acinetobacter*, incubándose a 37°C durante un lapso de 24 a 48 horas. Este medio de cultivo corresponde a un medio diferencial que apoya de manera selectiva el crecimiento de especies de *Acinetobacter*. Contiene cefsulodina y cefradina, que sirven para inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativo. Este medio de cultivo adicionalmente contiene vancomicina para prevenir el crecimiento de Gram positivo, además de fructosa y sacarosa, que no son fermentadas por *Acinetobacter* (53).

Adicionalmente, en esta investigación se realizó la detección del gen *blaOXA-51*. La presencia de este gen suele ser una de las causas más importantes de resistencia en *A. baumannii* y está asociado a un alto nivel de resistencia (54). Para poder determinar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, se utilizó el método de difusión en disco,

donde los diámetros de la zona de inhibición fueron medidos en milímetros y como control negativo se utilizó agua destilada. Para la mejor comprensión de la investigación es relevante mencionar que, cuando la cepa presentaba una zona de inhibición menor o igual a 8 mm se consideraba como resistente, si el diámetro fluctuaba entre 9 y 14 mm era sensible, diámetros entre 15 y 19 mm corresponden a cepas muy sensibles y, por último, si el halo era mayor o igual a 20 mm se trataba de una cepa extremadamente sensible (Tabla 5).

Al analizar los diámetros de los aceites esenciales frente a *A. baumannii*, se obtuvieron 30 cepas con un diámetro mayor a 20 mm, por ende, las bacterias fueron extremadamente sensibles al antimicrobiano natural, no fueron detectadas cepas resistentes a ninguno de los dos aceites esenciales, lo cual corrobora el poderoso efecto antibacteriano de ellos (Tabla 11).

Tabla 11. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *A. baumannii* frente a aceites esenciales de *C. verum* y *T. vulgaris*. Tomado y adaptado de Mahmoud A.M. Hafouda (2022) (51).

	N.º de cepas	
	Aceite esencial de canela	Aceite esencial de tomillo
Resistentes	0	0
Sensibles	0	0
Muy sensibles	2	0
Extremadamente sensibles	14	16

En otra investigación reciente se analizó el comportamiento antimicrobiano que tiene un aceite esencial de canela obtenido a partir del método de hidrodestilación a diversas diluciones (1:2 a 1:8) para lo cual se utilizó dimetilsulfóxido. Para llevar a cabo el estudio se utilizó el método de difusión en disco frente a diversas bacterias, entre las que se encontraban *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y cepas del género *Proteus* y *Acinetobacter*. Lo cual es sumamente relevante, ya que como se dijo antes estas bacterias son generalmente declaradas

multirresistentes. Cabe mencionar que en esta literatura diámetros menores a 7 mm fueron considerados como “sin actividad antibacteriana”, halos entre 7 y 12 mm tenían una actividad antimicrobiana moderada y diámetros mayores a 12 mm son altamente activos, por lo tanto, frente a esto, se concluyó que el aceite era altamente efectivo contra las cepas, a excepción del antimicrobiano natural que fue diluido 1:4 y se probó frente a *S. aureus* (55), pudiendo observarse los resultados en la tabla 12.

Tabla 12. Zona de inhibición de un aceite esencial de *C. verum* a diferentes diluciones. Tomado y adaptado de Mohammed Al-Janabi (2022) (55).

Cepa	Dilución 1:2	Dilución 1:4	Dilución 1:8
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 mm	10 mm	34 mm
<i>Escherichia coli</i>	32 mm	30 mm	28 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28 mm	30 mm	20 mm
<i>Proteus spp</i>	30 mm	26 mm	20 mm
<i>Acinetobacter spp</i>	44 mm	34 mm	30 mm

En esta investigación también se visualizó la actividad antimicrobiana de diversos antibióticos para poder comparar de mejor manera la actividad del aceite (utilizando el mayor diámetro) respecto de estos, los resultados se pueden observar en la Tabla 13, donde se percibe que el aceite esencial es bastante eficaz respecto a los antibióticos generalmente utilizados; solo frente a la cepa de *E. coli* presenta menor actividad en comparación con trimetoprima (55).

