

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

ESCUELA DE FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
POR MÉTODOS IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE
AJO (ALLIUM SATIVUM L.) EN EL
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

ANDREA CASTRO ALVARADO

TUTORA: MELISSA MARTÍNEZ

ARANJUEZ, ABRIL, 2018

Agradecimientos

A Dios, por el regalo de la vida.

A mis padres, Francisco y Teresa, y a mis tías, María del Socorro y Vilma,
porque siempre han estado para mí y me han apoyado.

A mis amigos y compañeros de la Universidad, Olman, Marcela y Steven,
quienes siempre me han apoyado y acompañado.

A todos mis profesores, en especial a la Dra. Melissa Martínez Domínguez,
por sus consejos, dedicación y apoyo incondicional.

Contenido

Índice de tablas	10
Índice de figuras	11
Capítulo I: Introducción	13
Planteamiento del problema	13
Hipótesis.....	15
Objetivos	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos.....	15
Justificación	16
Proyecciones	18
Antecedentes	18
Capítulo II: Marco teórico	22
Piel	22
Staphylococcus aureus	29
Patogenia	31
Infecciones por invasión	33
Infecciones por acción de toxinas	34
Síndrome de piel escaldada:	34
Síndrome del shock tóxico:	34
Intoxicaciones alimentarias:.....	35
Identificación de Staphylococcus aureus	35
Tinción de Gram.....	35
Siembra	36
Agar S110	36
Prueba de catalasa	36
Enfermedades causadas por Staphylococcus aureus	37
Infecciones bacterianas de la piel	37
Forúnculo	38
Características de los forúnculos.....	39

Factores predisponentes para la aparición de forunculosis	39
Factores de riesgo para los forúnculos	40
Prueba de sensibilidad a antibióticos (PSA)	43
<i>Dilución en caldo o agar</i>	44
Ajo	45
Tabla 2. Clasificación taxonómica del ajo	48
Época de siembra	49
Selección de la semilla	50
Cosecha	50
Fertilización	51
Riego	52
Riego por goteo	53
Riego por gravedad	53
Maleza	54
Bioquímica del ajo	54
Composición química del ajo	55
Nota: García et al. (cit. en Camacho et al., 2009, p. 14).....	56
Nota: Souci et al. (cit. en Camacho et al., 2009, p. 14).....	57
Nota: Drago et al. (cit. en Camacho et al., 2009, p. 14).....	57
Alicina	58
Ajoene	59
Propiedades del ajo	60
Propiedades antibacterianas	60
Propiedades antifúngicas	61
Propiedades antiparasitario	61
Propiedades antivirales	61
Aceite esencial	62
Procedencia de los aceites esenciales	63
Clasificación de los aceites esenciales	63
En la figura 20 se puede apreciar la clasificación de los aceites esenciales.	63
Hidrodestilación	64
Destilación por arrastre con vapor	65
Soxhlet	67

Las partes básicas del equipo son.....	67
Maceración.....	68
Enfleurage	69
Extracción con solventes	70
Extracción por prensado	71
Espectroscopia.....	73
Radiación infrarroja.....	74
Espectrometría de masas	76
Procesos de la espectrometría de masas	76
Ionización de la muestra	77
Aceleración de los iones por un campo eléctrico	77
Dispersión de los iones según su masa/carga	77
Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica	77
Cromatografía	77
Cromatografía en papel	78
Cromatografía en capa fina	79
Concepto de Rf	80
Capítulo III: Marco metodológico	81
Enfoque.....	81
Diseño.....	82
Extraer el metabolito activo mediante el método de Soxhlet.....	82
Instrumentos y técnicas de recolección	83
Cristalería requerida.....	83
Reactivos necesarios.....	84
Método	85
Método de Soxhlet.....	85
Método por maceración	87
Método de extracción sólido-líquido	88
Cromatografía de capa fina.....	89
Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite de ajo.....	94
Análisis del espectro de masas del aceite esencial de Ajo.....	94
Prueba microbiana.....	94
Elaboración de la forma farmacéutica.....	96

Elaboración de la crema	96
Capítulo IV: Análisis de resultados	97
Cromatografía de capa fina	100
Cromatografía en placa preparativa de gel de sílice	102
Para poder realizar el espectro de infrarrojo IR se procedió a realizar una cromatografía en placa preparativa con el aceite obtenido por método Soxhlet y maceración. Para así poder separar de los aceites extraídos anteriormente restos de solventes como agua y etanol.	102
Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite esencial de Allium Sativum L.....	104
Formulación de una crema antimicrobiana a base del aceite esencial de ajo	113
Figura 57. Halo de inhibición de los extractos de los tres diferentes métodos.....	117
Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones	123
Conclusiones	123
Recomendaciones.....	124
Referencias bibliográficas.....	125

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Tabla 2. Clasificación taxonómica del ajo	48
Tabla 3. Composición química del ajo por cada 100 gramos	56
Tabla 4. Compuestos azufrados del ajo.....	56
Tabla 5. Compuestos no azufrados del ajo.....	57
Tabla 6. Valores específicos de distintos grupos funcionales en el espectro infrarrojo.....	75
Tabla 7. Variables	82
Tabla 8. Características organolépticas del aceite esencial de ajo obtenido mediante los métodos de Soxhlet, maceración y extracción sólido-líquido, realizados en la Universidad Internacional de las Américas	99
Tabla 9. Rf de los aceites obtenidos por los tres diferentes métodos.....	101
Tabla 10. Señales obtenidas en el espectro infrarrojo del aceite esencial de ajo por el método de extracción sólido-líquido, según el grupo funcional responsable de las mismas, así como el rango e intensidad teórico correspondiente a cada señal	105
Tabla 11. Señales obtenidas en el espectro infrarrojo del aceite esencial de ajo por el método de maceración, según el grupo funcional responsable de las mismas, así como el rango e intensidad teórico correspondiente a cada señal.....	108
Tabla 12. Señales obtenidas en el espectro infrarrojo del aceite esencial de ajo por el método Soxhlet, según el grupo funcional responsable de las mismas, así como el rango e intensidad teórico correspondiente a cada señal.....	110
Tabla 13. Características organolépticas y fisicoquímicas de la crema con aceite esencial de ajo <i>Allium Sativium L</i> , elaborada en las Instalaciones del Laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas (UIA)	114
Tabla 14. Resultados de la formación de los halos de inhibición formados con distintas muestras	117
Tabla 15. Resultados de la formación de los halos de inhibición formados con distintas muestras de crema	120

Índice de figuras

Figura 1. La piel.	24
Figura 2. Capas de la piel.	26
Figura 3. Glándula sebacea.	28
Figura 4. Flora de la piel.	29
Figura 5. Staphylococcus aureus.	30
Figura 6. Celulitis.	32
Figura 7. Prueba de catalasa.	36
Figura 8. Formación de un forúnculo.	38
Figura 9. Paciente con forúnculo.	41
Figura 10. Prueba de sensibilidad a antibióticos.	44
Figura 11. Dilución en caldo o agar.	44
Figura 12. El ajo en la antigüedad.	46
Figura 13. Ajo.	49
Figura 14. Cultivo de ajo.	51
Figura 15. Fertilización.	52
Figura 16. Fertilización	54
Figura 17. Alicina.	58
Figura 18. Ajoene.	59
Figura 19. Aceite esencial.	63
Figura 20. Clasificación de los aceites.	64
Figura 21. Equipo de hidrodestilación.	65
Figura 22. Equipo de arrastre con vapor.	66
Figura 23. Extracción en Soxhlet.	68
Figura 24. Maceración.	69
Figura 25. Enfleurage.	70
Figura 26. Extracción con solventes.	71
Figura 27. Extracción por prensado.	73
Figura 28. Ejemplo de espectro IR.	74
Figura 29. Diagrama de cromatografía.	78
Figura 30. Fórmula del índice de refracción.	80
Figura 31. Cromatografía capa fina.	80
Figura 32. Equipo de Soxhlet.	86
Figura 33. Rota vapor.	86
Figura 34. Maceración.	87
Figura 35. Esquipo empleado en el método de extracción sólido-líquido.	88
Figura 36. Método de extracción sólido-líquido.	89
Figura 37. Placa de cromatografía.	89
Figura 38. Disolventes para fase móvil.	90
Figura 39. Empaque de las placas preparativas de gel de sílice.	91
Figura 40. Placa preparativa de gel de sílice.	91
Figura 41. Desarrollo cromatografico de la placa preparativa con el extracto obtenido mediante la técnica Soxhlet	92

Figura 43. Raspado de la placa preparativa con el extracto obtenido mediante la técnica Soxhlet . 93

Capítulo I: Introducción

Planteamiento del problema

Sosa (2014, p. 46) menciona que la piel es el órgano más extenso del cuerpo humano y que se encuentra en contacto con el medio ambiente. Las infecciones que sufren la piel y los tejidos blandos son a causa de un conjunto heterogéneo de condiciones clínicas caracterizadas por inflamación aguda local o generalizada, la cual es secundaria a una invasión bacteriana o sus toxinas. Estos afectan la epidermis, dermis, anexos cutáneos, tejido celular subcutáneo, fascias y músculo estriado, en todos los casos con espectro variable de gravedad.

Para Burillo, Moreno y Salas (2006) las infecciones pueden estar producidas por una amplia variedad de microorganismos que forman parte de la microbiota en la piel y de las mucosas, así como del medio ambiente. Estos microorganismos penetran en el cuerpo a través de soluciones de continuidad en la piel o en las mucosas, secundariamente a la producción de una herida traumática, quemadura o mordedura, las cuales pueden convertirse en un foco de infección distante a través de la sangre.

La piel, según Moyano, Peuchot y Giachetti (2014, p. 1), posee una flora microbiana residente y otra transitoria. La residente está formada por microorganismos no patógenos como *Staphylococcus epidermidis* y *Micrococos*. La flora transitoria posee microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), causante de varias enfermedades.

Sánchez (2013, p. 569) sostiene que una de las principales enfermedades que causa el *Staphylococcus aureus* es la forunculosis, que es una nodulación inflamatoria que involucra al folículo piloso con un pequeño absceso que se extiende a través de las capas de la dermis y causa

muchos problemas en la piel. Generalmente, la forunculosis recurre en cuatro episodios en un año. El *Staphylococcus aureus* es un comensal presente en la piel y el ser humano es un reservorio predominante. El 20% de la población lo tiene de manera crónica.

Según Martínez, Montes de Oca y Alemany (2017, p. 211) la resistencia bacteriana se incrementó al paso del tiempo, tal es el caso de *Staphylococcus aureus*, bacteria gram positiva considerada como microorganismo multirresistente. Esta bacteria afecta en especial a niños y jóvenes, y al ser esta una de las más problemática a nivel mundial es importante buscar nuevas alternativas para combatirla.

Bender y Barcenás (2013, p. 31) mencionan que el ajo y su componente más biológico la alicina posee actividad antimicrobiana. La alicina inhibe más de 300 bacterias tanto gram positivas como gram negativas como el *Staphylococcus aureus*. Esto sería de gran importancia para así solucionar diversas afectaciones que causa esta bacteria, por ejemplo, la forunculosis.

Bender y Barcenás (2013) afirman de los muchos beneficios que tiene el ajo en la salud humana porque desde épocas antiguas se han utilizado para fines curativos. Según lo mencionado por los autores, se puede decir que hay nuevas formas de combatir la resistencia antimicrobiana, creando fórmulas farmacéuticas que lleven el principio activo de la alicina.

De acuerdo con la OMS (2014, p. 1) una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos. Estas plantas también tienen importantes aplicaciones en la medicina moderna. Entre otras, son fuente directa de agentes terapéuticos, se emplean como materia prima para la fabricación de medicamentos semisintéticos más complejos.

Según Pérez (2008, p. 1) En términos generales los productos naturales actúan de la misma manera que los fármacos convencionales, es decir, por los principios activos presentes en su composición química. Las plantas contienen muchos compuestos químicos que tienen actividad biológica.

Ya que Costa Rica posee una gran variedad de flora, es muy importante que surjan investigaciones sobre fitofármacos que al tomar como referencia las propiedades del principio activo del ajo, que es la alicina, planteen hipótesis mediante la experimentación de crear una fórmula farmacéutica, de uso tópico y con propiedades antibacterianas frente al *Staphylococcus aureus*, con el fin de combatir la resistencia antimicrobiana.

Es así como frente a la situación mencionada surge en este trabajo de investigación la siguiente pregunta: ¿cuál es la actividad antibacteriana del aceite esencial de ajo (*Allium Sativum* L.) en el *Staphylococcus aureus*? Lo anterior puede resultar muy útil en la invención de nuevas alternativas para enfrentar la resistencia a antibióticos, problema muy importante a nivel mundial.

Hipótesis

- El aceite esencial de ajo (*Allium Sativum* L.) presenta propiedades antibacterianas sobre el *Staphylococcus aureus*.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar la propiedad antimicrobiana del extracto de ajo y comprobar su acción *in vitro* contra el microorganismo *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos.

- Obtener una extracción del aceite esencial de ajo utilizando diferentes métodos de extracción, tales como solido-liquido, maceración y método Soxhlet.
- Evidenciar la presencia de alicina metabolito activo en el aceite esencial de ajo mediante pruebas espectroscópicas.
- Evaluar la capacidad antibacteriana del aceite esencial del ajo frente a *Staphylococcus aureus* mediante el cultivo de placas.

Justificación

Según Chalar, Moya, Álvarez y Rebollo (2014, p. 2) el principal componente del ajo (la alicina) posee una gran característica, un efecto antibiótico idóneo para la inhibición del desarrollo de gérmenes patógenos sobre todo en agentes como el *Staphylococcus aureus*. Por lo que surge la idea en esta investigación de poder crear una nueva forma farmacéutica a base del extracto de ajo, para poder tratar la forunculosis, ya que el *Staphylococcus aureus* a nivel cutáneo la origina.

La OMS (2017, p. 2) menciona que la resistencia a los antibióticos va aumentando y que la muchos de los fármacos que se están creando son modificaciones de clases de antibióticos ya existentes que ofrecen soluciones solamente a corto plazo. Por lo tanto, indica que hay muy pocas opciones terapéuticas para las infecciones resistentes a los antibióticos, señaladas como las mayores amenazas para la salud.

Del comunicado anterior sobre la resistencia a antibióticos es que surge la idea de crear distintas formas farmacéuticas derivadas de productos naturales que actúen como nuevos antibióticos. Así las personas que los utilizan tengan la confianza de aplicarlo y tratar su patología sin reacciones adversas y efectos no deseados.

La medicina tradicional a nivel mundial es muy utilizada, según la OMS (2013) “En algunos países, la medicina tradicional o medicina no convencional suele denominarse medicina complementaria”. Con esto la investigación sirve para desarrollar una nueva forma farmacéutica a base del principio del ajo, para que las personas se beneficien de su origen natural.

Vega y Vega (2015, p. 21) mencionan que el costo de los antibióticos es muy elevado y que este ha aumentado aún más por la resistencia, esto debido al mal uso que se le dan. Esta investigación sería de gran beneficio para las personas, por que trataría una nueva forma de antibiótico que podría estar alcance de toda la población y que además sería de origen natural, por lo que no tendría efectos negativos y reacciones adversas.

Según Armas, Suarez, Crespo y Suarez (2015, p. 2) el *Staphylococcus aureus* presenta una gran resistencia a antibióticos y esto constituye un problema de salud que incrementa los costos, debido al aumento de la estadía hospitalaria, así como de las tasas de morbilidad y mortalidad. A nivel mundial se han reportado cifras elevadas de infección por este microorganismo, por lo tanto, una de las proyecciones de esta investigación es poder hacer frente a este con la alicina, metabolito activo del ajo, en una forma farmacéutica.

Pozo (2014) destaca que la población utiliza mucho los productos naturales para tratar lo que son dolencias y molestias, así mejorar su salud, aunque las personas de zona rural suelen utilizar más los productos naturales. Esta investigación sirve para crear una fórmula farmacéutica de origen natural, capaz de tratar una afección.

La presente investigación, donde se pretende demostrar que la alicina metabolito activo del ajo posee actividad antimicrobiana, puede servir como apoyo para la creación de otros estudios que también buscan la creación de distintos antibióticos naturales para luchar contra la

gran problemática mundial que hoy día significa la resistencia antimicrobiana, la cual genera costos muy altos.

Proyecciones

- Aportar el aceite esencial como un nuevo producto a base de un extracto natural.
- Comprobar la propiedad antimicrobiana del aceite esencial de ajo, por medio de métodos in vitro contra el *Staphylococcus aureus*.

Antecedentes

Según López (2015, p. 12) la medicina tradicional y alternativa se define como prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y/o minerales. Son técnicas manuales y ejercicios aplicados de formas individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades.

Córdoba (2010, p. 19) menciona que, entre los productos vegetales de gran interés en la medicina tradicional, el ajo (*Allium Sativum* L.) es un producto muy empleado desde la época de los egipcios, en la prevención y/o el tratamiento de una gran diversidad de enfermedades. Entre las principales actividades antitrombótica, hipotensora, antimicrobiana, antifúngica, anticarcinogénica, antitumorogénica e inmunomoduladora.

Para la presente investigación se encontraron trabajos relacionadas con el tema a desarrollar en la Universidad de Costa Rica. También mediante la búsqueda de información en bases de datos como BINASS, Pubmed y Revista Scielo. A partir de los datos obtenidos se esboza la información a continuación:

A nivel internacional, en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional en Santa Cruz Xoxocotlán México fue realizada una investigación titulada “Extracción y purificación de alicina a partir de ajo (*Allium Sativum* L.): implicaciones analíticas” a cargo del autor María de los Ángeles Córdova Betancourt (2010). El autor propuso un método sólido-líquido asistido con agitación por ultrasonido, el cual es rápido y eficiente para la obtención de los principales compuestos activos del ajo. El procedimiento realizado por dicho autor es de gran ayuda, como los métodos para la extracción del aceite esencial de ajo y algunas pruebas realizadas para comprobar el efecto microbiano del extracto.

Guapulema (2013) de la Universidad de Guayaquil de la Facultad de Ingeniería Química, realizó una investigación llamada “Proceso y Elaboración de Cápsulas de Ajo”. Esta investigación se basó en la creación de cápsulas de ajo para la salud y así aprovechar sus muchas virtudes. Esta información es de suma importancia porque habla de la composición nutricional y química del ajo, resaltando la acción farmacológica de sus compuestos activos.

Chalar, Moya, Vargas y Sejas (2014) de la Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Medicina, Bolivia realizaron una investigación titulada “Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*”. Los autores quisieron probar la capacidad antimicrobiana del ajo en distintos patógenos, llegando a la conclusión de que sí tiene efecto antimicrobiano, por lo que esta tesis ayuda a comprobar aún más que el ajo es un potente antimicrobiano.