Tabla 13. Actividad antimicrobiana de antibióticos de uso común y del aceite esencial de *C. verum* frente a diversas bacterias. Tomado y adaptado de Mohammed Al-Janabi (2022) (55).

Antimicrobianos	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Proteus spp</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
Trimetroprima	25 mm	30 mm	Resistente	Resistente	Resistente
Tetraciclina	14 mm	12 mm	14 mm	Resistente	27 mm
Eritromicina	22 mm	12 mm	10 mm	Resistente	18 mm
Ciprofloxacina	12 mm	28 mm	14 mm	14 mm	12 mm
Cefoxitin	28 mm	26 mm	Resistente	20 mm	Resistente
Ampicilina	20 mm	20 mm	12 mm	30 mm	17 mm
Ácido nalidixico	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Aceite esencial	34 mm	28 mm	30 mm	30 mm	44 mm

Al analizar los diversos estudios se puede evidenciar que los aceites esenciales de canela tienen un gran poder bacteriano, frente a bacterias Gram positivo y Gram negativo generando grandes halos de inhibición, lo cual demuestra que las cepas son muy sensibles a la actividad antimicrobiana.

Anteriormente se presentó un estudio donde se demostró que un aceite esencial fabricado a partir de tomillo generó excelentes efectos frente a una cepa de *A. baumannii*. Sin embargo, con el fin de reafirmar esta información existe una investigación más actual que habla sobre el efecto in vitro antimicrobiano, anti-biopelícula y anti-fago del tomillo. En este estudio se utilizaron tres cepas bacterianas *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* a las cuales se les realizó un antibiograma que demostró que corresponden a bacterias multirresistentes, lo interesante de este artículo es que, comparó la actividad antimicrobiana de un aceite esencial de tomillo frente a un extracto acuoso. Para ver la actividad antibacteriana se usó el método de difusión en pocillos de agar y los métodos se realizaron por triplicado, obteniéndose los resultados que pueden apreciarse en la Tabla 14, los cuales confirman el

potencial antibacteriano del tomillo, no obstante, al menos esta investigación demostró que los aceites esenciales fueron más efectivos que los extractos (56).

Respecto a la concentración mínima inhibitoria esta varió de 0,2 a 3,5 mg/ml, registrándose la máxima actividad frente a la cepa de *S. aureus* a una CMI de 0,2 mg/ml. Por su parte, el extracto acuoso tuvo una CMI de 40 mg/dl para *S. aureus*, de 80 mg/dl para *E. coli* y de 160 mg/dl para *P. aeruginosa* (56).

Tabla 14. Actividad antimicrobiana de un aceite esencial y de un extracto acuoso de *T. vulgaris*. frente a cepas multirresistentes. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Aceite esencial de tomillo	49 mm	35 mm	31 mm
Extracto acuoso de tomillo	35 mm	20 mm	24 mm

Por último, respecto a esta investigación también es importante señalar que se realizó un ensayo de inhibición de biopelículas, demostrando que el tomillo también tiene la capacidad de inhibir la formación de estas (56). Por ende, frente a estos resultados antimicrobianos fabricados a partir de tomillo, son buenos frente a bacterias Gram positivo y Gram negativo.

2.7 Estudio de actividad antimicrobiana de *Ruscus hypophyllum* (Laureola)

Ante la necesidad de buscar nuevas alternativas terapéuticas contra la resistencia a antibióticos y debido a que no existían datos científicos donde se documentaran las actividades biológicas de Laureola, se realizó una investigación en la cual se estudió la composición química y la actividad antimicrobiana de extractos de *R. hypophyllum* contra bacterias multirresistentes (57).

R. hypophyllum es un árbol pequeño de hoja perenne típico de Europa mediterránea y África, es sabido que este género contiene ruscogenina y neoruscogenina (saponinas esteroidales) como ingredientes activos (58).

Se realizó la determinación del contenido total de polifenoles y de flavonoides según un método colorimétrico, los extractos fueron disueltos en éter de petróleo, metanol, acetato de etilo y cloroformo, los cuales fueron evaporados a presión reducida, los extractos tratados con cloroformo y acetato de etilo fueron los que tuvieron mayor cantidad de fenoles y flavonoides; mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas se realizó la identificación de los componentes de los extractos que usaron los solventes anteriormente nombrados, logrando visualizar la presencia de terpenos, cetonas, compuestos fenólicos, hidrocarburos, ésteres, ácidos grasos, entre otros. El extracto que usó acetato de etilo contenía principalmente terpenos e hidrocarburos (16,41% y 10,72% respectivamente) y el que usaba cloroformo era rico principalmente en terpenos.

Mediante un método de microdilución en caldo se determinó la concentración mínima inhibitoria y bactericida de los extractos, las cepas fueron aisladas, identificadas y caracterizadas mediante métodos bioquímicos convencionales y la susceptibilidad a los antibióticos fue probada con el método de difusión por disco.

Se determinó la concentración mínima antimicrobiana de los extractos frente a cepas multirresistentes, logrando visualizar una fuerte actividad antibacteriana del extracto disuelto en acetato de etilo, especialmente contra *S. aureus* resistente a meticilina, donde se obtuvo la CMI más baja (Tabla 15).

Tabla 15. Concentración mínima inhibitoria de extractos de *R. hypophyllum* frente a bacterias resistentes a múltiples fármacos. Tomado y adaptado de Hayet Edziri (2020) (57).

Concentración mínima inhibitoria (mg/dl)					
Cepas	Extracto /Éter de petróleo	Extracto /Acetato de etilo	Extracto /Cloroformo	Extracto /Etanol	Extracto /Acetato de etilo y cloroformo
<i>S. aureus</i> (SARM)	5	0,125	0,250	1	32
<i>Acinetobacter</i> IMP/R	10	0,500	0,500	2	15
<i>P. aeruginosa</i> IMP/R	10	0,250	0,500	2	64
<i>E. cloacae</i> BLEE	10	0,250	0,500	2	15

SARM: *S. aureus* resistente a meticilina, BLEE: betalactamasas de espectro extendido. IMP/R: resistentes a imipenem.

Frente a estos resultados se puede determinar que la laureola también puede ser utilizada como antimicrobiano natural, extractos con éter de petróleo, acetato de etilo, cloroformo, etanol y una combinación de acetato de etilo y cloroformo demostraron ser efectivos frente a cepas de *S. aureus*, *Acinetobacter*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*.

2.8 Estudio antibacteriano de *Zingiber officinale* (Jengibre)

El jengibre es una especia muy utilizada en la cocina, es miembro de la familia Zingiberaceae; una pequeña familia con más de 45 géneros y 800 especie (59). Es un rizoma que presenta componentes químicos que aportan beneficios a la salud de quien lo ingiere, lo cual se conoce con el nombre de principios aromáticos, al ser deshidratados, la disponibilidad de estos principios aumenta (60).

Antiguas investigaciones hay reportado actividad antimicrobiana eficaz de extractos de *Z. officinale* frente a diversas bacterias, generando los extractos acuosos un halo de inhibición de 13 mm frente a *S. typhi*, un efecto ligeramente inhibidor frente a *S. aureus* (9 mm) y de 11 mm frente a *P. mirabilis*. Este artículo obtuvo resultados negativos de los extractos etanólicos frente a *E. coli*, *Bacillus subtilis* y *P. aeruginosa*. (61). Otras publicaciones cercanas a esa fecha también analizaron el efecto antibacteriano (mediante métodos de difusión en pozos de agar y de difusión en discos) de extractos de jengibre con agua destilada estéril obteniendo halos de inhibición cercanos a 6 mm tanto para *B. cereus* como para *S. aureus* y no se observó inhibición frente a *E. coli* y a *S. typhi*, los resultados de esta investigación antigua pueden observarse en la Tabla 16 (62).