Puga (2015) de la Universidad Central del Ecuador Facultad de Odontología y Unidad de Investigación, Titulación y Graduación realizó una tesis titulada “Actividad antifúngica: estudio microbiológico comparativo entre ajoeno y el aceite esencial de hierba luisa al 100% sobre cepas

de *Candida Albicans*”. El autor realizó una comparación entre el ajo y la hierbaluisa, para ver cuál de los dos tiene mayor efecto microbiológico. Se llegó a la conclusión de que ambos poseen efecto antimicrobiano, pero el ajo en mayor potencialidad.

Sánchez, Rojas y Agüero (2016) de la Facultad de Ciencias Médicas de Las Tunas realizaron una revisión bibliográfica titulada “Investigaciones actuales del empleo de *Allium Sativum* en medicina”. Los autores hicieron una revisión bibliográfica de las diferentes propiedades que tiene el ajo; por ejemplo, hiperlipemiente, antihipertensivo, antiagregante plaquetario, antimicrobiano, lo cual es de gran importancia porque habla de las propiedades del ajo.

Pava (2016) de la Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Bacteriología Bogotá Colombia realizó una tesis con el título “Actividad antimicrobiana de extractos de *Allium Sativum* y *Zingiber officinale* sobre microorganismos de importancia en patologías infecciosas de cavidad oral”. Dicha tesis permite conocer la composición nutricional, propiedades y análisis microbiológico del ajo.

A nivel nacional existen pocos antecedentes con respecto al tema de investigación. En el Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), en la carrera de Ingeniería en Biotecnología, se realizó una tesis titulada “Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (*Allium Sativum* L.)” de Astorga, Zúñiga y Rivera (2013). Se destaca la producción del ajo y diferentes especies de patógenos que lo afectan durante su producción.

En la Universidad de Costa Rica (UCR), en la carrera de microbiología, se realizó una tesis llamada “Determinación de la actividad antimicrobiana de algunas especies naturales sobre microorganismos asociados a alimentos” Cubillo (2007). En el estudio se habla del potencial

inhibitorio de especies nacionales (clavo de olor, canela, orégano pimienta, ajo) sobre diversos microorganismos asociados a alimentos, demostrando su actividad antimicrobiana.

Capítulo II: Marco teórico

Piel

Velilla y Ávila (2016) mencionan que la piel es un órgano complejo y majestuoso, con múltiples funciones adjudicadas a lo largo del tiempo, las cuales son fundamentales para mantener la homeostasis de nuestro organismo. El papel que desempeña es integral y abarca un espectro que va desde una función de barrera protectora, pasando por sus propiedades inmunológicas, endocrinas, sensitivas, metabólicas y termorreguladoras; sin soslayar que puede ser asiento de enfermedades locales o expresar una condición sistémica subyacente de índole orgánico (p. 328).

Una persona de peso y estatura medios está cubierta por 1.85 m² de piel, con un peso aproximado de 4 kg (6% del peso corporal), un volumen de 4 000 cm³ y 2.2 mm de espesor. Su composición química incluye preponderantemente: agua (70%); minerales como sodio, potasio, calcio, magnesio y cloro; carbohidratos como glucosa; lípidos (en especial colesterol) y proteínas como colágeno y queratina. De acuerdo con Velilla et al. (2016), la piel está formada por tres capas distintas: epidermis, dermis e hipodermis, con variados grados de especialización dentro de cada capa (p. 328).

Las principales funciones de la piel son mantener un ambiente interno que permita proteger el ADN; prevenir infecciones mediante un complejo sistema inmunológico que involucra respuestas innatas y adaptativas; mantener la función barrera que evita la pérdida de fluidos, electrolitos y otras moléculas; evitar que penetren microorganismos, materiales tóxicos y radiaciones ultravioleta; preservar la integridad de la piel a través de mecanismos reparadores ante injurias; proporcionar circulación (Velilla et al., 2016, p. 328).

Por otro lado la piel tiene tres funciones principales: brindar apoyo nutricional, proporcionar leucocitos y termorregulación, y mantener la comunicación entre el ambiente interno y externo mediante tres mecanismos: la conducción nerviosa a través de fibras, la señalización intercelular mediada por citocinas y hormonas, y por último, el movimiento celular de un sitio a otro. Además, la piel regula la temperatura la cual se ve afectada principalmente por la sudoración y fenómenos de vasoconstricción-vasodilatación (Velilla et al., 2016, p. 329).

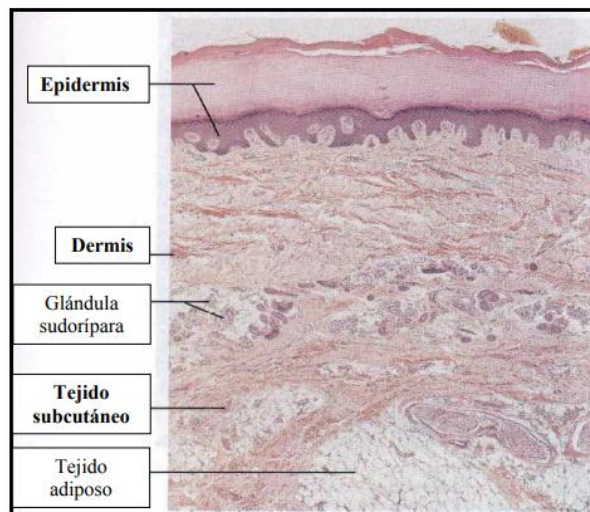
Mejías, Molist y Pomball (2016) comentan que entre los derivados de la piel se encuentran pelos, uñas y aquellas glándulas que liberan su producto de secreción a la superficie externa corporal. Se habla de piel gruesa cuando el espesor de la dermis y la epidermis es grande, como consecuencia de soportar un alto estrés mecánico. De lo contrario, la piel fina tiene epidermis y dermis más delgadas, y se localiza en zonas corporales con pocos roces mecánicos. La epidermis es la capa más externa de la piel y es un epitelio estratificado plano queratinizado formado principalmente por células denominadas queratinocitos (p. 4).

La barrera de la piel que establecen los queratinocitos forma una estructura muy cohesionada entre los distintos estratos gracias a los complejos de unión. La epidermis puede ser más o menos gruesa, dependiendo de las tensiones mecánicas a las que se haya sometida. Por ejemplo, es más gruesa en la palma de las manos o en aquellas zonas de fricción frecuente. Independientemente de su grosor se suele dividir en cuatro estratos, que de adentro a fuera son basal o germinativo, espinoso, granuloso y córneo (Mejías et al. 2016, p. 4).

En la piel gruesa puede distinguirse a veces un estrato adicional entre el granuloso y el córneo denominado estrato lúcido. En el estrato basal es donde se da la proliferación de los queratinocitos, los cuales van desplazándose hacia la superficie y madurando hasta convertirse en células muertas queratinizadas que forman el estrato córneo. Esto es una especie de paradoja, ya

que al mismo tiempo en que la epidermis debe mostrar una enorme estabilidad sus células también tienen que ser dinámicas para regenerar el tejido constantemente y responder frente a posibles lesiones (Mejías et al., 2016, p. 4).

Figura 1. La piel.



Nota: Jiménez (2009).

En la epidermis se encuentran otros tipos celulares, además de los queratinocitos. Los melanocitos sintetizan la melanina, la cual protege frente a los rayos ultravioleta. Las células de Langerhans o dendríticas forman parte del sistema inmune como células presentadoras de antígenos. Las células de Merkel tienen carácter sensorial. Estos tres tipos celulares se encuentran distribuidos de forma laxa en los estratos profundos de la epidermis. Como todos los epitelios, la epidermis presenta características típicas como carecer de vasos sanguíneos y descansar sobre una capa de matriz extracelular muy diferenciada denominada lámina basal (Mejías et al., 2016, p. 4).

La dermis se sitúa debajo de la lámina basal y está formada por tejido conectivo. Su misión es dar soporte mecánico y nutrir a la epidermis y sus derivados. Existen proyecciones de la dermis hacia la epidermis denominadas papilas dérmicas, las cuales están rodeadas por expansiones de la epidermis denominadas crestas epidérmicas. Tanto papilas como crestas son más frecuentes en la piel más gruesa, aquella sometida a más estrés mecánico. Se pueden distinguir dos capas en la dermis (Mejías et al., 2016, p. 4).

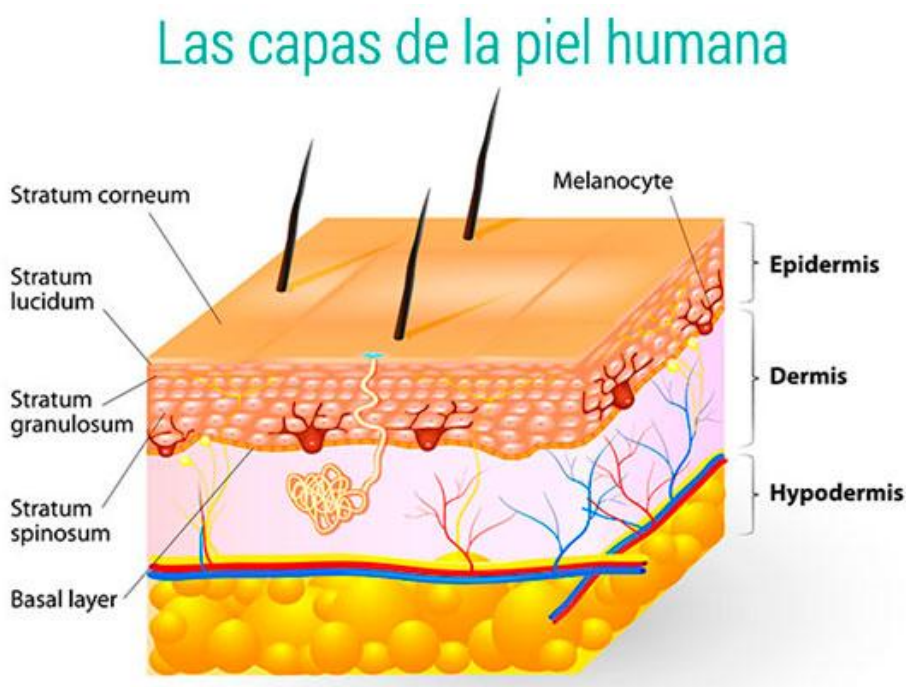
La capa más externa denominada papilar, que forma parte de las papilas dérmicas, está formada por conectivo laxo que posee una gran cantidad de capilares sanguíneos encargados de alimentar a la epidermis, además de regular la temperatura corporal mediante vasodilatación y vasoconstricción. Existen también numerosas prolongaciones de células sensoriales, algunas de las cuales llegan hasta la epidermis. La capa más profunda de la dermis se denomina reticular y es tejido conectivo denso con menor número de células y con fibras de colágeno más gruesas (Mejías et al., 2016, p. 5).

Bajo la dermis se encuentra la hipodermis, también llamada tejido subcutáneo o panículo adiposo. Está formada principalmente por células adiposas rodeadas de tejido conectivo laxo y presenta un grosor distinto dependiendo de la zona del cuerpo que se considere. Las zonas de máximo grosor de la hipodermis varían con la edad y es diferente en hombres y mujeres. En las zonas de la cabeza la dermis se continúa directamente con el hueso y por tanto carece de hipodermis. A veces, en la dermis o hipodermis es posible encontrar células musculares lisas responsables de la erección de los pelos, y en algunos casos células musculares estriadas como en el cuello y la cara (Mejías et al., 2016, p. 5).

Los derivados de la piel son pelos, uñas y glándulas, todos ellos formados por la inducción de la dermis. Los pelos crecen en invaginaciones epidérmicas especializadas

denominadas folículos pilosos, los cuales tienen distribución desigual por el cuerpo. Asociadas a los folículos pilosos se encuentran las glándulas sebáceas y las sudoríparas de tipo apocrino, las cuales liberan sus contenidos a la luz del folículo. Mientras, las glándulas sudoríparas de tipo ecrino se distribuyen por todo el cuerpo humano y liberan su contenido directamente a la superficie epidérmica. Las uñas son placas de queratina endurecida con abundancia de azufre (Mejías et al., 2016, p. 6).

Figura 2. Capas de la piel.



Nota: Jiménez (2009).

Las glándulas sudoríparas ecrinas son tubulares no ramificados que liberan su contenido en la superficie de la piel. En humanos se distribuyen prácticamente por todo el cuerpo y son más abundantes en las palmas de las manos y en las plantas de los pies, estas constan de una porción secretora y de otra excretora. La porción secretora está formada por epitelio cúbico o cilíndrico simple, el cual es tubular, muy enrollado y forma una estructura denominada glomérulo que se

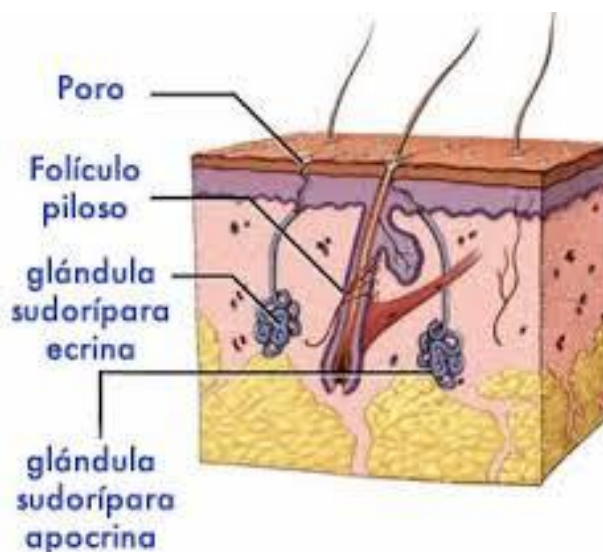
encuentra en la dermis profunda o en la hipodermis. Posee una lámina basal patente y se distinguen tres tipos de células (Mejías et al., 2016, p. 6).

Las células principales, de aspecto más claro, poseen un núcleo esférico a media altura y son serosas. Su citoplasma tiene aspecto vacuolado con numerosas vesículas de grasa y a veces pigmentos, además producen sustancias disueltas en solución acuosa. Las células mucígenas son más oscuras, más ricas en retículo endoplasmático y contienen algunos gránulos de secreción basófilos, estas producen glucoproteínas mucosas. Entre la base de estos tipos celulares y la lámina basal se encuentran las células mioepiteliales, las cuales ayudan a expulsar el producto de secreción (Mejías et al., 2016, p. 12).

La porción excretora que conduce el producto de secreción hacia la superficie llega hasta la epidermis haciendo numerosas ondulaciones. Está formada por una o dos capas de células cúbicas. Aquí no aparecen células mioepiteliales bajo la lámina basal. En la epidermis el conducto pierde su revestimiento de células cúbicas y serpentea a modo de espiral por los estratos epidérmicos hasta llegar a la superficie, donde se abre en el denominado poro sudoríparo (Mejías et al., 2016, p. 6).

Las glándulas sudoríparas tienen una función muy importante en la termorregulación, ya que mediante la evaporación del agua en sus productos de secreción se elimina calor. Su actividad está controlada por el sistema nervioso autónomo parasimpático. También se produce sudoración emocional controlada por el sistema nervioso autónomo simpático (Mejías et al., 2016, p. 12).

Figura 3. Glándula sebacea.



Nota: Google imágenes (2018).

Alarcón, Delgado, D'Auria, Del Campo y Ferrer (2016) afirman que la piel contiene numerosos microhábitats condicionados por las variaciones anatómicas como los surcos, el vello, las glándulas sudoríparas y sebáceas. De forma general, en la piel se ha descrito una densidad bacteriana media de 1×10^7 bacterias por cm^2 que está formada por al menos 150 especies, siendo predominantes los géneros *Corynebacterium*, *Propionibacterium* y *Staphylococcus* (p. 7).

Es importante diferenciar entre la microbiota habitual de la piel a la que se denomina como microbiota residente y la microbiota transitoria que se puede adquirir tras la exposición a superficies contaminadas. A su vez, las bacterias de la piel pueden tener un comportamiento comensal o patogénico. Cada cuatro semanas la piel se renueva por completo, eliminando las células más superficiales mediante descamación y también bacterias de la microbiota residente (Alarcón et al., 2016, p. 7).

Figura 4. Flora de la piel.



Nota: Google imágenes (2018).

Staphylococcus aureus

Cervantes et al. (2014) mencionan que el género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogston introdujo el nombre de *Staphylococcus*, proveniente del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración (p. 30).

Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula (aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo) y son anaerobias facultativas. La mayoría de los estafilococos producen catalasa, una enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre; característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos (Cervantes et al., 2014, p. 30).

Figura 5. Staphylococcus aureus.



Nota: Google imágenes (2018).

Zendejas, Flores y Soto (2014) clasifican la taxonomía del *Staphylococcus aureus* de la siguiente forma:

Tabla 1. Taxonomía de *Staphylococcus aureus*

Reino	Bacteria
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Staphylococcaceae
Género	Staphylococcus
Especie	S.aureus
Nombre Binomial	Staphylococcus Aureus

En los últimos años, la incidencia de bacteriemia por *Staphylococcus* ha aumentado significativamente, debido a que la especie *Staphylococcus aureus* de esta familia bacteriana se

ha convertido en la principal causa de infecciones en el torrente circulatorio (BSI) e intoxicaciones ocasionadas por alimentos (Zendejas et al., 2014, p. 130).

La patogenicidad de las infecciones por *Staphylococcus aureus* se relaciona con diversos componentes de la superficie bacteriana. De manera general, los componentes del microbio son peptidoglicanos y ácidos teicoicos, además de la proteína A. De esta forma la patogenia provocada por este microorganismo surge cuando se produce la combinación de los factores de virulencia y la disminución de las defensas del huésped (Zendejas et al., 2014, p. 130).

Algunas condiciones propician a que *Staphylococcus aureus* posea características de virulencia y daño bastante particulares, asociado a esto, la situación se ve agravada debido a que el patógeno ha ido desarrollando múltiple resistencia contra los antibióticos, propiciando que cada vez sea mucho más difícil el tratamiento y la curación de las enfermedades ocasionadas por esta bacteria (Zendejas et al., 2014, p. 130).

Staphylococcus aureus es un microorganismo que se encuentra ampliamente diseminado en el ambiente ya que posee características particulares de virulencia y resistencia contra antibióticos, lo cual representa un grave problema de salud, pues su distribución se extiende a nivel mundial y el impacto en la morbimortalidad es considerable a nivel comunitario e intrahospitalario. En los humanos causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas y su principal impacto es ocasionado por las cepas de *Staphylococcus aureus*, que son sumamente resistentes a la meticilina y otros antibióticos que antes sí eran eficaces contra el tratamiento de las infecciones (Zendejas et al., 2014, p. 129).

Patogenia

La patogenia de las infecciones por *Staphylococcus aureus* según Borraz (2006), se produce al combinarse los factores de virulencia bacteriana con una disminución de las defensas del huésped. En su acción patógena intervienen los compuestos de la pared celular y la producción de enzimas y toxinas favorecedoras de la invasión tisular, además de su capacidad para diseminarse y multiplicarse en los tejidos del huésped (p. 5).