Tabla 16. Actividad antibacteriana de un extracto de *Z. officinale* con agua destilada estéril frente a distintos microorganismos. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Extracto de jengibre diluido	Cepas bacterianas			
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i> .
Concentración				
25%	6,0 ± 0,0 mm	R	6,0 ± 0,0 mm	R
50%	6,0 ± 0,0 mm	R	6,0 ± 0,0 mm	R
75%	6,67 ± 0,57 mm	R	6,67 ± 0,57 mm	R
100%	6,67 ± 0,57 mm	R	6,67 ± 0,57mm	R

R: resistente.

Publicaciones más actuales han demostrado que los extractos de jengibre a partir de agua destilada son efectivos contra cepas de *E. coli* y de *P. aeruginosa* lo cual puede evidenciarse claramente en la Tabla 17 donde se reporta la actividad antimicrobiana mediante difusión en pozos, estos datos se contradicen con los anteriormente descritos pues el halo de inhibición del artículo anterior era de 0 mm, es decir, las cepas frente a las cuales se expuso el antimicrobiano natural eran resistentes (32). No obstante, se debe tener en cuenta que el método para obtener los extractos fue diferente, uno utiliza etanol y la otra agua destilada, también se debe tener en cuenta el patrón de resistencia que presentaban las cepas, el cual puede haber influido en los resultados obtenidos.

En este último artículo además de obtener el extracto con agua destilada, también lo hizo a partir de agua peptonada, teniéndose también resultados positivos que se contradicen con los artículos antiguos, estos resultados están reflejados en la Tabla 18. Sin embargo, es importante destacar que tanto la investigación antigua con la nueva concuerda con el hecho de que los extractos de jengibre son útiles frente a cepas de *S. aureus* (32).

Esta investigación más reciente que habla acerca de jengibre es la misma que reportó resultados para el ajo anteriormente. Las cepas multirresistentes descritas, son las mismas que aparecen en la Tabla 3.

Tabla 17. Actividad antibacteriana de un extracto de *Z. officinale* con agua destilada frente a aislados clínicos multirresistentes. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Extracto de jengibre diluido	<i>Cepas bacterianas</i>		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
25%	14 mm	12 mm	12 mm
50%	16 mm	15 mm	15 mm
75%	17 mm	15 mm	18 mm
100%	20 mm	18 mm	19 mm

Tabla 18. Actividad antibacteriana de un extracto de *Z. officinale* con agua peptonada frente a aislados clínicos multirresistentes. Elaboración propia, Ibarra, C. (2022).

Extracto de jengibre diluido	<i>Cepas bacterianas</i>		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
25%	12 mm	14 mm	11 mm
50%	13 mm	15 mm	13 mm
75%	17 mm	17 mm	17 mm
100%	20 mm	18 mm	19 mm

Respecto a esta investigación, se puede decir que los resultados de los antimicrobianos hechos a partir de jengibre son controversiales, especialmente frente a cepas de *E. coli*. Esta información contradictoria entre los estudios no significa que el jengibre no sea útil como antimicrobiano, si no que confirma que para la fabricaron de aceites esenciales y extractos naturales influyen una gran cantidad de factores que no se encuentran controlados.

CONCLUSIÓN

Mediante esta revisión bibliográfica se obtuvieron las siguientes conclusiones:

La multirresistencia es un fenómeno que está lejos de poder ser controlado en vista de que se sigue incurriendo en conductas clínicas y comunidad que la fomentan.

Las alternativas terapéuticas para el tratar estos microorganismos a largo plazo son escasas, por lo que, se debiese animar a los científicos que trabajan en el área de control de microorganismos a seguir investigando.

Con base en las investigaciones expuestas en este documento, se puede inferir que el uso de productos naturales como extractos o aceites esenciales resultan ser una buena alternativa para el control de microorganismos multirresistentes, sin embargo, hay mucho que seguir trabajar en esta área, como, por ejemplo, estandarizar los métodos, controlar los factores que pueden influir en la efectividad de los antimicrobianos, investigar los mecanismos de acción, entre otros.

La efectividad y eficacia de los aceites esenciales y extractos naturales puede ser afectada por una gran variedad de factores, los cuales hay que identificar y controlar. Por ejemplo, la calidad de la materia prima a utilizar, el perfil de resistencia de las cepas, los sistemas y metodologías usadas, la consistencia y el medio de maceración de los extractos, el factor de dilución, intensidad de la luz (especialmente a cianobacterias), etc. Relacionado con esto, las investigaciones analizadas demuestran resultados más prometedores para los aceites esenciales respecto a los extractos.

Con la información analizada se puede concluir sobre los solventes que, aunque las propiedades del compuesto sean desconocidas, a la hora de realizar la experimentación se deben elegir solventes que tengan un punto de ebullición relativamente bajo y que no influyan en la actividad antimicrobiana; que el agua destilada funciona mejor como solvente a comparación del agua peptonada, que los extractos hidroalcohólicos son más efectivos que los acuosos. Si se quiere extraer compuestos bioactivos los solventes polares son los más adecuados y si el fin es que el extracto sea puro es mejor usar solventes con diferentes polaridades.

Adicionalmente, sobre los solventes, una de las investigaciones analizadas reportó mejores resultados cuando el disolvente fue el cloroformo, luego le siguió en efectividad el diclorometano, posteriormente la acetona y por último, el acetato de etilo, estos resultados no son concluyentes respecto a cuál es el mejor solvente, se necesita analizar y realizar más investigaciones para poder confirmar esto, de hecho, en otra investigación el acetato de etilo es mejor que el cloroformo, siguiendo luego el etanol y el éter de petróleo.

Respecto a los productos extractivos, aceites esenciales y extractos naturales fabricados a partir de guayaba, ajo, hierba mora negra, canela, tomillo, laureola, líquenes y jengibre reportan actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram negativo y Gram positivo. No obstante, la literatura descrita frente a antimicrobianos fabricados a partir de Guayaba y Jengibre es controversial, frente a bacterias Gram negativo y a cepas de *E. coli*, respectivamente. Lo cual confirma que la fabricación de estos antimicrobianos está influenciada por muchos factores. Cabe decir que no todas las especies de líquenes permitieron obtener resultados de las zonas de inhibición, no obstante, esto no es motivo para rechazar su posible efectividad, pues hay una gran variedad de estos organismos con los que se pueden hacer investigaciones; Es de destacar que en una de las investigaciones analizadas sobre la canela, se comparó el aceite esencial con antibióticos de uso común obteniendo halos de inhibición que demostraban que el aceite esencial era en la mayoría de los casos más eficaz que los

farmacos que comúnmente se utilizan. Los extractos de Cianobacterias marinas presentan buena actividad frente a bacterias Gram negativo.

Se puede concluir además que, el uso de nanopartículas y de la nanoencapsulación es de gran utilidad sobre todo para proteger la vida útil del producto, su estabilidad y la liberación controlada del compuesto activo. Por lo cual, podría ser útil para la fabricación de antimicrobianos naturales.

Estudios que examinen la efectividad de los antibióticos y de los productos extractivos frente a diversas cepas, permiten comparar la actividad antimicrobiana de ambos medicamentos y dimensionar el impacto que podrían tener los productos naturales en la clínica.

Es relevante hacer pesquisas posteriores a las cepas que fueron tratadas con aceites esenciales o extractos naturales, para poder ver si las bacterias logran expresar algún tipo de mecanismo de resistencia.