La infección por *Staphylococcus aureus* se produce tras lesiones cutáneas, traumáticas o quirúrgicas que favorecen la penetración del microorganismo desde la piel hasta los tejidos profundos, desde esos puntos puede producir bacteriemia y cuadros metastásicos. Las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* generalmente son supurativas y tienden a la formación de abscesos (Borraz, 2006, p. 8).

Las infecciones de piel y de partes blandas se caracterizan por la formación de vesículas que comienzan en los folículos pilosos propagándose a los tejidos vecinos. La foliculitis es una infección piogénica superficial del folículo piloso. Su extensión al tejido perifolicular da lugar al forúnculo (Borraz, 2006, p. 9).

Otras infecciones cutáneas por *Staphylococcus aureus* son impétigo, una infección superficial que afecta sobre todo a niños en áreas expuestas. Otras de las enfermedades son mastitis, hidradenitis supurada, celulitis, fascitis y paroniquia (Borraz, 2006, p. 10).

Figura 6. Celulitis.



Nota: Google imágenes (2018).

Infecciones por invasión

Seija (2008) afirma que el primer paso de la infección es la adherencia y colonización de las células del huésped. Se describen tres tipos de adherencia, en primer lugar, la adherencia de las células a la mucosa nasal mediada por los ácidos teicoicos y también la adherencia de la mucina a la mucosa nasofaríngea. Por otro lado, la adherencia en piel traumatizada o pequeñas disrupciones, así como también de objetos extraños y estructuras subendoteliales. Esta adherencia envuelve muchas proteínas de la matriz extracelular como fibronectina, fibrinógeno, elastina, colágeno y otras, estas interaccionan con diferentes receptores de *Staphylococcus aureus* antes mencionados. Por último, la adherencia de *Staphylococcus aureus* en las células endoteliales durante los eventos de sepsis es un proceso complejo donde están involucradas la fibronectina y el fibrinógeno (p. 262).

Una vez los microorganismos atravesaron la barrera cutaneomucosa, llegan al tejido subcutáneo o submucoso y se diseminan rápidamente formando abscesos, lo cual es la lesión típica producida por este microorganismo. Los mecanismos de la invasión son poco conocidos, pero a este nivel se desencadena la respuesta inflamatoria del huésped que contribuye a la

formación de los abscesos. La respuesta defensiva más importante por parte del huésped son los PMN. Algunas veces el germen puede seguir invadiendo, buscando áreas más profundas y vasculares. Una vez se encuentran alrededor o dentro de los huesos, o bien, protegidos dentro de coágulos, los microorganismos se hacen bastante resistentes al ataque y erradicación por los mecanismos defensivos del huésped (Seija, 2008, p. 262).

Solo la mayor intensidad de los factores bacterianos junto al fracaso de los mecanismos defensivos del huésped puede llevar a que las bacterias lleguen a la corriente sanguínea, diseminarse y producir focos de infección a distancia llamados abscesos metastásicos. Los eventos que llevan a la sepsis y muerte aún no son del todo conocidos. Aparentemente los ácidos teicoicos y el peptidoglicano podrían actuar como la endotoxina de los bacilos Gram negativos (Seija, 2008, p. 262).

Infecciones por acción de toxinas

Estas infecciones están causadas por la liberación al medio de sustancias tóxicas que pueden ejercer su acción a cierta distancia del foco infeccioso.

Síndrome de piel escaldada: Se debe a la producción de la toxina exfoliativa en un foco que luego pasa al torrente sanguíneo, pudiendo diseminarse hasta regiones alejadas del foco donde no es posible aislar ningún germen. Esta toxina produce la formación de ampollas y la subsiguiente descamación de láminas epidérmicas que puede estar localizada en una región o estar diseminada por todo el cuerpo. Se presenta con mayor frecuencia en recién nacidos y niños pequeños (Seija, 2008, p. 262).

Síndrome del shock tóxico: Es un cuadro grave que en el pasado se ha asociado a la utilización de tampones vaginales por parte de mujeres jóvenes. El microorganismo prolifera en

el tampón contaminado y produce la toxina del shock tóxico. El cuadro clínico está caracterizado por fiebre, hipotensión, exantema cutáneo en manos y pies, grados variables de vómitos, diarrea, falla renal, cefalea y conjuntivitis. Evoluciona al shock grave en 48 horas. También se asocia a heridas traumáticas o quirúrgicas (Seija, 2008, p. 262).

Intoxicaciones alimentarias: Se producen por la contaminación de alimentos que suelen ser de elevado contenido en proteínas, hidratos de carbono y con pH superior a 5 como pasteles, helados y salsas, los cuales permiten un rápido crecimiento bacteriano. La mala refrigeración y conservación hacen que el microorganismo prolifere y si es una cepa productora de enterotoxina termoestable, la libera en cantidad suficiente como para producir intoxicación. El tiempo de incubación es corto (de 1 a 6 horas) y los síntomas son vómitos y diarrea de hasta dos días de duración, en general no se presenta fiebre y normalmente es de rápida recuperación. Este proceso solo requiere hidratación y no necesita de tratamiento antibiótico (Seija, 2008, p. 263).

Identificación de *Staphylococcus aureus*

Núñez (2007) menciona que el proceso correcto de las muestras en el laboratorio de microbiología es fundamental para el diagnóstico de un proceso infeccioso. Para ello es indispensable partir muestras representativas del cuadro en estudio. Para un diagnóstico de infección por *S. aureus* es necesario emplear diferentes pruebas de laboratorio, por ejemplo, Tinción de Gram, Siembra, Agar S 110, prueba de catalasa y otras (p. 22).

Tinción de Gram

En muestras de tejido o líquidos estériles la tinción de Gram permite visualizar la presencia de gérmenes, lo que facilita la instauración de un tratamiento. Los líquidos se deben centrifugar y realizar la tinción con el material sedimentado. Para el estudio de tejidos se realizan

improntas sobre láminas de vidrio. Habitualmente se fijan con calor, aunque se señala que la fijación con metanol, sobre todo en muestras que contengan eritrocitos, mejora la calidad de la tinción (Núñez, 2007, p. 22).

Siembra

Las colonias de *S. aureus* generalmente no son difíciles de reconocer tras ser sembradas en agar, alcanzan un tamaño de 2 a 3 mm de diámetro tras 24 horas de incubación a 35 grados centígrados o más de 7 mm después de 48-72 horas (Núñez, 2007, p. 22).

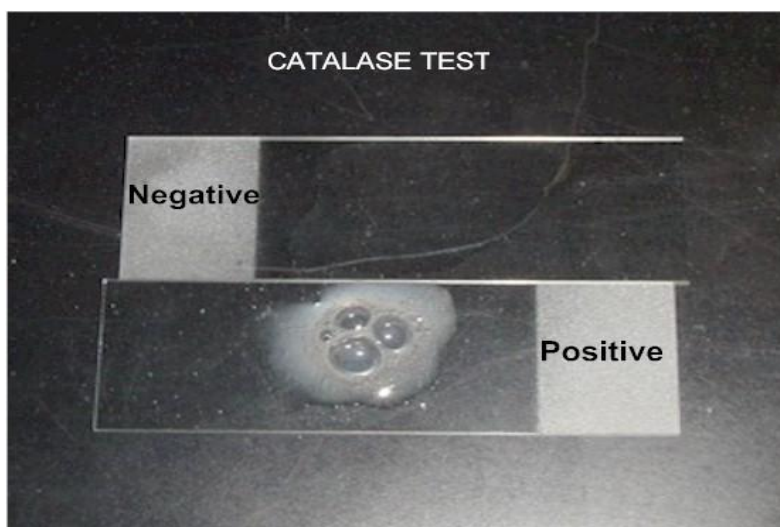
Agar S110

Es un medio selectivo para el aislamiento e investigación de *Staphylococcus*. El medio contiene gelatina y manitol que permiten el aislamiento de estafilococos que atacan y degradan dicha sustancia (Núñez, 2007, p. 22).

Prueba de catalasa

Las bacterias que viven en un ambiente aerobio necesitan enzimas capaces de neutralizar esas formas tóxicas como catalasa, la cual transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular. El *Staphylococcus aureus* es la única especie de origen humano capaz de producir catalasa. La prueba es positiva al poner en contacto una bacteria con actividad catalasa y peróxido de hidrógeno al 3%, donde se producen burbujas de oxígeno (Núñez, 2007, p. 23).

Figura 7. Prueba de catalasa.



Nota: Google imágenes (2018).

Enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*

Barrios (2012) menciona que las infecciones de piel y tejidos blandos son las infecciones más frecuentes producidas por *Staphylococcus aureus*. Es responsable de más del 70% de infecciones de piel en niños, que suponen una quinta parte de las consultas a urgencias pediátricas, siendo la causa más común de: impétigo, foliculitis, forunculosis, celulitis, paroniquia e infección de heridas. La severidad de estas infecciones es variable, desde infecciones superficiales leves que en muchos casos no se detectan hasta infecciones profundas o complicadas que ponen en peligro la vida (p. 35).

Infecciones bacterianas de la piel

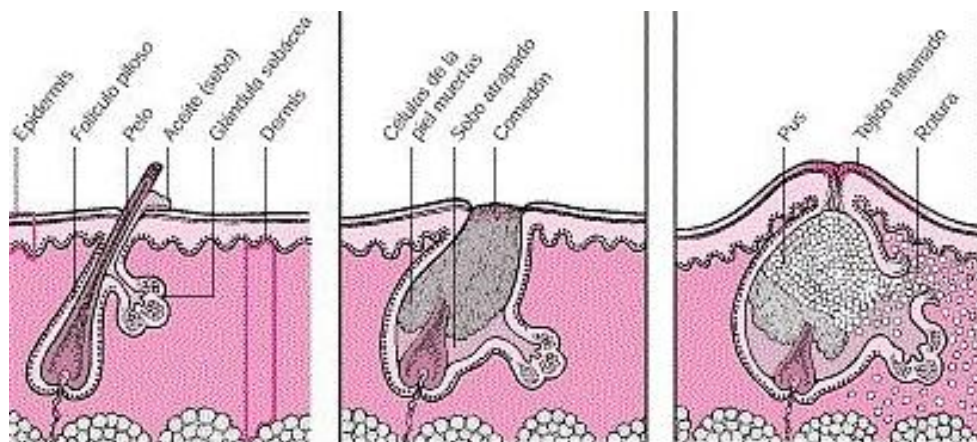
Moroga y Martínez (2012) mencionan que las infecciones bacterianas de la piel y las partes blandas incluyen desde formas clínicas leves (piodermatitis) hasta otras que incluso pueden

poner en riesgo la vida del paciente (fascitis necrotizante). Estas infecciones se clasifican según la estructura de la piel en que se localizan, incluyendo los anexos cutáneos y la profundidad de la afectación, desde la epidermis hasta el músculo (p. 236).

Forúnculo

Bermejo, Clara et al. (2009) explican que el forúnculo es una infección aguda del folículo piloso en su parte más profunda con perifoliculitis que desorganiza la dermis dando como resultado una cicatriz. Consiste en un nódulo inflamatorio profundo que se suele desarrollar a partir de una foliculitis y que no sobrepasa la dermis. El nódulo, al inicio doloroso, firme y rojizo, se hace rápidamente fluctuante con tendencia a drenar su contenido al exterior. La forunculosis es la aparición repetida o simultánea de varios forúnculos en un paciente (p. 48).

Figura 8. Formación de un forúnculo.



Nota: Google imágenes (2018).

Características de los forúnculos

Sánchez (2013) menciona que el forúnculo comienza como un nódulo, folículo, concéntrico, duro, rojizo y sensible en la piel pilosa que aumenta de tamaño, se vuelve doloroso y fluctuante después de varios días (se forma un absceso). Más tarde se rompe, con secreción de pus y sustancia necrótica. La forunculosis recurrente es en general definida como cuatro o más episodios en un año (p. 570).

Factores predisponentes para la aparición de forunculosis

Locales:

- ❖ Zonas pilosas, en particular regiones sometidas a roces, oclusión y transpiración (cuello, dorso, nalgas y axilas).
- ❖ Disrupciones de la barrera cutánea secundarias al rascado por prurito como consecuencia de dermatosis preexistente o no.
- ❖ Las personas con transpiración excesiva o con falta de higiene parecen tener mayor predisposición a la forunculosis recurrente (Bermejo et al., 2009, p. 49).

Generales:

- ❖ Obesidad, discrasias sanguíneas, defectos en la función de los neutrófilos como en el eczema, tratamiento con glucocorticoides y agentes citotóxicos, inmunosupresión, insuficiencia renal crónica y exposición a otras personas con forúnculos.

- ❖ En la diabetes existen evidencias de una mayor colonización de *Staphylococcus aureus*, hecho que actuaría como facilitador en la aparición de infecciones cutáneas (Bermejo et al., 2009, p. 49).

Factores de riesgo para los forúnculos

El autor Pinheire (2017) menciona que todas las personas se hacen, con frecuencia razonable, pequeñas lesiones de piel en las regiones más propicias para la formación de los forúnculos, pero no siempre todos desarrollan forúnculos. Muchas veces nuestro sistema inmunológico es capaz de neutralizar la invasión de bacterias para el tejido subcutáneo (p. 2).

El riesgo de desarrollar forúnculos es mayor en personas con elevada colonización de bacterias *Staphylococcus aureus* en la piel y en la región dentro de las narinas, o en individuos con alguna deficiencia del sistema inmunológico. Factores genéticos también parecen estar relacionados, siendo la historia familiar de forunculosis un importante factor de riesgo (Pinheire, 2017, p. 2).

Además de la predisposición genética, también es posible citar otros factores de riesgo ya reconocidos para la formación de forúnculos:

- Diabetes mellitus.
- Insuficiencia renal.
- Cirrosis.
- Uso de drogas inmunosupresoras.
- VIH positivo.
- Enfermedades crónicas de la piel.
- Uso de drogas inyectables.

- Obesidad.
- Edad avanzada.
- Higiene personal deficiente.
- Uso de ropas apretadas.
- Regiones húmedas con exceso de pelo.

El convivio próximo con personas que suelen tener forúnculos con frecuencia parece aumentar el riesgo. Compartir ropas de cama, toallas y ropas personales también eleva el riesgo de forunculosis (Pinheire, 2017, p. 2).

Figura 9. Paciente con forúnculo.



Nota: Google imágenes (2018).

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas. La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de estos fármacos. Son las bacterias y no los seres humanos ni los animales los que se vuelven resistentes a los antibióticos. Estas bacterias farmacorresistentes pueden causar infecciones en el ser humano y en los animales, las cuales son más difíciles de tratar que las no resistentes (OMS, 2017).

La OMS (2017) indica que la resistencia a los antibióticos va en aumento y que la mayoría de los fármacos que se están desarrollando son modificaciones de los ya existentes que ofrecen soluciones a corto plazo. Además, indica que hay muy pocas opciones terapéuticas posibles para las infecciones resistentes a los antibióticos, señaladas como las mayores amenazas para la salud.

La resistencia a los antibióticos se acelera con el uso indebido y abusivo de estos fármacos y con las deficiencias de la prevención y control de las infecciones. Se pueden adoptar medidas en todos los niveles de la sociedad para reducir el impacto de este fenómeno y limitar su propagación (OMS, 2017).

La OMS (2017) asegura que la resistencia a los antimicrobianos no es una enfermedad, sino una limitación de opciones terapéuticas. El problema básico es que se dependa de los antimicrobianos para tratar infecciones.

Para prevenir y controlar la propagación de la resistencia a los antibióticos, la población general puede:

- ❖ Tomar antibióticos únicamente cuando los prescriba un profesional sanitario certificado.
- ❖ No pedir antibióticos si los profesionales sanitarios dicen que no son necesarios.
- ❖ Seguir siempre las instrucciones de los profesionales sanitarios con respecto al uso de los antibióticos.
- ❖ No utilizar los antibióticos que le hayan sobrado a otros.
- ❖ Prevenir las infecciones lavándose frecuentemente las manos, preparando los alimentos en condiciones higiénicas, evitando el contacto cercano con enfermos,

adoptando medidas de protección en las relaciones sexuales y manteniendo las vacunaciones al día (OMS, 2017).

Prueba de sensibilidad a antibióticos (PSA)

La prueba de sensibilidad a los antibióticos es una prueba que determina cuál o cuáles antibióticos presentan actividad ante una bacteria determinada y en qué proporción lo hacen. Mediante esta técnica, no solo es posible identificar cuáles antibióticos son efectivos ante una bacteria, sino que también permite determinar la concentración mínima inhibitoria, según mencionan Lourdes y Geoconda (Lourdes y Geoconda cit. en Xatruch, 2015, p. 84).

También, las mismas autoras destacan que la Concentración Mínima Inhibidora (CMI) es la medida de la sensibilidad de una bacteria ante un antibiótico. Es la mínima cantidad de antimicrobiano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en unas condiciones normalizadas. Es el método habitual utilizado en los laboratorios de microbiología clínica. Para llevarlo a cabo, es necesario utilizar cepas control (de referencia) con el fin de que los resultados sean reproducibles y comparables.

Este método ofrece información sobre la sensibilidad de las bacterias S (sensible), I (intermedia) y R (resistente).

Lourdes y Geoconda (Lourdes y Geoconda cit. en Xatruch, 2015, p. 85) mencionan que una bacteria es sensible a todas aquellas sustancias que han generado un halo de inhibición de 30 a 35 mm de diámetro. De la misma forma, se ha descrito como regla general a una cepa resistente a toda aquella que genera halos de inhibición menores a 15 mm e intermedios cuando es imprevisible. Para poder realizar estas pruebas se suelen emplear dos técnicas: dilución en caldo o agar y difusión en agar.

Figura 10. Prueba de sensibilidad a antibióticos.

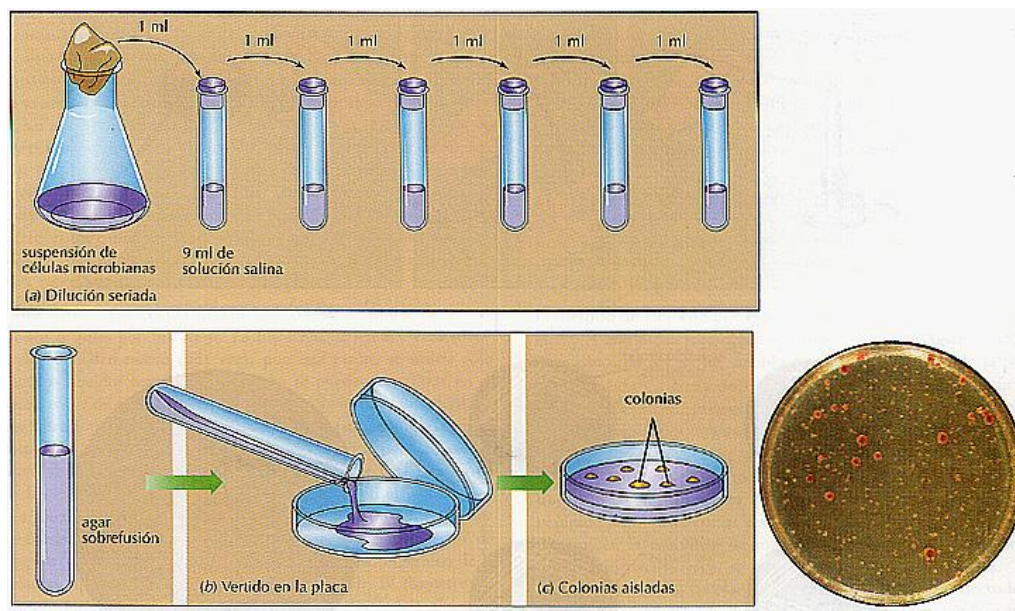


Nota: Google imágenes (2018).