Lo ideal es que en futuras investigaciones se realicen experimentos lo más completo posible, es decir, que se analicen y controlen las variables anteriormente mencionadas, que se realicen pruebas fitoquímicas para la detección de metabolitos secundarios y para evaluar la calidad de los elementos medicinales, estudios de citotoxicidad y los que evalúen efectos secundarios para que el medicamento sea lo más seguro posible para el paciente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdi SN, Ghotaslou R, Ganbarov K, Mobed A, Tanomand A, Yousefi M, et al. Acinetobacter baumannii Efflux Pumps and Antibiotic Resistance. *Infect Drug Resist.* 2020;13:423-34.
2. Tafur JD. Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria. In: Torres JA, editor. 2008.
3. Pérez H. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. In: Robles- A, editor. 2013.
4. Lopez-Pueyo MJ, Barcenilla-Gaite F, Amaya-Villar R, Garnacho-Montero J. Antibiotic multiresistance in critical care units. *Medicina Intensiva.* 2011;35(1):41-53.
5. Rubin MA, Nelson RE, Samore MH. Matching Methods to Problems: Using Data Science and Transmission Modeling to Combat Antimicrobial Resistance. *Clinical Infectious Diseases.* 2021;72:S74-S6.
6. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2009;27(1):44-52.
7. Deshayes S, Coquerel A, Verdon R. Neurological Adverse Effects Attributable to β -Lactam Antibiotics: A Literature Review. *Drug Saf.* 2017;40(12):1171-98.
8. Zhang S, Chen DC. Facing a new challenge: the adverse effects of antibiotics on gut microbiota and host immunity. *Chinese Medical Journal.* 2019;132(10):1135-8.
9. van Duin D, Paterson DL. Multidrug-Resistant Bacteria in the Community Trends and Lessons Learned. *Infectious Disease Clinics of North America.* 2016;30(2):377-+.
10. Padilla C. *Microbiología fundamental Talca: Editorial Universidad de Talca; 2018.*
11. De la Fuente N. Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. . In: Villarreal J, editor. Ciudad de México 2015.
12. Pacios O, Blasco L, Bleriot I, Fernandez-Garcia L, Bardanca MG, Ambroa A, et al. Strategies to Combat Multidrug-Resistant and Persistent Infectious Diseases. *Antibiotics-Basel.* 2020;9(2):20.
13. CDC. What CDC is Doing: Antibiotic Resistance (AR) Solutions Initiative 2020 [Available from: <https://www.cdc.gov/drugresistance/solutions-initiative/index.html>].
14. Man A, Santacroce L, Jacob R, Mare A, Man L. Antimicrobial Activity of Six Essential Oils Against a Group of Human Pathogens: A Comparative Study (vol 8, 15, 2019). *Pathogens.* 2019;8(3).
15. Ríos J-L. Chapter 1 - Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. In: Preedy VR, editor. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety.* San Diego: Academic Press; 2016. p. 3-10.
16. Castillo E. *Manual de fitoterapia. Tercera edición.* ed. Sciences EH, editor 2021. 596 p.
17. Naseer S, Hussain S, Naeem N, Pervaiz M, Rahman M. The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience.* 2018;4(1):32.
18. Biswas B, Rogers K, McLaughlin F, Daniels D, Yadav A. Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology.* 2013;2013:746165.
19. OMS. Who publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed Ginebra.2017 [Available from: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>].
20. Zhang F, Ramachandran G, Mothana RA, Noman OM, Alobaid WA, Rajivgandhi G, et al. Anti-bacterial activity of chitosan loaded plant essential oil against multi drug resistant *K. pneumoniae*. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 2020;27(12):3449-55.

21. Hadidi M, Pouramin S, Adinepour F, Haghani S, Jafari SM. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate Polymers*. 2020;236.
22. Mercado-Mercado G, de la Rosa Carrillo L, Wall-Medrano A, Lopez Diaz JA, Alvarez-Parrilla E. POLYPHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF TYPICALLY CONSUMED SPECIES IN MEXICO. *Nutricion Hospitalaria*. 2013;28(1):36-46.
23. de Oliveira-Junior RG, Alves Ferraz CA, Pontes MC, Cavalcante NB, da Cruz Araujo EC, de Oliveira AP, et al. Antibacterial activity of terpenoids isolated from *Cnidoscolus quercifolius* Pohl (Euphorbiaceae), a Brazilian medicinal plant from Caatinga biome. *European Journal of Integrative Medicine*. 2018;24:30-4.
24. El-Saber Batiha G, Beshbishy AM, Wasef LG, Elewa YHA, Al-Sagan AA, Abd El-Hack ME, et al. Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): A Review. *Nutrients*. 2020;12(3):21.
25. Abdou IA, Abou-Zeid AA, El-Sherbeeney MR, Abou-El-Gheat ZH. Antimicrobial activities of *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Raphanus sativus*, *Capsicum frutescens*, *Eruca sativa*, *Allium kurrat* on bacteria. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*. 1972;22(1):29-35.
26. Magrys A, Olender A, Tchorzewska D. Antibacterial properties of *Allium sativum* L. against the most emerging multidrug-resistant bacteria and its synergy with antibiotics. *Archives of Microbiology*. 12.
27. Marco F. Utilidad de los estudios in vitro para seleccionar los estudios in vivo. In: Liñares J, editor. Barcelona 2018. p. 12.
28. Zainal M, Zain NM, Amin IM, Ahmad VN. The antimicrobial and antibiofilm properties of allicin against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* - A therapeutic potential for denture stomatitis. *Saudi Dental Journal*. 2021;33(2):105-11.
29. Salehi B, Zucca P, Orhan IE, Azzini E, Adetunji CO, Mohammed SA, et al. Allicin and health: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*. 2019;86:502-16.
30. Vu Van L, Nguyen Thi Thu H, Busche T, Quach Ngoc T, Gruhlke MCH, Kalinowski J, et al. *Staphylococcus aureus* responds to allicin by global S-thioallylation - Role of the Brx/BSH/YpdA pathway and the disulfide reductase MerA to overcome allicin stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019;139:55-69.
31. Capurso A. Beneficios de la dieta mediterránea en el paciente anciano. Maggi S, editor 2018. 439 p.
32. Rafique A. In-Vitro evaluation of antimicrobial activity of *Allium sativum* and *Zingiber Officinale* against multi-drug resistant clinical pathogens. In: Baig N, editor. 2022.
33. Gasulla F, del Campo EM, Casano LM, Guera A. Advances in Understanding of Desiccation Tolerance of Lichens and Lichen-Forming Algae. *Plants-Basel*. 2021;10(4):24.
34. Bate PNN, Orock AE, Nyongbela KD, Babiaka SB, Kukwah A, Ngemenya MN. In vitro activity against multi-drug resistant bacteria and cytotoxicity of lichens collected from Mount Cameroon. *Journal of King Saud University Science*. 2020;32(1):614-9.
35. Çobanoğlu G. Evaluation of antimicrobial activity of the lichens *Physcia aipolia*, *Xanthoria parietina*, *Usnea florida*, *Usnea subfloridana* and *Melanohalea exasperat*. In: Sesal C, editor. 2016.
36. Oh JM, Kim YJ, Gang H-S, Han J, Ha H-H, Kim H. Antimicrobial Activity of Divaricatic Acid Isolated from the Lichen *Evernia mesomorpha* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2018;23(12).