Dilución en caldo o agar

Consiste en someter a crecimiento la bacteria en un tubo pequeño transparente e incoloro que contiene un medio de cultivo en el cual se pueda desarrollar el microorganismo. Dentro del caldo, en cada tubo se adicionan de manera ascendente distintas concentraciones del antibiótico. El primer valor que no muestre crecimiento microbiano se toma como la concentración mínima inhibitoria del antibiótico. De la misma forma se puede evaluar la concentración mínima bactericida o por sus siglas CMB, la cual es la mínima concentración de antibiótico que produce la muerte de las bacterias explican Lourdes y Geoconda (Lourdes y Geoconda cit. en Xatruch, 2015, p. 85).

Figura 11. Dilución en caldo o agar.



Nota: Google imágenes (2018).

Ajo

Catalán y Tribaldos (2013) mencionan que aunque se desconoce con exactitud el origen del ajo sí se tiene constancia de que es una de las hortalizas más antiguas usadas por el hombre. Se acepta que es originario de Asia Central (Afganistán, Tadschikistán, Uzbekistán). A partir de allí y continuando en épocas remotas (miles de años), el ajo se extendió a través de Asia Menor (Egipto) hasta llegar a África, desde donde se propagó al área mediterránea y de ahí al resto del mundo, siendo España la que a finales del siglo XV lo introdujo en América (p. 13).

Ya era utilizado por los sumerios en el año 3000 a.C. para luchar contra enfermedades, usándolo para combatir los parásitos y prevenir epidemias. En China, se estima que en el año 2000 a.C. ya se conocía el ajo y formaba parte de la dieta diaria como condimento picante y era un componente medicinal importante para combatir, principalmente; enfermedades respiratorias, digestivas e infecciones. En Egipto (1500 a.C.), alimentaban con ajos a los esclavos que construían las pirámides, porque entendían que les aportaba energía (Catalán et al., 2013, p. 13).

Pero no solo eso, Egipto dejó constancia de que era un alimento ideal para las cefaleas, los trastornos cardíacos, como remedio a las mordeduras de serpientes o para combatir parásitos, tumores, etc. Además, lo mezclaban con miel, remedio “infalible” para solucionar los problemas dentales. Otro dato relevador es que en la tumba del rey Tutankamón (descubierta en el año 1922) se encontraron dientes de ajo, de los cuales se piensa que además de usarlos en los procesos de momificación, estos indican que se les empleaba como moneda (Catalán et al., 2013, p. 13).

Figura 12. El ajo en la antigüedad.



Nota: Google imágenes (2018).

En Grecia, en diversas excavaciones realizadas en ciudades y templos, incluso en el palacio de Knossos en Creta, se encontraron ajos bien preservados. Eran parte de la dieta de los soldados, pues consideraban que aportaba energía. El Codex Ebers, un papiro médico que data del 1550 a.C., contiene 22 menciones sobre el ajo y su aplicación en el control de cardiopatías, parásitos intestinales y tumores. En Grecia se utilizó con fines dietéticos y curativos: Homero

rescató a Ulises con los poderes mágicos de la planta; en las Olimpiadas los atletas comían un diente de ajo antes de empezar las pruebas (Catalán et al., 2013, p. 13).

Hipócrates, recordado como el padre de la Medicina, lo utilizaba como remedio para enfermedades pulmonares y para dolores abdominales, y hablaba de sus propiedades diuréticas y laxantes. Aristóteles lo recomendaba contra la hidrofobia. El historiador griego Herodoto narra que los esclavos egipcios consumían ajo para evitar que las epidemias de tifus y cólera les restaran fuerzas durante la construcción de la pirámide de Keops. El ajo, antibiótico natural 2 Cabeza de ajo morado con las camisas quitadas ajos copia Maquetación (Catalán et al., 2013, p. 13).

En la Edad Media se usó, además de fines curativos, para combatir brujas, vampiros y malos espíritus. La Escuela de Medicina de Salerno (Nápoles, Siglo X) fue un centro de difusión de las bondades del ajo como buen preservador de la salud. En el Renacimiento, el ajo, también fue considerado como una planta medicinal y era cultivado en jardines de hierbas terapéuticas en diferentes ciudades de Italia. Enrique IV de Francia fue bautizado con agua que contenía ajo (Catalán et al., 2013, p. 14).

Además, los ingleses incluían ajo en sus medicinas para aliviar dolores de dientes y constipaciones. Se trata del mismísimo doctor Pasteur (finales del siglo XIX) quien se encarga de demostrar que el ajo es un antibiótico natural y es el premio Nobel Arthur Stoll, médico suizo, quien da a conocer la alicina, el gran principio activo del ajo con poder bactericida. Durante la II Guerra Mundial se repartía entre los soldados para que lo usaran en las heridas. Hoy en día, los chinos para no olvidar sus orígenes los dan en algunas escuelas diariamente a sus alumnos (Catalán et al., 2013, p. 14).

Según Ramírez, Narcedalia y Martínez (2016) el ajo es una planta de nombre científico *Allium sativum*, el término *Allium* procede de la palabra *all* que significa “ardiente o caliente” mientras que el nombre “*sativum*” procede del latín que significa “cultivado”. Tiene origen en Asia Central, en estado silvestre se encuentra en la India, el Cauca y en la parte occidental, desde Asia Central, a través de Asia Menor y Egipto, se difundió por toda Europa, de donde pasó a África y luego del descubrimiento a América (p. 39).

Tabla 2. Clasificación taxonómica del ajo

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsidae
Orden	Asparagales
Familia	Amaryllidaceae
Subfamilia	Allioideae
Tribu	Allieae
Género	<i>Allium</i>
Especie	<i>Sativum</i>
Nombre científico	<i>Allium sativum</i> L
Nombre común	Ajo, ajo silvestre

Nota: Rueda (2013).

Las hojas alcanzan un tamaño de 20 a 50 cm de longitud y de 1 a 3 cm de ancho. En las vainas de las hojas no se acumulan sustancias nutritivas y al morir estas, se convierten en protectoras de los bulbos. El bulbo del ajo está compuesto por varios bulbillos, denominados

dientes, unidos a una base. En las axilas de las hojas se forman de seis a siete dientes, por lo que reciben el nombre de hojas fértiles. Las hojas de la primera hasta la quinta o sexta reciben el nombre de hojas estériles (Ramírez et al., 2016, p. 40).

Figura 13. Ajo.



Nota: Google imágenes (2018).

Los dientes están envueltos por las túnicas interiores y el bulbo completo por las exteriores. El tamaño de los dientes formados en las axilas de las hojas fértiles de distintas categorías es desigual. Como regla fundamental, los dientes más grandes se forman en las hojas fértiles y luego su peso promedio disminuye paulatinamente. El número de dientes en un bulbo no es igual para las diferentes variedades (Ramírez et al., 2016, p. 40).

Época de siembra

Calzada, Narváez, Aguilar, Romero, López, Flores, Ornelas y Flores (2017) comentan que el ajo es una planta que necesita temperaturas frescas y días cortos durante las primeras etapas de su ciclo vegetativo para favorecer el desarrollo de las hojas y al final, necesita de temperaturas cálidas y días largos para promover el desarrollo del bulbo (p. 11).

Selección de la semilla

Los criterios que deben considerarse para hacer una buena selección de semilla son los siguientes: sanidad, tamaño, peso, forma, color y firmeza del bulbo. Es preferible comenzar a “desgranar” los bulbos cinco días antes de la siembra para evitar el vaciado de los dientes por pérdida de humedad, lo que provoca la reducción del poder germinativo. El rendimiento y calidad del ajo están asociados con el tamaño de la semilla utilizada (Calzada et al., 2017, p. 14).

Por ello se aconseja separar los dientes por tamaño: grandes (6 gramos [g]), medianos (3 g), chicos (1.5 g) y muy chicos (0.5 g). Para la siembra, es recomendable utilizar los de tamaño grande y mediano; los chicos se deben eliminar o sembrar por separado, además, cuando la siembra va a ser mecánica es conveniente clasificar la semilla de acuerdo con el tamaño del diente para calibrar la sembradora (Calzada et al., 2017, p. 14).

Cosecha

Para determinar el mejor momento de la cosecha se deben hacer muestreos periódicos de la parcela. Los mejores indicadores son cuando los tallos de las plantas están muy flojos y no presentan resistencia al doblarlos, cuando tengan bien marcados los dientes periféricos, las últimas envolturas de los dientes estén secas y cuando las capas protectoras de los dientes individuales muestren una apariencia de papel. Esto puede observarse fácilmente al hacer un

corte transversal y vertical de los bulbos en varios puntos del campo por cosechar (Calzada et al., 2017, p. 15).

Según Calzada et al. (2017) después de 10 a 15 días de haber suspendido el riego y cuando el suelo lo permita, se pasa una “cuchilla” accionada por un tractor por debajo de los bulbos para aflojarlos. Los bulbos se arrancan y se sacuden para quitarles la tierra, procurando no golpearlos uno contra otro ni contra el suelo para no dañarlos y evitar problemas en su empacado y almacenamiento. Los bulbos golpeados merman su precio o son rechazados por el comerciante y consumidor (p. 15).

Figura 14. Cultivo de ajo.



Nota: Google imágenes (2018).

Fertilización

El cultivo tiene dos etapas bien definidas, la primera corresponde al crecimiento de la planta y la segunda a la formación del bulbo. En los primeros meses se forma el vigor de la planta que determinará el potencial de rendimiento y en los dos últimos meses de desarrollo, el ajo

obtiene de 70% a 80% del peso, el tamaño y calidad del bulbo, por lo que es importante que los nutrientes estén al alcance de la planta durante estas etapas (Calzada et al., 2017, p. 14).

Para ello en el sistema de riego por gravedad es conveniente al menos tres épocas de fertilización, una previa a la plantación, otra a la primera escarda y la tercera antes de la formación de bulbos. En riego por goteo la aplicación de la dosis de fertilizante puede ser de manera continua desde antes de la siembra hasta el inicio de la formación del bulbo (Calzada et al., 2017, p. 14).

Figura 15. Fertilización.



Nota: Google imágenes (2018).

Riego

Para Calzada et al. (2017) el manejo del agua de riego es un factor importante para la obtención de calidad y altos rendimientos, por lo que debe realizarse de forma eficiente con el objetivo de ahorrar dinero, agua y maximizar su productividad. En la región se utiliza el sistema de riego por goteo y por gravedad como se describe a continuación.

Riego por goteo

Por experiencias obtenidas en el uso de este sistema, se reconoce que no hay diferencia en colocar la cinta de goteo en forma superficial o enterrada (10 a 15 cm) con goteros espaciados cada 30 cm y un gasto de 1 a 1.5 litros por hora (l/hr) (p. 5).

El principio básico del riego por goteo es mantener una humedad acorde a la demanda de la planta, tratando de conservar una humedad aprovechable de 60%.

Riego por gravedad

Cuando la siembra se realiza en seco, el primer riego se aplica procurando que el agua moje lentamente por trasporo y evitando que rebase el nivel del surco. Luego, de acuerdo con las condiciones climáticas y la textura del suelo de 5 a 10 días después del primer riego (o de la siembra si se sembró en húmedo), se aplica otro riego para uniformar la germinación y facilitar la emergencia de las plántulas (Calzada et al., 2017, p. 16).

Los riegos posteriores deberán aplicarse en intervalos de 15 a 20 días y mantener una humedad disponible del 60%. Cuando las temperaturas comiencen a elevarse los riegos deberán ser más frecuentes con una periodicidad de 8 a 10 días. El último riego se debe hacer a los 15 o 20 días antes de la cosecha para evitar agrietamientos de bulbos, lo cual afecta la calidad y dificulta su comercialización (Calzada et al., 2017, p. 16).

Figura 16. Fertilización



Nota: Google imágenes (2018).

Maleza

Calzada et al. (2017) comentan que el lento crecimiento del ajo y la falta de cobertura de la planta respecto al suelo ocasionan que sea fuertemente infestado por malezas a lo largo de su ciclo, lo que provoca una reducción en el rendimiento y calidad de los bulbos, además de dificultad en la cosecha. Las malezas que se presentan con mayor frecuencia durante su desarrollo son alambriillo, correhuela, chinita, chual, verdolaga, malva, pamita, cardo, mostaza y gramíneas como bermuda, zacate pinto, de agua (p. 17).

Bioquímica del ajo

Según Florencio (Florencio cit. en Toledano, 2017, p. 21) en la composición bioquímica del ajo fresco existen más de 100 compuestos biológicamente activos. Están presentes los

carbohidratos, compuestos azufrados, proteínas, fibras, aminoácidos libres, compuestos fenólicos, polifenoles y fitoesteroles. Tiene altos niveles de fósforo, potasio, azufre, zinc, moderados niveles de selenio y germanio, vitaminas A y C, bajos niveles de calcio, magnesio, sodio, hierro, manganeso y vitaminas del complejo B.

Muñoz (Muñoz cit. en Toledano, 2017, p. 22) comenta que al igual que con las cebollas, el micronutriente principal en el ajo es la vitamina C. Sin embargo, también es evidente que el ajo contiene otras vitaminas, particularmente B6, que está presente en niveles altos, así como un surtido de minerales en cantidades pequeñas, pero útiles.

Entre los compuestos bioactivos presentes en el ajo fresco destacan los siguientes grupos:

- Compuestos organosulfurados
- Fenoles
- Carbohidratos compuestos organosulfurados

Composición química del ajo

Entre las características más destacadas del ajo se encuentra su aroma y debido a ello estos alimentos se utilizan como condimento en la cocina. Los agentes responsables del olor y sabor son numerosos compuestos azufrados que aunque no desprenden ningún olor cuando el bulbo está entero, sí lo hacen una vez que se trocea o manipula debido a una serie de reacciones enzimáticas. García et al. (cit. en Camacho et al., 2009, p. 14).

En la tabla 3 se puede apreciar la composición química del ajo, por cada 100 gramos.

Tabla 3. Composición química del ajo por cada 100 gramos

Componentes	Medida	Promedio	Componentes	Medida	Promedio
Agua	G	6.05	Yodo	Ug	440
Proteínas	G	0.12	Boro	Ug	5.69
Lípidos	G	28.41	Vitamina E	Ug	100
Carbohidratos	G	1.42	Alfa-tocoferol	Ug	90
Calcio	Ug	460	Vitamina B1	Ug	200
Manganeso	Mg	1.40	Vitamina B2	Ug	80
Hierro	Ug	149	Nicotinamida	Ug	600
Cobre	Ug	575	Vitamina C	Mg	14
Zinc	Ug	10	Ácido salicílico	Ug	100
Molibdeno	Ug	1.80	Ácido láurico	Mg	24
Aluminio	Mg	134	Ácido esteárico	Mg	3
Fosforo	Mg	30	Ácido oleico	Mg	62
Cloro	Ug	2.70	Ácido linoleico	Mg	5.50

Nota: García et al. (cit. en Camacho et al., 2009, p. 14).

Tabla 4. Compuestos azufrados del ajo

Compuesto	Actividad biológica
Aliina	Hipotensora, Hipoglicemiante
Ajoeno	Previene la formación de coágulos, ayuda a disolverlos, antiinflamatorio, vasodilatador, hipotensor, antibiótico
Alicina y tiosulfatos	Antibiótico, antifúngico, antiviral

Alil mercaptano	Hipocolesterolemia, antifúngico, antiviral
Sulfuro de dialilo y afines	Hipocolesterolemia, previene la aterosclerosis, antitumoral, antidiabética, hipotensora
Sulfuro de dialilo y afines	Hipocolesterolemia, aumenta la producción de enzimas desintoxicantes, anticancerígeno, previene los daños químicos del ADN
S-alil-cisteina	Hipocolesteremia, antioxidantes, quimio protectores frente al cáncer

Nota: Souci et al. (cit. en Camacho et al., 2009, p. 14).

Tabla 5. Compuestos no azufrados del ajo

Compuesto	Actividad biológica
Adenosina	Hipotensora, vasodilatadora, miorelajante, estimula la síntesis de hormonas esteoidicas y estimula síntesis de Glucagon
Fructanos	Efectos cardioprotectores
Fracción proteica f-4	Estimula los mastocitos, por tanto ejerce efectos beneficiosos en el asma y la alergia
Quercitina	Estabiliza los mastocitos, por tanto ejerce efectos beneficiosos en el asma y la alergia
Saponinas (Gitonina F, Eurobosico B)	Hipotensoras, la Gitonina F es antivírica, el Eurobosico B es antifúngico
Escordina	
Ácidos Fenólicos	Antivíricos, antibacteriano
Selenio	Antioxidantes, antiinflamatorios

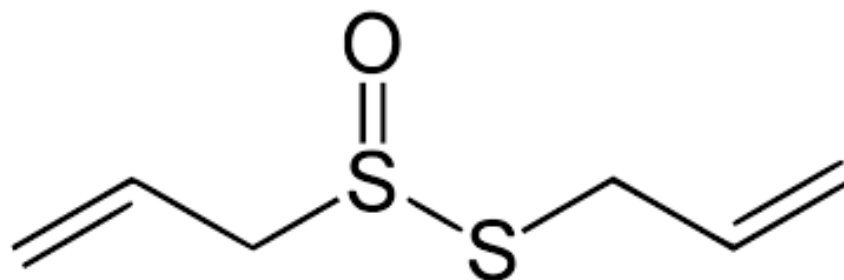
Nota: Drago et al. (cit. en Camacho et al., 2009, p. 14)

Alicina

Noris (2016) menciona que la alicina es un compuesto orgánico de azufre obtenido de ajo, una especie de la familia Alliaceae. La alicina cuenta con el grupo funcional tiosulfonato, RS (O)-SR. El compuesto no está presente en el ajo a menos que se produzca daño a los tejidos y se forma por la acción de la enzima sobre aliinase aliina. Fue primero aislado y estudiado en el laboratorio por Chester Cavallito en 1944. Este compuesto exhibe propiedades antibacterianas y antifúngicas (p. 22).

La inhibición de ciertas enzimas que contienen tiol en los microorganismos por la rápida reacción de tiosulfonatos con grupos tiol es el principal mecanismo implicado en el efecto antibiótico. Recientemente, se ha estudiado el mecanismo de acción de las moléculas de alicina puras con grupos tiol en más detalle. El principal efecto antimicrobiano de la alicina es debido a su interacción con importantes enzimas que contienen tiol. En el parásito ameba, alicina se encontró que inhibe fuertemente las proteasas de cisteína, alcohol deshidrogenasas, como así como las reductasas de tiorredoxina que son críticos para el mantenimiento del correcto estado redox dentro del parásito (Noris, 2016, p. 23).

Figura 17. Alicina.



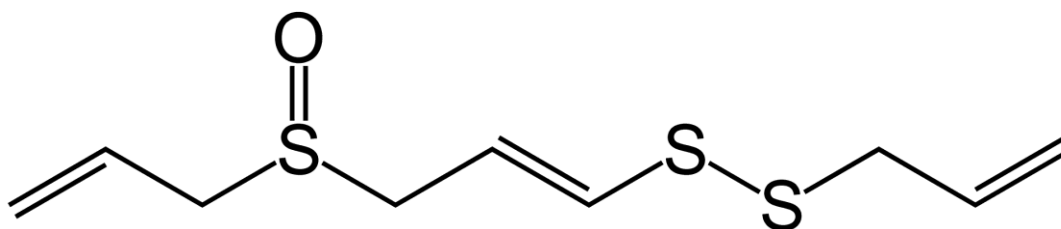
Nota: Google imágenes (2018).

Ajoene

Tasleem (Tasleem cit. en Corrales, 2014, p. 62) menciona que esta molécula se conoce bajo el nombre de ajoene, una palabra compuesta que relaciona el origen de la molécula, es decir, el nombre popular de la palabra ajo, en castellano, con la terminación ene, indicando la presencia de dobles enlaces. En la actualidad se conocen más de 100 componentes biológicamente activos derivados del ajo. Sin embargo, es la aliina el compuesto órgano-sulfurado que se encuentra en mayor proporción.

Ledezma et al. (Ledezma et al. cit. en Lemus et al., 2009, p. 318) menciona que el ajoene es un agente antifúngico que posee un mecanismo de acción que parece estar asociado a múltiples efectos en los hongos, provocando inhibición de la biosíntesis de fosfatidilcolina y la generación de un desorden del empaquetamiento de los fosfolípidos en la membrana, sin afectar la estructura principal del mosaico, adicionalmente, la inhibición de la enzima glutatión reductasa es fundamental en la regulación de la carga oxidativa. El uso de ajoene como agente antimicótico tópico en la terapéutica clínica de seres humanos ha sido demostrado con anterioridad, donde se ha evidenciado una línea de seguridad y una excelente efectividad.

Figura 18. Ajoene.



Nota: Google imágenes (2018).

Propiedades del ajo

Fuertes (2014, p. 6) menciona que el ajo ha sido utilizado como medicina natural desde hace siglos. Que hasta hoy, los más precisos métodos de análisis en el ajo han encontrado las siguientes aplicaciones medicinales:

- ❖ Antibiótico y antimicótico.
- ❖ Antifebril, estimulante, diurético y expectorante.
- ❖ Antioxidante.
- ❖ Previene la hipertensión y la mala circulación.
- ❖ Disminuye el colesterol y las grasas.
- ❖ Favorece la salud del aparato digestivo.
- ❖ Ayuda en casos de encefalitis.
- ❖ Recomendado en casos de diabetes.
- ❖ Colabora en la prevención de algunos casos de meningitis.
- ❖ Aliado contra los parásitos.
- ❖ Antibacteriano natural.

Propiedades antibacterianas

Según Noris (2016) las propiedades antibacterianas del ajo se han conocido durante mucho tiempo. Varias preparaciones de ajo han demostrado que presentan un amplio espectro de

actividad antibacteriana contra las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, incluyendo especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, y *Clostridium*. Incluso las bacterias ácido-resistentes tales como *Mycobacterium tuberculosis* son sensibles al ajo (p. 23).

Propiedades antifúngicas

También tienen un fuerte efecto antifúngico e inhiben la formación de micotoxinas como la aflatoxina de *Aspergillus parasiticus*, inhibe tanto la germinación de las esporas y el crecimiento de hifas. La Alicina es el componente principal responsable de la inhibición del crecimiento fúngico. Un extracto de ajo concentrado que contiene 34% alicina, 44% tiosulfatos totales y 20% vinylmations posee actividad fungicida contra tres cepas diferentes de *Cryptococcus neoformans* (p. 23).

Propiedades antiparasitario

Varios estudios han demostrado que el extracto es eficaz contra una gran cantidad de protozoos como: *Ranarum Opalina*, *Entozoon Balantidium*, *Entamoeba histolytica*, *Tripanosomas*, *Leishmania*, *Leptomonas* y *Crithidia*, llevándose a cabo una investigación sobre su posible uso como una antiparasitaria contra *Entamoeba histolytica*. Debido a estos resultados alentadores, se desarrolló un ensayo clínico en pacientes con *Giardiasis*. El ajo se estableció como un anti*giardiásico*, debido a la eliminación de los síntomas de todos los pacientes durante las 24 horas posteriores al tratamiento y la supresión total de cualquier indicio de *Giardiasis* en las heces dentro de las siguientes 72 horas (p. 23).

Propiedades antivirales

Los extractos de ajo frescos en los que se conoce la alicina siendo el principal componente activo han demostrado tener in vitro e in vivo la actividad antiviral. Entre los virus que son sensibles a los extractos de ajo son el citomegalovirus humano, influenza B, virus del herpes simple tipo 1, virus del herpes simple tipo 2, virus para influenza de tipo 3, virus de la estomatitis vesicular y el tipo de rinovirus humano 2. El producto de condensación alicina ajoeno parece tener en general una mayor actividad antiviral que la alicina. El ajoeno bloquea los procesos dependientes de integrina en un sistema de células infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (p. 24).

Aceite esencial

Linares (2008) señala que se conoce como “aceites esenciales” a los principales productos aromáticos que existen en diversas partes de las plantas. Debido a que se evaporan a temperatura ambiente por exposición al aire se denominan: aceites volátiles, aceites etéreos, aceites esenciales o esencias. Son productos obtenidos de materias primas naturales por destilación, habitualmente con agua o vapor como en casos de frutos cítricos mediante un proceso mecánico. A menudo, “los aceites esenciales” consisten en mezclas de productos químicos (p. 2).

Figura 19. Aceite esencial.



Nota: Google imágenes (2018).

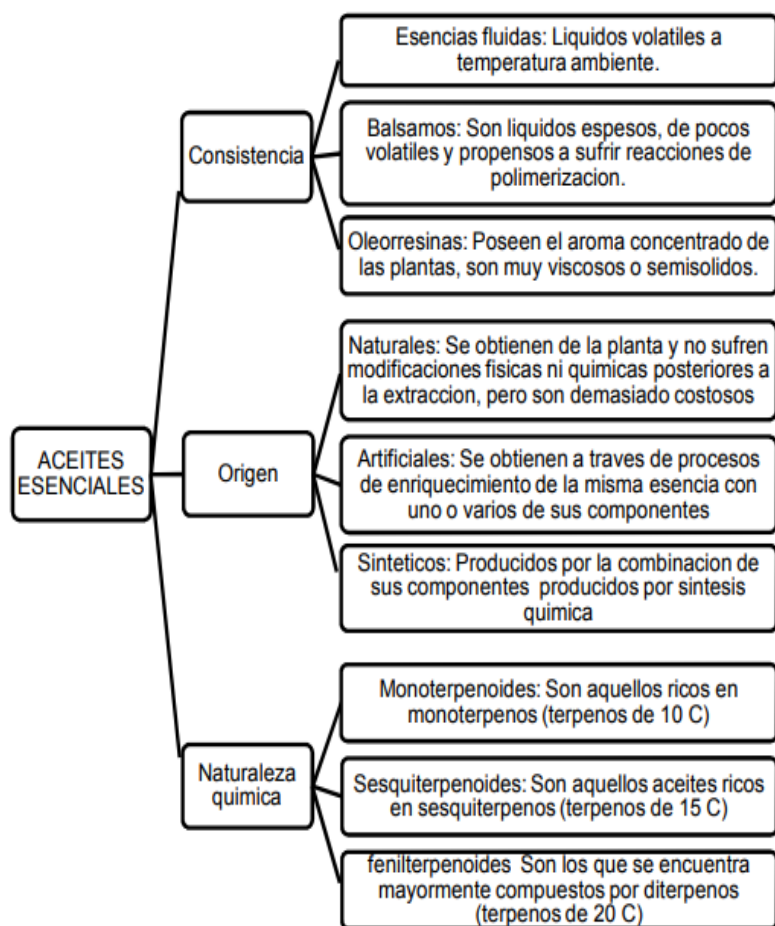
Procedencia de los aceites esenciales

Albarracin et al. (Albarracin et al. cit. en Contreras et al., 2012, p. 24) mencionan que a los aceites esenciales se les puede encontrar en diferentes partes de la planta: en las hojas (ajenojo, albahaca, eucalipto, hierba buena, mejorana, menta pachuli, romero, salvia, etc.), en las raíces (cúrcuma, jengibre, sándalo, valeriana, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anis, cardomomo, hinojo, comino, etc.), en el tallo (canela, etc.) y en las flores (lavanda, mazanilla, pretro, tomillo, etc.)

Clasificación de los aceites esenciales

En la figura 20 se puede apreciar la clasificación de los aceites esenciales.

Figura 20. Clasificación de los aceites.



Nota: Martínez (cit. en Contreras et al., 2012, p. 25).

Hidrodestilación

Según Ortuño (Ortuño cit. en Contreras et al., 2012, p. 37) se denomina hidrodestilación a la destilación de las flores u otras partes de la planta por medio de vapor de agua. En donde dicho vapor se encarga de arrastrar el aceite esencial presente en la parte sometida al proceso. Los aceites esenciales poseen un punto de ebullición superior al del agua, pero en la mezcla de aceite esencial más agua presenta un punto de ebullición inferior y por esto puede ser destilado. Al pasar por el condensador los vapores se enfrían, condensan y transforman en un líquido formando dos fases inmiscibles.

Figura 21. Equipo de hidrodestilación.



Nota: Google imágenes (2018).

Fase orgánica es la parte que contiene el aceite esencial.

Fase acuosa es la que contiene cierta cantidad de esencia, como es el caso del agua de rosas, debido a que los aceites esenciales contienen una fracción de componentes solubles en el agua.

La separación de estas fases es posible gracias a la diferencia de densidades y a la inmiscibilidad debido a que la fase orgánica es la fase menos densa y flota sobre la fase acuosa, aunque pueden existir excepciones (p. 37).

Destilación por arrastre con vapor

Según Albarracin (Albarracin cit. en Contreras et al., 2012, p. 37) en la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños se coloca en un recipiente cerrado y es sometida a una corriente de vapor de agua. La esencia así arrastrada es condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy

utilizada especialmente para esencias muy volátiles, por ejemplo, las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, a la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada.

La destilación por arrastre con vapor que se emplea para extraer la mayoría de los aceites esenciales es una destilación de mezcla de dos líquidos inmiscibles y consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición en cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua, la cual ejerce la doble función de calentar la mezcla hasta su punto de ebullición y adicionar tensión de vapor a la de los componentes volátiles del aceite esencial. Los vapores salientes de la cámara extractora se enfrían en un condensado donde regresan a la fase líquida, los dos productos inmiscibles, agua y aceite finalmente se separan en un dispositivo o vaso florentino (p. 38).

Figura 22. Equipo de arrastre con vapor.



Nota: Google imágenes (2018).

Soxhlet

Rodríguez y Zhagui (2016) mencionan que el equipo extractor Soxhlet consiste en hacer hervir en el matraz el disolvente para extraer el material sólido que es antes molido y pesado, así luego es depositado en un cartucho de la cámara de extracción. El vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material. Al alcanzar la altura de 7 a 8 cm se produce el sifonamiento por el tubo, regresando al balón el solvente puro. El proceso se repite hasta que se agota el material deseado (p. 30).

Las partes básicas del equipo son

- ❖ Cartucho: Elaborado generalmente de papel filtro o celulosa, es la parte en donde se coloca la muestra y permite que el solvente ingrese y salga reteniendo al sólido. Una vez que la muestra es colocada dentro del cartucho este es llevado al tubo Soxhlet.
- ❖ Tubo refrigerante: Permite la condensación de los vapores del solvente que se desprenden en la extracción.
- ❖ Tubo Soxhlet: Es la parte en donde se encuentra el cartucho con la muestra. Consta de un cuerpo cilíndrico y un tubo sifón protegido por el tubo para pasaje de vapor. La parte inferior del tubo extractor termina en una unión esmerilada para adaptarse al matraz de fondo plano
- ❖ Matraz de fondo plano: Tiene como finalidad contener el solvente y recibir el producto de la extracción (Rodríguez et al., 2016, p. 31).

Figura 23. Extracción en Soxhlet.



Maceración

Cevallos (2012) menciona que una maceración aceitosa prolonga a bajas temperaturas, cuidando que no exista contacto con el aire ni la luz. Es un proceso que permite obtener aceite esencial de una manera sencilla, fácil, cómoda y muy económica, la cual puede realizarse incluso desde la comodidad de la casa (p. 19).

Figura 24. Maceración.



Nota: Google imágenes (2018).

Enfleurage

Los autores Parades y Quinotoa (2010, p. 53) mencionan que para el Enfleurage se utilizan grasas naturales con puntos de ablandamiento alrededor de 40°C, normalmente manteca de cerdo RBD (Refinada, Blanqueada, Desodorizada). Se extiende en bandejas o “chasis” de profundidad no mayor a 5 mm y sobre ella se colocan los pétalos de flores o el material vegetal, desde donde se van a extraer los principios odoríficos. El contacto puede durar de 3 a 5 días. Luego el material vegetal es removido y reemplazado por material fresco, esta operación se repite buscando la saturación de la grasa.

Posteriormente, la grasa impregnada del principio activo, “le pomade”, se lava con alcohol libre de congéneres (alcohol de perfumería), relación 1/1 dos veces consecutivas. El alcohol se filtra y se destila a vacío (21 in Hg, T 30°C) hasta recuperar un 80% del volumen de alcohol, como mínimo, en el fondo queda un residuo llamado “absolute” (p. 53).

Figura 25. Enfleurage.



Nota: Google imágenes (2018).

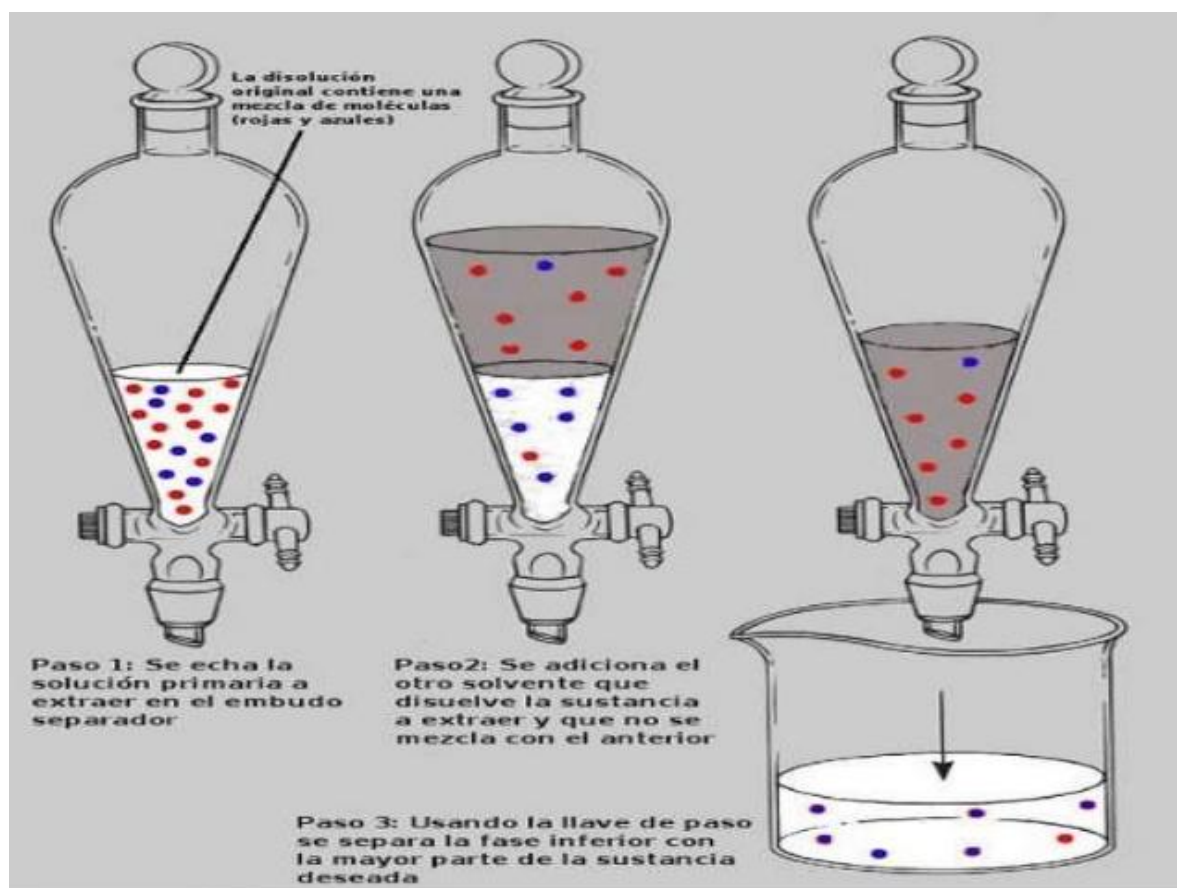
Extracción con solventes

El material previamente debe ser molido, macerado o picado, para permitir mayor área de contacto entre el sólido y el solvente. El proceso ha de buscar que el sólido, el líquido o ambos estén en movimiento continuo (agitación), para lograr mejor eficiencia. Se realiza preferiblemente a temperatura y presión ambientes. El proceso puede ejecutarse por batch (por lotes o cochadas) o en forma continua (percolación, lixiviación, extracción tipo soxhlet) (Paredes y Quinotoa, 2010, p. 54).

Los solventes más empleados son etanol, metanol, isopropano, hexano, ciclohexano, tolueno, xileno, ligroína, éter etílico, éter isopropílico, acetato de etilo, acetona y cloroformo, no se usan clorados ni benceno por su peligrosidad a la salud. Los solventes se recuperan por destilación y pueden ser reutilizados. El solvente adicionalmente extrae otros componentes como colorantes, gomas, mucílago, ceras, grasas, proteínas, carbohidratos (Paredes y Quinotoa, 2010, p. 54).

En la etapa de recuperación de los solventes (atmosférica o al vacío), después de los condensadores ha de disponerse de una unidad de enfriamiento, para la menor pérdida del solvente. El material residual en la marmita de destilación contiene concentradas las materias odoríficas y se le conoce como “concrete”. En caso de emplear glicoles, aceites vegetales o aceites minerales como solventes extractores, los componentes odoríficos son imposibles de recuperar y el producto se comercializa como un todo, conocido como “extractos” (Paredes y Quinotoa, 2010, p. 54).

Figura 26. Extracción con solventes.



Nota: Google imágenes (2018).