37. Shiromi PSAI, Hewawasam RP, Jayalal RGU, Rathnayake H, Wijayarathne WMDGB, Wanniarachchi D. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Two Sri Lankan Lichens, *Parmotrema rampoddense*, and *Parmotrema tinctorum* against Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2021;2021:9985325.
38. Li YQ, Kong DX, Fu Y, Sussman MR, Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. Plant Physiology and Biochemistry. 2020;148:80-9.
39. Jabamalaiaraj A, Priatama RA, Heo J, Park SJ. Medicinal metabolites with common biosynthetic pathways in *Solanum nigrum*. Plant Biotechnology Reports. 2019;13(4):315-27.
40. Khaled JM, Alyahya SA, Kanisha CC, Alharbi NS, Kadaikunnan S, Ramachandran G, et al. Anti-biofilm activity of LC-MS based *Solanum nigrum* essential oils against multi drug resistant biofilm forming *P. mirabilis*. Saudi Journal of Biological Sciences. 2021;28(1):302-9.
41. Marvasi M, Visscher PT, Martinez LC. Exopolymeric substances (EPS) from *Bacillus subtilis*: polymers and genes encoding their synthesis. Fems Microbiology Letters. 2010;313(1):1-9.
42. Konduri R, Saiabhilash CR, Shivaji S. Biofilm-Forming Potential of Ocular Fluid *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* on Ex Vivo Human Corneas from Attachment to Dispersal Phase. Microorganisms. 2021;9(6):19.
43. Ashjerdi PR. Healing effects of *Solanum nigrum* fruit extract on second-degree burn wounds and its antibacterial activity against common pathogens of burn infection. In: Mohsen Zabihi^{1*}, editor. 2021. p. 1-12.
44. Mukherjee PK. Chapter 6 - Extraction and Other Downstream Procedures for Evaluation of Herbal Drugs. In: Mukherjee PK, editor. Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs: Elsevier; 2019. p. 195-236.
45. Demay J, Bernard C, Reinhardt A, Marie B. Natural Products from Cyanobacteria: Focus on Beneficial Activities. Marine Drugs. 2019;17(6).
46. Padmini N, Ajilda AAK, Prabakaran P, Sivakumar N, Selvakumar G. Efficacy of marine cyanobacterium *Oxynema thaianum* ALU PBC5 against multi drug resistant Gram negative pathogens. Journal of Applied Microbiology. 2021;130(1):50-60.
47. Yoon BK, Jackman JA, Valle-Gonzalez ER, Cho N-J. Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. International Journal of Molecular Sciences. 2018;19(4).
48. Strieth D, Lenz S, Ulber R. In vivo and in silico screening for antimicrobial compounds from cyanobacteria. MicrobiologyOpen. 2022;11(2):e1268.
49. Rao PV, Gan SH. Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2014;2014:642942.
50. Dauqan EMA. Medicinal and Functional Values of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Herb. In: Abdullah¹ A, editor. 2017. p. 017-22.
51. Hafouda MAM. Inhibitory Effect of Cinnamon and Thyme Essential Oils Against *Acinetobacter baumannii* strains Isolated from Raw Milk and Some Milk Products. In: El-Malt LM, editor. 2021. p. 25-39.
52. Lupo A, Vogt D, Seiffert SN, Endimiani A, Perreten V. Antibiotic Resistance and Phylogenetic Characterization of *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Commercial Raw Meat in Switzerland. Journal of Food Protection. 2014;77(11):1976-81.

53. McConnell MJ, Perez-Romero P, Lepe JA, Perez-Ordóñez A, Valencia R, Vázquez-Barba I, et al. Positive Predictive Value of Leeds Acinetobacter Medium for Environmental Surveillance of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011;49(12):4416-.
54. Pinto C ME. *Acinetobacter baumannii* con carbapenemasa OXA-23 en Colombia. *Revista chilena de infectología*. 2007;24(6):503-.
55. Al-Janabi M. Antibacterial Activity Of Cloves Seeds (*Syzygium Aromaticum*) And Cinnamon Bark Essential Oils. In: Asaad jl, editor. 2021. p. 131-41.
56. Qureshi W. In vitro antimicrobial, antibiofilm and antiphage activity of thyme (*Thymus vulgaris*). . In: Saeed F, editor. 2022.
57. Edziri H, Haddad O, Saidana D, Chouchen S, Skhiri F, Mastouri M, et al. *Ruscus hypophyllum* L. extracts: chemical composition, antioxidant, anticoagulant, and antimicrobial activity against a wide range of sensitive and multi-resistant bacteria. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27(14):17063-71.
58. Nazemiyeh H, Zengin G, Mehrad H, Farhoudi M, Bahadori MB. LC-MS/MS-based steroidal saponins profiling and biological activities of *Ruscus hyrcanus* Woronow. *European Journal of Integrative Medicine*. 2020;40:101245.
59. Yusha' u M. In vitro inhibitory activity of garlic and ginger extracts on some respiratory tract isolates of gram-negative organisms. In: Garba L, editor. 2008.
60. Acuña O. Aprovechamiento de las propiedades funcionales del jengibre (*Zingiber officinale*) en la elaboración de condimento en polvo, infusión filtrante y aromatizante para quema directa. . In: Torres AAdlpfdjzoeledcep, infusión filtrante y aromatizante para quema directa., editor. En: *Revista Politécnica*, Quito: EPN.2010. p. 60-9.
61. OA A. Antimicrobial Activity Of *Zingiber Officinale* (Ginger) Extract Against Some Selected Pathogenic Bacteria. In: CC O, editor. 2012.
62. Chand B. Anti-bacterial effect of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2013;2:2481-91.