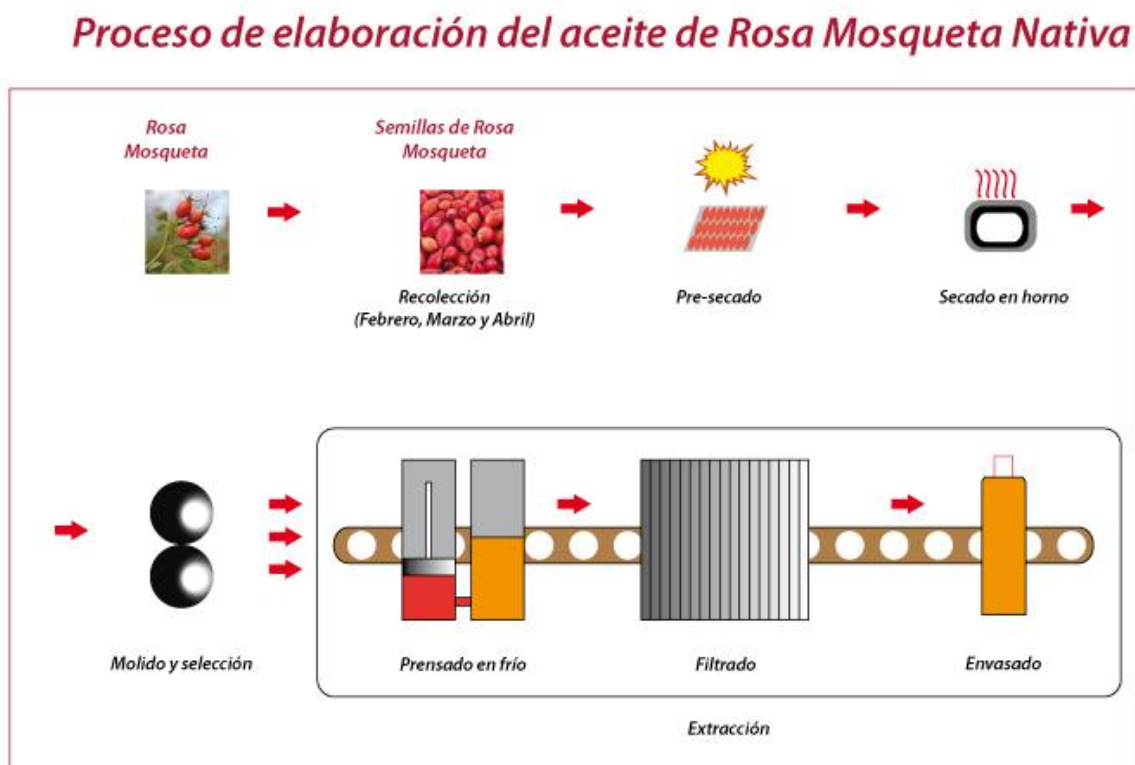
Extracción por prensado

También se le conoce como “expresión”. El material vegetal es sometido a presión, bien sea en prensas tipo batch o en forma continua, dentro de estos se tienen los equipos: tornillo sin fin de alta o de baja presión, extractor expeller, extractor centrífugo, extractor decanter y rodillos de prensa. Para los cítricos antiguamente se empleó el método manual de la esponja, sobre todo en Italia, que consiste en exprimir de forma manual las cáscaras con una esponja hasta que se empapa de aceite, se exprime entonces la esponja y se libera el aceite esencial (Paredes y Quinotoa, 2010, p. 55).

Otros métodos corresponden a raspado, como el del estilete o “ecuelle”, donde la fruta se pone a girar en un torno y con un estilete solo se raspa la corteza; así cae permanentemente un rocío de agua que arrastra los detritos y el aceite liberado. Otro proceso emplea una máquina de abrasión similar a una peladora de papas, la “pellatrice” y también hace uso del rocío de agua. En estos procesos la mezcla detritos-agua-aceite se centrifuga a 5000 rpm durante 40 minutos y el aceite esencial recuperado se coloca en una nevera a 3°C durante 4 horas, para solidificar gomas y ceras que se localizan en la superficie (Paredes y Quinotoa, 2010, p. 55).

El aceite esencial se guarda en recipientes oscuros a 12°C. Los aceites obtenidos por prensado y/o raspado se les comercializa como “expresión en frío” y cumplen la funciones de odorizantes y saborizantes (Paredes y Quinotoa, 2010, p. 55).

Figura 27. Extracción por prensado.



Nota: Google imágenes (2018).

Espectroscopia

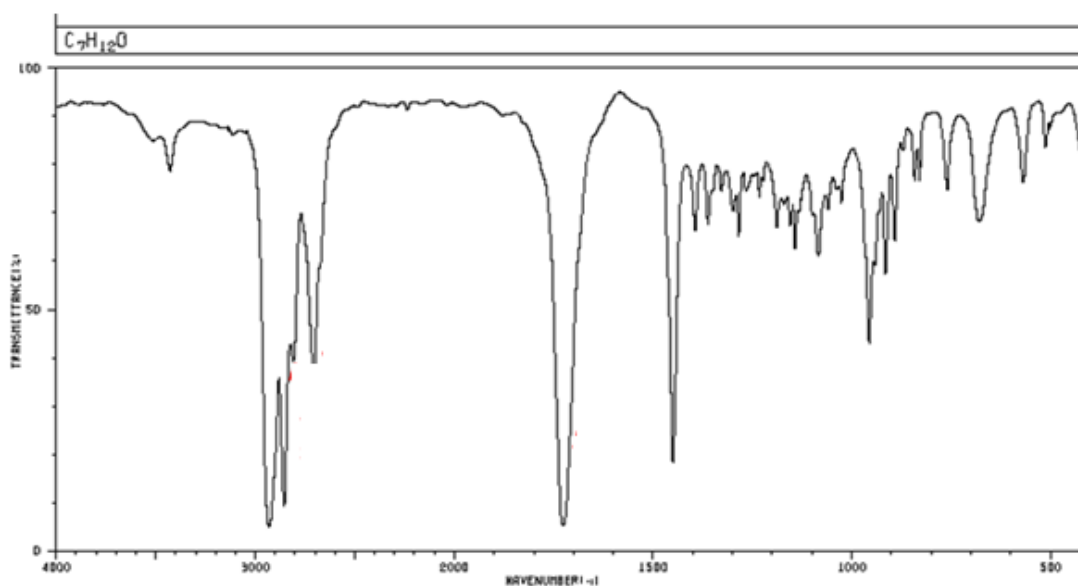
Skoog (Skoog cit. en Ruiz, 2017) afirma que los métodos espectroscópicos analíticos se basan en medir la cantidad de radiación producida o absorbida por las especies moleculares o atómicas de interés. Los métodos espectroscópicos se pueden clasificar de acuerdo con la región del espectro electromagnético utilizada o producida durante la medición. Se han utilizado las regiones de rayos Gamma, rayos X, ultravioleta (UV), visible, infrarrojo (IR), microondas y las de radiofrecuencia (RF) (p. 671).

En la industria farmacéutica, los métodos de análisis más comúnmente utilizados que hacen uso de la cuantificación o identificación de especies químicas, ya sean fármacos, sustancias relacionadas o impurezas, son el uso de la espectroscopia ultravioleta y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Skoog cit. en Ruiz, 2017, p. 568).

Radiación infrarroja

Para Skoog (Skoog cit. en Ruiz, 2017) la absorción de radiación en la región IR puede dar información sobre la naturaleza o identidad de los compuestos, a partir de la presencia de grupos funcionales y estructura de las moléculas (p. 573).

Figura 28. Ejemplo de espectro IR.



Nota: Google Imágenes (2018).

Skoog (Skoog cit. en Ruiz, 2017) resalta que en los espectros IR de las sustancias químicas como dispositivos para identificar la identidad de un compuesto, donde la región

comprendida entre los 3600 cm^{-1} a 1250 cm^{-1} es para identificar grupos funcionales comunes y la región que se encuentra entre los 1200 cm^{-1} a 600 cm^{-1} se conoce como “huella dactilar”, es donde pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de las moléculas dan lugar a cambios significativos en el espectro IR (p. 573).

Para Skoog (Skoog cit. en Ruiz, 2017) existen a nivel mundial tablas donde están enlistados valores más específicos de longitudes de onda para cada grupo funcional, en específico de especies orgánicas. Es notable tener claro que el grado de pureza de la muestra, la concentración y el equipo puede incurrir en las señales obtenidas a nivel experimental (p. 573).

Tabla 6. Valores específicos de distintos grupos funcionales en el espectro infrarrojo

Grupo funcional	Tipo de vibración	Frecuencia (cm^{-1})	Intensidad
C-H	Alcanos	2850-2970	Fuerte
		1340-1470	Fuerte
C-H	Alquenos	3010-3095	Media
		675-995	Fuerte
C-H	Alquinos	330	Fuerte
C-H	Anillo Aromático	3010-3100	Media
		690-900	Fuerte
O-H	Alcohol y fenol (monómeros)	3590-3650	Variable
	Alcohol y fenoles (unidos por puentes de hidrogeno)	3200-3600	Variable, a veces ancha
	Acido carboxílico (monómeros)	3500-3650	
	Acido carboxílico (unidos por puentes de hidrogeno)	2500-2700	Media Ancha

N-H	Aminas, amidas	3300-3500	Media
C=C	Alquenos	1610-1680	Variable
C=C	Anillo Aromático	1500-1600	Variable
C≡C	Alquinos	2100-2260	Variable
C-N	Aminas, amidas	1180-1360	Fuerte
C≡N	Nitrilos	2210-2280	Fuerte
C-O	Alcohol. Éteres, ácido carboxílico, esteres	1050-1300	Fuerte
C=O	Aldehido, cetona, ácido carboxílico, esteres	1690-1760	Fuerte
S=O	Sulfóxidos	1050	Variable
N=O	Nitro	1550-1350	Variable
S-H	Mercaptanos	2550	Variable
NO ₃	Nitroderivados	1500-1570 1300-1370	Fuerte Fuerte

Nota: Skoog (cit. en Ruiz, 2017, p. 53).

Espectrometría de masas

Plasencia (2015) menciona que la espectrometría de masas es una poderosa técnica microanalítica usada para identificar compuestos desconocidos, para cualificar compuestos conocidos y para elucidar la estructura y propiedades químicas de moléculas. La detección de compuestos puede ser llevada a cabo con cantidades realmente pequeñas de muestra y obtener información característica como el peso y algunas veces la estructura del analito. En todos los casos, alguna forma de energía es transferida a las moléculas a afectar la ionización (p. 2).

Procesos de la espectrometría de masas

Ionización de la muestra

Con la ayuda de un espectrómetro de masa se vaporiza las sustancias de volatilidades diferentes.

Aceleración de los iones por un campo eléctrico

Se originan iones a partir de moléculas neutras en fase gaseosa.

Dispersión de los iones según su masa/carga

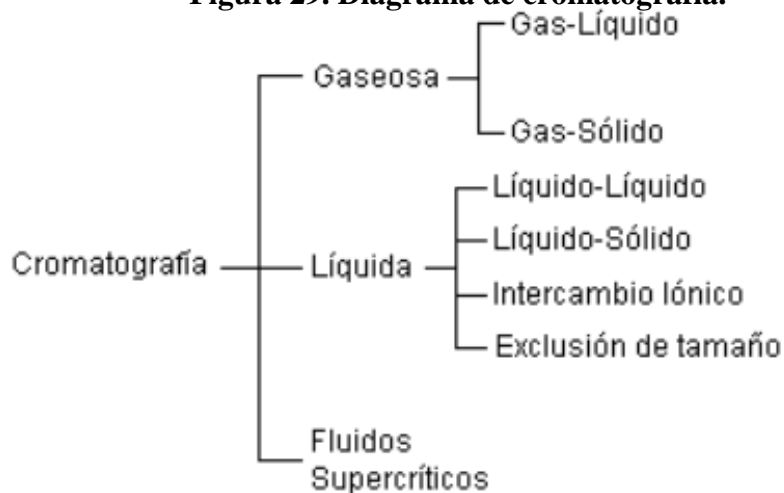
El espectro debe ser capaz de detectar los iones en función de su relación masa/ carga ($R=m/\Delta m$).

Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica

El espectrómetro detecta los iones formados y registra la información adecuada (Plasencia, 2015, p. 2).

Cromatografía

Muñoz (2016) menciona que la cromatografía se divide actualmente en tres grandes ramas: la gaseosa, la líquida y la supercrítica, que a su vez se subdividen, dependiendo de la naturaleza de la fase estacionaria y del mecanismo de separación (p. 1).

Figura 29. Diagrama de cromatografía.

Nota: Muñoz (2016).

Cromatografía en papel

En todo proceso cromatográfico la fase móvil es la que provoca un movimiento de las distintas especies para que abandonen el medio soporte (papel) y la fase estacionaria la que suministra el efecto retardador, que es selectivo para cada componente y condiciona que cada uno de ellos se desplace con distinta velocidad. La movilidad de los componentes de la mezcla a separar depende de la afinidad química o propiedades similares entre estos componentes y cada una de las fases del sistema cromatográfico (Muñoz, 2016, p. 1).

Si uno de los componentes de la mezcla presenta propiedades químicas muy similares a la fase móvil tendrá gran movilidad, es decir, el efecto de retención que provocaría la fase estacionaria sería nulo. Lo contrario sucedería con un componente de la mezcla que tenga una gran afinidad con la fase estacionaria. Por lo tanto, la técnica se basa en la velocidad de

desplazamiento diferencial de los solutos, al ser arrastrados por una fase móvil sobre una estacionaria (Muñoz, 2016, p. 1).

Esta diferencia será la que permita identificar cuántos componentes tiene una disolución y cómo separarlos. La cromatografía en papel se utiliza para la separación de cantidades mínimas de soluto y también como un criterio de pureza. Se basa en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de los solutos, a través de una fase estacionaria que es el agua retenida sobre un soporte sólido e inerte (celulosa), arrastrado por un disolvente en movimiento. Una vez realizada la cromatografía, la posición de los componentes se determina mediante una técnica que permita “visualizarlos”. Es común revelar el cromatograma mediante reacciones que originen productos coloreados, como la ninhidrina, para identificar a los aminoácidos (Muñoz, 2016, p. 1).

El fundamento del revelado con ninhidrina es el siguiente: la ninhidrina reacciona con aminoácidos que tengan el grupo amino libre, dando lugar a la formación de amoníaco y anhídrido carbónico, con reducción de la ninhidrina a hidrindantina. La hidrindantina reacciona a su vez con amoníaco y otra molécula de ninhidrina para dar un compuesto de adición doble que presenta una coloración azul-púrpura, con la excepción de la prolina que da una coloración amarillenta, esto debido a que su grupo amino está sustituido (Muñoz, 2016, p. 1).

Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio, aluminio u otro material inerte. La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares (Muñoz, 2016, p. 2).

Concepto de Rf

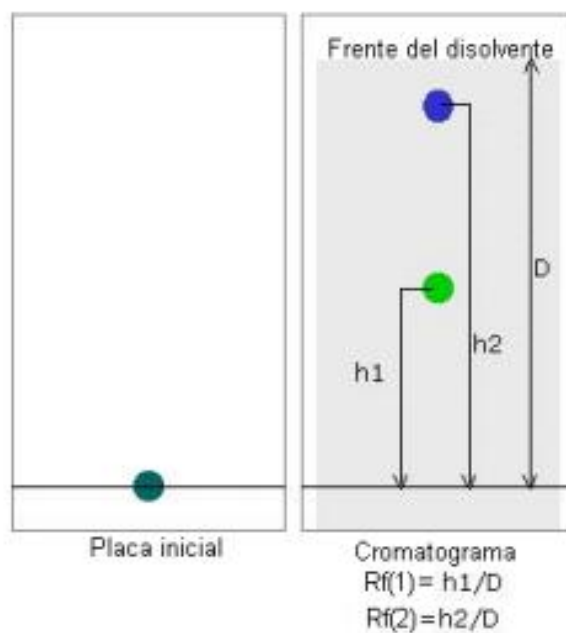
Figura 30. Fórmula del índice de refracción.

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por un componente de una muestra}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$

Nota: Muñoz (2016).

El Rf se define como distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación / distancia que recorre el disolvente. El valor de Rf depende de las condiciones en las cuales se corre la muestra (tipo de adsorbente, eluyente, así como las condiciones de la placa, temperatura, vapor de saturación, entre otros) (Muñoz, 2016, p. 2).

Figura 31. Cromatografía capa fina.



Nota: Muñoz (2016).

Capítulo III: Marco metodológico

En el siguiente capítulo se presentará la forma en que se va a desarrollar todo el proyecto de investigación. También, se va a describir tanto el enfoque como el diseño del estudio, se van a detallar todos los instrumentos que se van a utilizar experimentalmente y todos los procedimientos que se van a llevar a cabo para obtener el aceite esencial del ajo. Además, se incluirá un cronograma en el cual se mostrará paso a paso cómo se realizará el trabajo de investigación, desde el capítulo uno hasta las conclusiones.

Enfoque

El presente estudio se diferencia por tener un enfoque de tipo cuantitativo, porque se utilizan diferentes métodos medibles en un tiempo determinado. De igual forma recolecta datos que pueden ser tabulados, dando una respuesta para arreglar la incógnita planteada (Hernández, 2014, p. 19). El enfoque cuantitativo debe ser secuencial y demostrativo, por lo que las etapas de este estudio en particular no pueden ser eludidas. El orden es secuencial y preciso. Sin embargo, se deja una opción para la modificación adecuada de alguna de las fases en la secuenciación.

Hernández (2014) menciona que luego de la definición del tema y las preguntas que se puedan plantear, se generan los objetivos y la hipótesis. Consecutivamente, se realiza un estudio de la literatura donde se traza un plan probatorio que permita medir las variables, utilizando como herramientas los métodos estadísticos para obtener una serie de conclusiones, a partir de la investigación en cuestión (p. 4).

El propósito de este trabajo de investigación es comprobar de forma experimental, es decir, evaluar in vitro el resultado antimicrobiano que se obtiene al colocar el extracto del aceite esencial del ajo sobre *Staphylococcus aureus*.

Diseño

Para Hernández (2014), el diseño de un estudio investigativo “se refiere al plan o estrategia para obtener la información que se desea con el fin de resolver el planteamiento del problema” (p. 128).

Hernández (2014) menciona que los diseños experimentales “se basan en hipótesis preestablecidas, miden variables y su aplicación debe sujetarse al diseño concebido con antelación, al desarrollarse, el investigador está centrado en la validez, el rigor y el control de la situación de investigación” (p. 129). De acuerdo con la interrogante planteada, objetivos, proyecciones y enfoque, esta investigación será de modelo experimental, porque se utilizaron procesos de laboratorio para la extracción del aceite esencial de ajo, así como la de pruebas de identificación a los metabolitos activos y pruebas in vitro para así mostrar su capacidad antimicrobiana.

Tabla 7. Variables

Objetivo	Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Instrumentalización
Realizar una extracción del aceite esencial de ajo, utilizando el método de extracción Soxhlet.	Metabolitos activos.	Sustancia que posee la actividad farmacológica.	Extraer el metabolito activo mediante el método de Soxhlet.	Se hace mediante la utilización del ajo y equipo de laboratorio.
Identificar la presencia de alicina metabolito activo en el aceite esencial de ajo mediante diferentes	Existencia de alicina en el aceite extraído.	Presencia de la sustancia activa en el extracto de ajo.	Identificación del metabolito activo con los métodos de espectroscopia infrarroja y espectros de	Equipo de infrarrojo y equipo de espectrometría de masas.

pruebas.

Evaluar la capacidad antibacteriana del aceite esencial del ajo frente a *Staphylococcus aureus*, mediante el cultivo de placas.

Propiedad antimicrobiana del aceite esencial de ajo.

Pruebas antimicrobianas que se realizan mediante el cultivo de *Staphylococcus aureus*.

masas.

Se realiza un análisis mediante pruebas in vitro.

Cultivo de la cepa de *Staphylococcus aureus*.
Placas de petri, gotero.

Instrumentos y técnicas de recolección

Los utensilios necesarios para realizar el análisis microbiano serán las placas con el agar y las cepas del microorganismo *S. aureus*. Esta prueba se hará en el laboratorio Microlabs y para conocer la concentración del extracto se acudirá al Centro de Investigaciones de Productos Naturales (CIPRONA), situado en la Universidad de Costa Rica.

Cristalería requerida

- ❖ Cuchillo
- ❖ Tabla de picar
- ❖ Calentadores
- ❖ Beakers
- ❖ Soxhlet
- ❖ Balones de 250 ml
- ❖ Gotero
- ❖ Termómetro
- ❖ Rotavapor
- ❖ Balanza
- ❖ Pescador
- ❖ Pastilla de agitación
- ❖ Mangueras
- ❖ Probeta
- ❖ Espátula
- ❖ Prensas acanaladas
- ❖ Soportes
- ❖ Condensador

- ❖ Granadilla de tubos de ensayo
- ❖ Pipeta
- ❖ Baño ultrasónico
- ❖ Envases de color ámbar
- ❖ Papel aluminio
- ❖ Placas de sílica de gel

Adicionalmente, para llevar a cabo la investigación se utilizará una bitácora con el propósito de anotar todos los resultados que se obtengan en el laboratorio.

Cabe resaltar que la libreta tiene el propósito de ser una guía de trabajo y permitir orden en las actividades de laboratorio, la bitácora obtendrá todos los procesos que se van a llevar a cabo para obtener el aceite esencial de ajo.

Reactivos necesarios

- ❖ Etanol 95%
- ❖ Agua destilada
- ❖ Tolueno
- ❖ Acetato de etilo
- ❖ Metanol
- ❖ Alcohol cetílico
- ❖ Ácido esteárico
- ❖ Glicerina
- ❖ Metilparabenos
- ❖ Propilparabenos
- ❖ Aceite mineral
- ❖ Trietanolamina
- ❖ Perfume

Método

En seguida se presentarán varios métodos que se utilizaron para la extracción y la obtención del aceite esencial del ajo, todos necesarios para realizar el trabajo de investigación, los cuales son método Soxhlet, Maceración, y método Extracción Solido-liquido.

Se realizaron pruebas espectroscópicas para evidenciar la presencia de alicina, como espectro de infrarrojo y cromatografía de masas.

El material vegetal se obtuvo del Mercado Central en San José. Para la obtención del aceite esencial de ajo se utilizaron diferentes métodos de extracción entre los cuales están: Maceración, método Soxhlet y método Extracción Solido-liquido

Antes de pesar el ajo se consiguió ajo fresco, con el fin de obtener aceite más puro.

Método de Soxhlet

- ❖ Se pelaron los dientes de ajo.
- ❖ Se pesó aproximadamente 200g de dientes de ajo y se introdujeron en el Soxhlet.
- ❖ Se le adicionó 500 ml de agua al balón y se le puso la pastilla de agitación.
- ❖ Se instaló el equipo completo de Soxhlet con las mangueras prensadas al condensador.
- ❖ Se encendió el calentador a una temperatura constante de 150-200°C.
- ❖ Se dejó aproximadamente 5 horas el equipo en funcionamiento hasta que se completaron cinco ciclos.

Figura 32. Equipo de Soxhlet.



Luego de obtener el destilado se procedió a separar la fase acuosa, esto porque la extracción se hizo con agua. Para ello se pasó el extracto disuelto en agua a un embudo separador y se le agregó 20 mL de éter etílico. Se recolectó la fase orgánica en un Erlenmeyer.

Con lo adquirido en el proceso anterior, se llegó a utilizar el rota vapor para extraer el disolvente y solo obtener el aceite esencial.

Figura 33. Rota vapor.



Método por maceración

- ❖ Se pelaron los dientes de ajo.
- ❖ Se cortó en trozos pequeños los dientes de ajo.
- ❖ Se pesó aproximadamente 200g de dientes de ajo cortado.
- ❖ Se agregó los 200g de ajo en dos recipientes de color ámbar.
- ❖ Se preparó 500 mL de una solución hidroalcohólica al 70%, la cual se preparo agregando 365 ml de alcohol de 96 % a un beacker y luego 135 ml de agua.
- ❖ Se añadió la solución hidroalcohólica a los envases ámbar.
- ❖ Se tapó los envases y se guardaron en un lugar para protegerlos de la luz y la temperatura.
- ❖ Se esperó seis días
- ❖ A los seis días, se filtró para quitar el sobrenadante con papel de filtro y un embudo de vidrio.
- ❖ Con lo adquirido en el proceso anterior, se llegó a utilizar el rota vapor para extraer el disolvente y obtener el aceite esencial.

Figura 34. Maceración.



Método de extracción sólido-líquido

- ❖ Se pelaron los dientes de ajo.
- ❖ Se cortó en trozos pequeños.
- ❖ Se pesó aproximadamente 123g de dientes de ajo.
- ❖ Se colocó en un beaker de 500 mL.
- ❖ Se agregó al beaker 350 mL de acetato de etilo.
- ❖ Se tapó el beaker con papel aluminio.
- ❖ Se llevó el beaker a agitación en baño ultrasónico por 60 minutos.
- ❖ Se filtró para separar los componentes sólidos suspendidos de la fase acuosa con extracto.
- ❖ Se hizo una filtración al vacío.

Figura 35. Esquipo empleado en el método de extracción sólido-líquido.



Figura 36. Método de extracción sólido-líquido.



Cromatografía de capa fina

Primero se buscó cuál sería la mejor fase móvil, el cual fue tolueno y acetato de etilo a una proporción 9:1.

Figura 37. Placa de cromatografía.

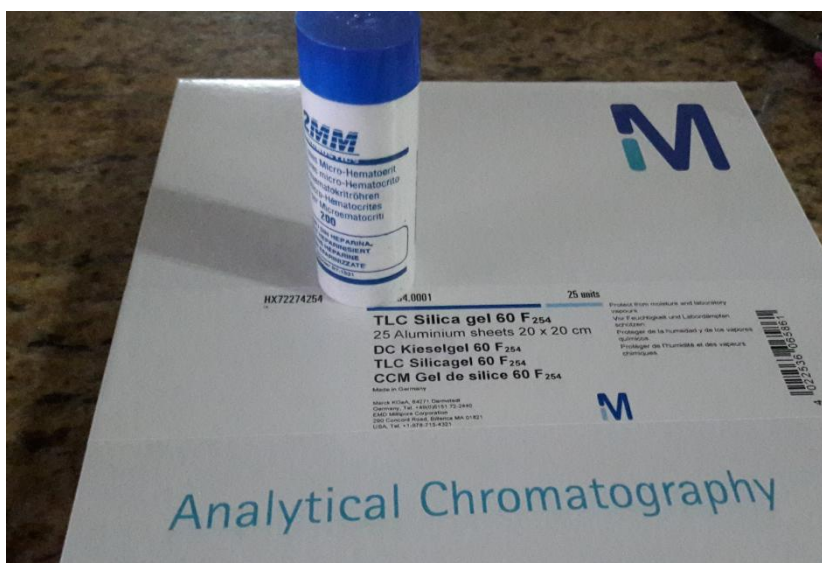
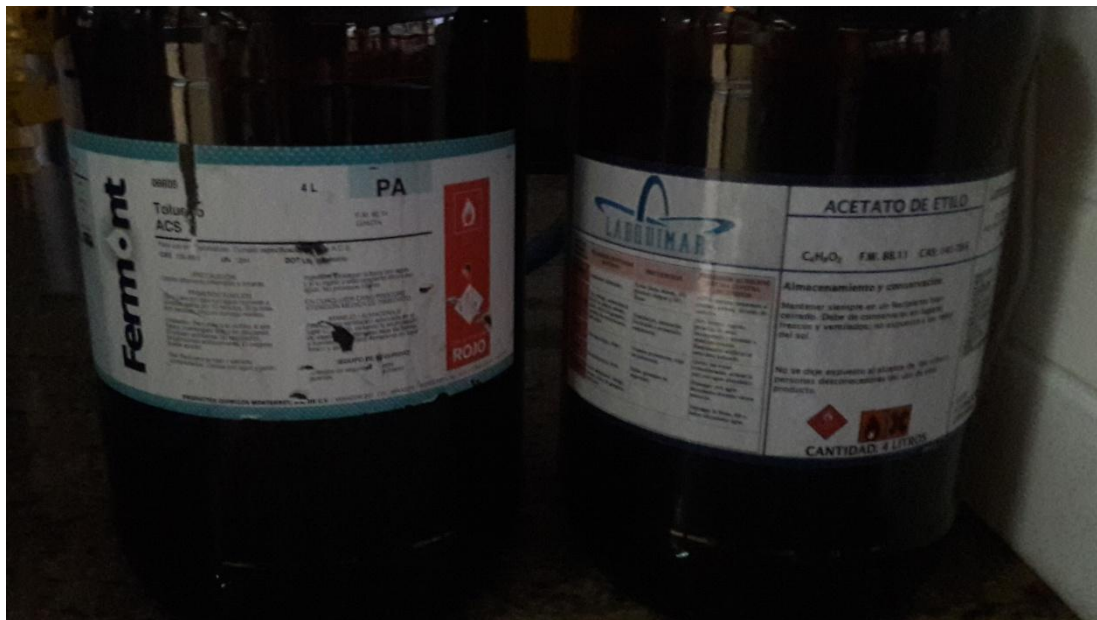


Figura 38. Disolventes para fase móvil.



Se realizó la fase móvil para la cual se tomó 18 mL de tolueno y 2 mL de acetato de etilo, esta mezcla se añadió en un beaker de 500 mL y se tapó con un vidrio de reloj.

Se cortó con la ayuda de una tijera cuadros de 20 cm x 8 cm de TLC silica gel 60 F254. Se realizó dos líneas, una línea en el lado inferior y una en el lado superior de 0.5 cm y 1 cm respectivamente. Con la ayuda de un tubo capilar, se tomó una gota de cada extracto y se pusieron en el borde inferior de la lámina. Se esperó a que cada gota se secase.

Posteriormente se colocó la lámina dentro del beaker que tenía la fase móvil y se esperó hasta que la fase móvil fuera subiendo, sin dejar tocar la línea superior.

Se procedió a dejar secar la lámina de sílice y se llevó a analizar por medio de la lámpara ultravioleta UV a 254 nm modelo Cole parmer, se observó el resultado.

Se procedió a realizar el mismo procedimiento, pero esta vez con placas preparativas de gel de sílice, se hizo una línea superior e inferior de 2 cm cada una. Con una micropipeta se colocaron líneas de los extractos y se hicieron las líneas tres veces para obtener líneas más exactas de la molécula.

Figura 39. Empaque de las placas preparativas de gel de sílice.



Figura 40. Placa preparativa de gel de sílice.

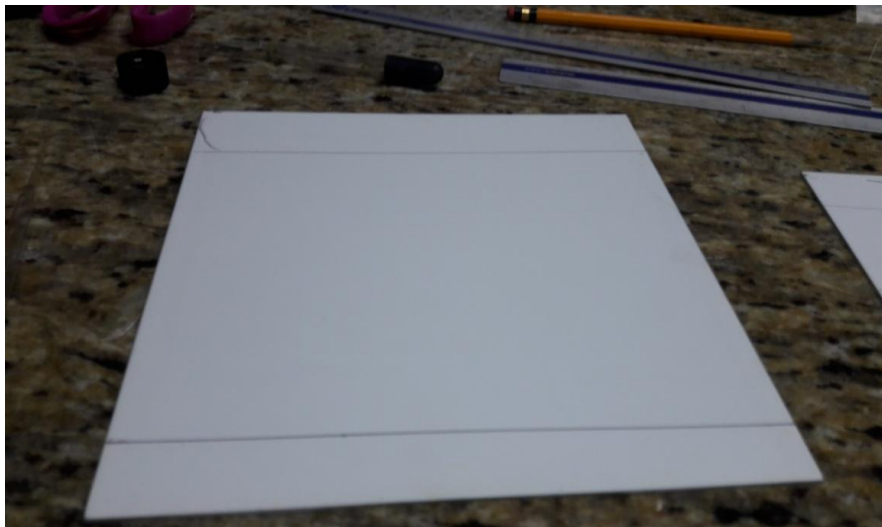


Figura 41. Desarrollo cromatografico de la placa preparativa con el extracto obtenido mediante la técnica Soxhlet



Se colocó la placa en un recipiente rectangular de vidrio grueso y se tapó con papel aluminio, ahí empezaron los gases de la fase móvil a subir por la placa. Después se retiró la placa hasta que la fase móvil dejara a la línea superior marcada y se dejó secar. Se colocó la placa y se analizó en la lámpara UV 254 nm.

Se señaló las líneas con un lápiz de grafito, luego se procedió a raspar. El polvo de la placa se colocó en viales secos. Se procedió a disolver cada vial con la fase móvil que era tolueno y acetato de etilo 9-10 aproximadamente 10 mL. Posteriormente, se filtró para separar el sílice del extracto.

Figura 42. Raspado de la placa preparativa con el extracto obtenido mediante la técnica Soxhlet



Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite de ajo

Este análisis se realizó en la Universidad Iberoamérica (UNIBE), con el espectro infrarrojo modelo Perkin Elmer Spectrum FT-IR.

El infrarrojo se hizo con las tres muestras de los tres métodos antes mencionados.

Análisis del espectro de masas del aceite esencial de Ajo

El análisis se realizó en el Centro de Investigación de Productos Naturales (CIPRONA).

Prueba microbiana

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los tres extractos, se utilizó la crema Fucidin, una crema realizada en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas sin el extracto de ajo. Se utilizó un medio de cultivo llamado agar.

La cepa fue proporcionada por el laboratorio Microlabs situado en Guadalupe donde se realizó la prueba antimicrobiana. Todos los procedimientos que se describen a continuación fueron orientados y supervisados por el microbiólogo Dr. Roldan Ajun Chaverri. Este laboratorio brindó el equipo y materiales utilizados.

- ❖ En una cámara de flujo laminar se prepararon los cultivos que contienen las cepas de *S. aureus*. En una placa petri se colocó una muestra de agar estándar, aproximadamente 10 mL y se dejó reposar pocos segundos con la luz ultravioleta para eliminar cualquier contaminación.
- ❖ Con ayuda de puntas estériles se realizan varios orificios pequeños en el agar separados entre sí. La profundidad de dichos hoyos debe ser igual para ambos.

- ❖ Con ayuda de un aplicador se rayó con la cepa del *S. aureus* por todo el medio de cultivo tratando que quedara uniforme y no se rompiera.
- ❖ Se realizaron tres pasadas con el aplicador para obtener un crecimiento en toda la placa.
- ❖ Con una micropipeta se tomó una gota del aceite esencial y se colocó dentro del cultivo, se realizó lo mismo con la crema Fucidin.
- ❖ El cultivo se almacenó en una cámara a una temperatura de 35-37°C durante 24 horas para comprobar la sensibilidad o no del aceite de ajo.
- ❖ Una vez pasadas las 24 horas, se sacó la placa y se evaluó la formación de halos de inhibición de la actividad antimicrobiana en las muestras colocadas en la placa.

Figura 44. Cámara de flujo laminar.



Elaboración de la forma farmacéutica

Elaboración de la crema

La crema se lleva a cabo en dos fases:

- ❖ Se fundieron los materiales de la fase oleosa, alcohol cetílico y ácido esteárico en un beaker, a una temperatura de 70°C.
- ❖ Se añadió al aceite mineral el propilparabeno, se fundieron y se continuó calentando hasta llegar a una temperatura de 75°C. Se procedió a mezclar por 30 minutos.
- ❖ Se calentó el agua destilada, la glicerina y la trietanolamina a una temperatura de 80°C para crear la fase acuosa y se procedió a disolver el metilparabeno manteniendo la temperatura a 80 °C. Esto se mezcló por 30 minutos.
- ❖ Se añadió la fase oleosa a la fase acuosa con una agitación constante, para tener el núcleo de la emulsión. Esto se mezcló por 30 minutos.
- ❖ Se bajó la temperatura a 40°C y 45°C para incorporar lo que es el perfume con agitación constante.
- ❖ Se pasó la crema al recipiente antes de que se enfriara.

Capítulo IV: Análisis de resultados

La información y resultados que se proporcionan en este capítulo son los obtenidos en el desarrollo investigativo de cada variable, según los objetivos específicos establecidos.

Primeramente, la materia prima se consiguió en la zona de San José centro, en el Mercado Central. Para la extracción, primeramente, se le quitó la cáscara muy bien y con un cuchillo se le quitan las partes malas de los dientes de ajo. Se realizaron tres extracciones por distintos métodos, los cuales fueron método Soxhlet, maceración y extracción sólido-líquido.

En la figura 45 se observa el paso de selección del material utilizado para cada proceso de extracción, tanto para el método Soxhlet, maceración y de extracción sólido-líquido.

Figura 45. Separación del material para el método Soxhlet, maceración y separación sólido-líquido.



Tanto para el método Soxhlet como el de maceración se usó 200g de material vegetal. Para el método de extracción sólido-líquido se usaron 123g.

El método Soxhlet posee distintas ventajas, la metodología es muy simple, no es necesaria la filtración después de la extracción y es un método que no depende de la matriz. (Técnicas Avanzadas en Química, 2004)

Mientras que el método por maceración es un proceso que se lleva en lapso de tiempo largo, con la capacidad de extraer la mayoría de las propiedades de lo que se macera, prácticamente en su totalidad sin alterarla por efectos de temperatura. (Técnicas Avanzadas en Química, 2004)

Cuando se hizo el proceso de maceración este se hizo en recipientes de color ambar y se resguardo de la luz para evitar la oxidación de algunos componentes dado que la luz UV puede promover reacciones de dimerización o polimerización de dobles enlaces Carbono- carbono que están presentes en aceites esenciales. (Asaolu, 2009)

Se puede decir que durante el proceso de extracción se logró encontrar que:

- El método de maceración es el método más fácil y barato, comparado con los otros dos métodos.
- La extracción sólido- líquido fue el método más rápido para obtener el aceite.

A la hora de escoger el método Soxhlet no se escogió un disolvente adecuado, ya que se usó agua y según Córdoba (2010) la alicina es insoluble en agua. Por lo que en el extracto no hubo alicina.

Tabla 8. Características organolépticas del aceite esencial de ajo obtenido mediante los métodos de Soxhlet, maceración y extracción sólido-líquido, realizados en la Universidad Internacional de las Américas

Muestra	Aceite de ajo
Olor	Olor fuerte característico del bulbo
Color	Amarillo claro
Textura	Viscoso

Globalab (2013) establece las propiedades físicas del aceite esencial de ajo que coinciden con las características organolépticas del aceite esencial de ajo obtenido por los tres distintos métodos Soxhlet, maceración y extracción sólido-líquido que se observan en la tabla 8. El aceite mostró un color amarillo claro, un olor fuerte característico del ajo y una percepción viscosa al tacto.

Figura 46. Aceite esencial de ajo por método de maceración.



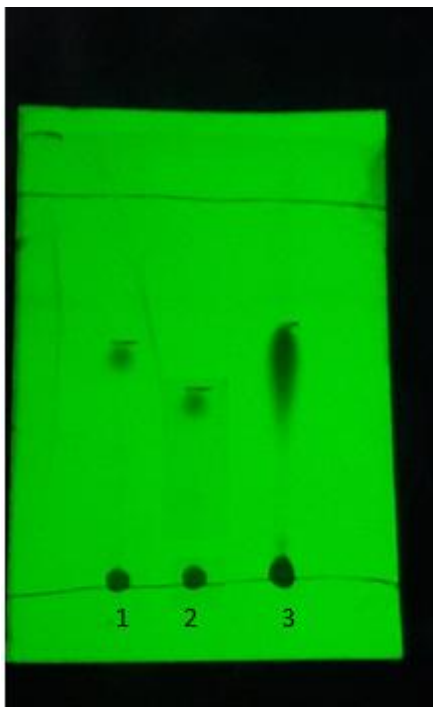
Cromatografía de capa fina

Se procedió a medir el Rf, el cual se obtiene con la siguiente fórmula:

$$Rf: \frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

En la figura 49 se puede apreciar el recorrido de los tres aceites obtenidos por los tres diferentes métodos. Donde el número 1 fue el aceite obtenido por el método de extracción sólido-líquido, el número 2 el obtenido por el método Soxhlet y el número 3 el de maceración.

Figura 47. Cromatografía de capa fina de los tres aceites obtenidos por los diferentes métodos de extracción



En la tabla 9 se muestran los distintos Rf de los aceites obtenidos por los tres diferentes métodos.

Tabla 9. Rf de los aceites obtenidos por los tres diferentes métodos

Aceite	Rf
Aceite método Soxhlet	0.850
Aceite método maceración	0.940
Aceite método extracción sólido-líquido	0,920

Lazo y Rivas (2014, p. 66) presentan un Rf de un patrón de ajo de 0.920. Comparándolo con los tres Rf obtenidos, el del método de maceración y el del método de

extracción sólido-líquido están dentro del rango del patrón; mientras que el R_f que no se parece es el del método Soxhlet, lo cual indica que hay otra sustancia, porque según Córdoba (2010) la alciina es insoluble en agua y el tipo de disolvente que se usó para la extracción Soxhlet fue agua.

Cromatografía en placa preparativa de gel de sílice

Para poder realizar el espectro de infrarrojo IR se procedió a realizar una cromatografía en placa preparativa con el aceite obtenido por método Soxhlet y maceración. Para así poder separar de los aceites extraídos anteriormente restos de solventes como agua y etanol.

Es importante mencionar que la cromatografía en placa preparativa se hizo para garantizar que la muestra no presentara agua o etanol. Y en el momento que se hiciera el espectro infrarrojo no absorbiera agua dado que este interfiere en el espectro de absorción por la formación de una banda ancha que enmascara u oculta bandas de absorción de los componentes en el ámbito de 3000 cm^{-1} a 3500 cm^{-1} (Departamento de Química Orgánica, Universidad Buenos Aires, 2017)

Ya que el tolueno es una sustancia muy tóxica y según el New Jersey Department of Health es una sustancia que atraviesa la piel de manera muy rápida y es teratogénica. Por lo que se debe buscar que los extractos queden libres de tolueno, esto se puede observar al hacer un espectro de infrarrojo a una absorbancia máxima de 275, ya que el tolueno tiene un anillo aromático y según Skoog (2015, p. 1043), estos se pueden ver a una longitud de 3010-3100.

Figura 48. Placa preparativa con el extracto de Soxhlet vista en la lámpara de UV a 254 nm.

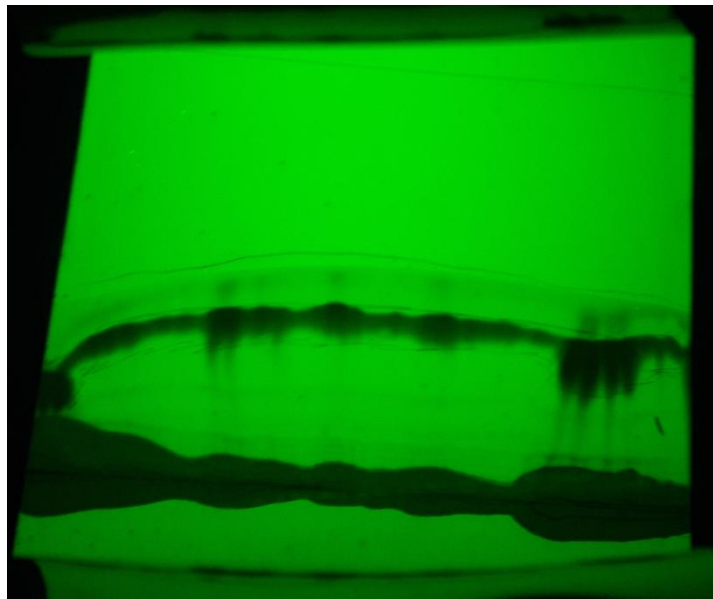
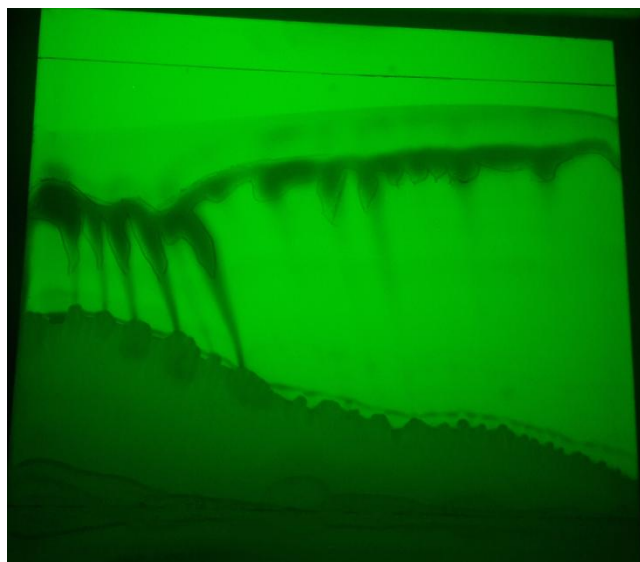


Figura 49. Placa preparativa con el extracto de maceración vista en la lámpara de UV a 254 nm.



Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite esencial de *Allium Sativum* L

En este apartado, se procedió a realizar un análisis del espectro infrarrojo usando un espectrofotómetro infrarrojo modelo Perkin Elmer Spectrum FT-IR, para las muestras del aceite.

En la figura 50 se puede observar el espectro infrarrojo de la muestra obtenida por extracción sólido-líquido.

Figura 50. Espectro de infrarrojo de la muestra obtenida por extracción sólido-líquido, realizado en la Universidad Iberoamericana.

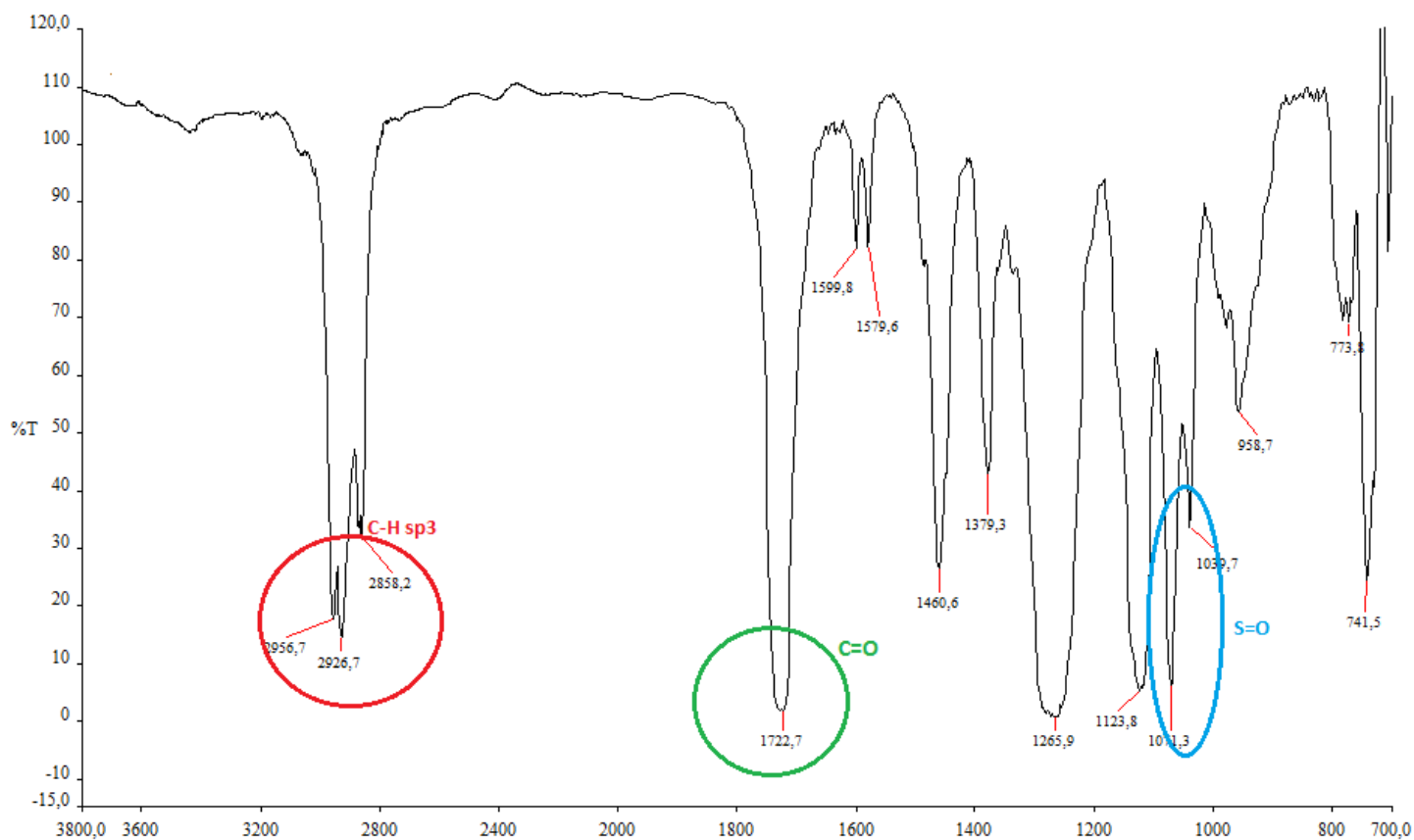


Tabla 10. Señales obtenidas en el espectro infrarrojo del aceite esencial de ajo por el método de extracción sólido-líquido, según el grupo funcional responsable de las mismas, así como el rango e intensidad teórico correspondiente a cada señal

Tipo de muestra	Señal detectada (cm ⁻¹)	Grupo funcional correspondiente	Rango aproximado de la señal teórico (cm-1)	Intensidad de la señal teórico
Extracto del aceite esencial de ajo por extracción sólido-líquido	2956	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por extracción sólido-líquido	2926	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por extracción sólido-líquido	2858	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por extracción sólido-líquido	1727	C=O carbonilo	1690-1760	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por extracción sólido-líquido	1040,4	S=O Sulfóxido	1050	Variable
Extracto del aceite esencial de ajo por	1070	S=O	1050	Variable

extracción
sólido-líquido

Sulfóxido

Se analizaron las señales obtenidas en el espectro IR figura 50 con la tabla de Principios de Análisis Instrumental Skoog (2015, p. 1043). Donde se obtuvieron diferentes señales que coinciden con esta tabla.

Según el espectro IR figura 50, las distintas señales que se obtuvieron representan grupos funcionales en el aceite esencial de ajo. Las primeras señales de gran importancia que se presentan en el espectro IR y que se señalan con un círculo rojo corresponden a la región comprendida alrededor de los 2850 cm^{-1} y los 3000 cm^{-1} , zona donde es común encontrar las señales respectivas de la vibración y movimiento de tipo “stretch” o estiramiento de los enlaces de tipo sp^3 y sp^2 , por lo que según la tabla teórica se detectan las señales a los 2956 cm^{-1} , 2926 cm^{-1} y 2858 cm^{-1} , por lo que, según la tabla de Skoog (2015), pertenecen al grupo C-H alcano estiramiento, que representa al movimiento de vibración entre un hidrógeno y un carbono de hibridación sp^2 de tipo presente en las moléculas de la alicina.

Las señales a los 1040 cm^{-1} y 1070 cm^{-1} que se señalan con un círculo azul en el espectro IR de la muestra del aceite esencial de ajo por método de extracción sólido-líquido, según el rango aproximado teórico, corresponde a un grupo S=O sulfóxido, en el cual el rango corresponde a 1050 con una señal variable y puede ser parte de la estructura de un metabolito presente en la alicina.

La señal a los 1722 cm^{-1} que se observa con un círculo de color verde del espectro IR de la figura 52, se observa que es un grupo carbonilo que corresponde a un ácido carboxílico, ya que según el rango teórico está entre $1690\text{-}1760\text{ cm}^{-1}$, este grupo

funcional no está presente en la molécula de alicina, pero según López (2007) si esta en el aminoácido cisteína que forma la aliina precursor de la alicina

Figura 51. Espectro de infrarrojo de la muestra obtenida por maceración, realizado en la Universidad Iberoamericana.

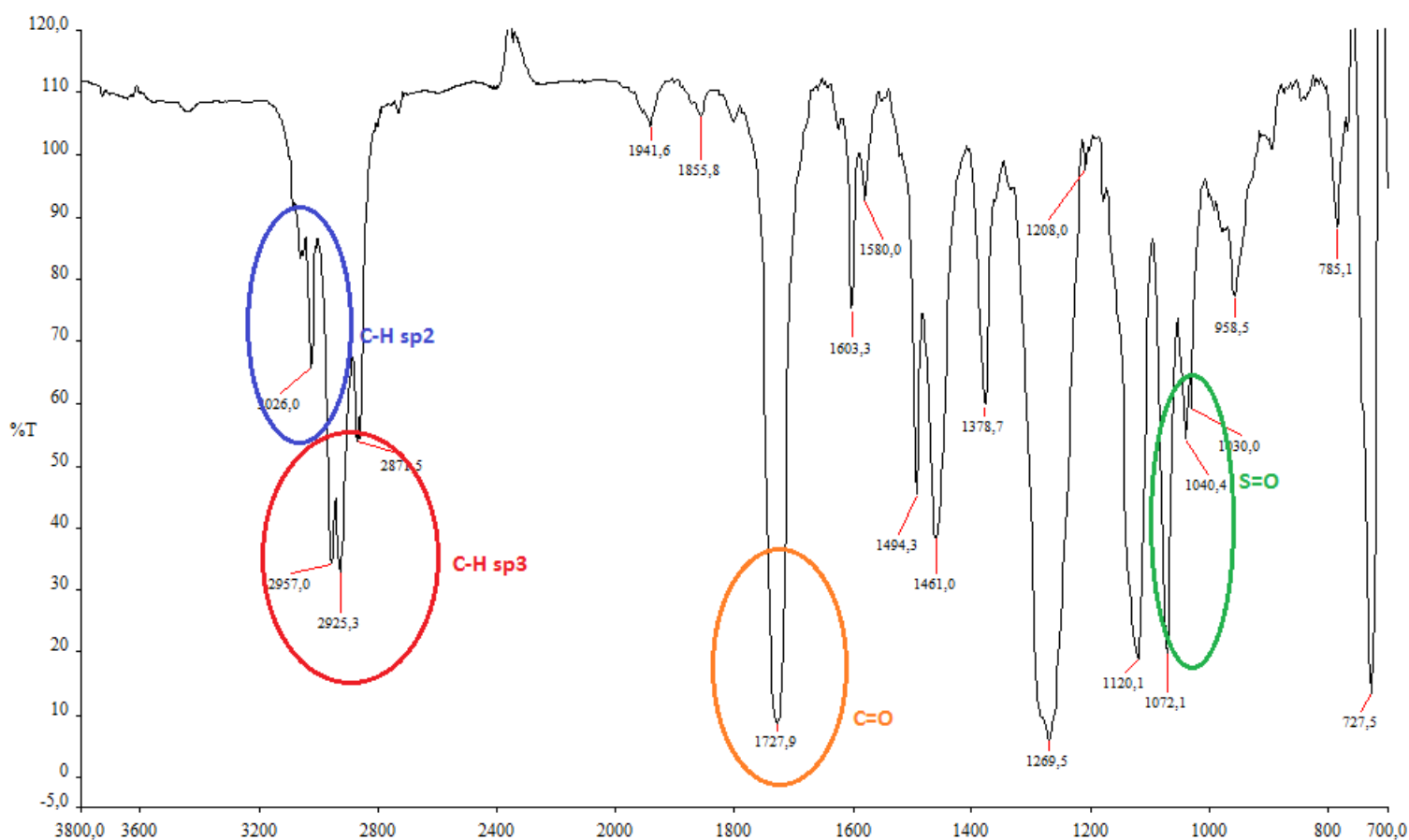


Tabla 11. Señales obtenidas en el espectro infrarrojo del aceite esencial de ajo por el método de maceración, según el grupo funcional responsable de las mismas, así como el rango e intensidad teórico correspondiente a cada señal

Tipo de muestra	Señal detectada (cm⁻¹)	Grupo funcional correspondiente	Rango aproximado de la señal teórico (cm-1)	Intensidad de la señal teórico
Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	3026	C-H alqueno	3010-3095	Media
Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	2957	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	2925	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	2871	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	1727	C=O Carbonilo	1690-1760	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	1040	S=O sulfóxido	1050	Variable
Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	1072	S=O sulfóxido	1050	Variable

En la figura 51 y 52 de los espectros de infrarrojo se observan para ambos prácticamente las mismas señales en donde:

La primera señal marcada con un círculo de color azul representa un grupo alqueno (C-H) esto debido a que según la literatura Skoog (2015) el rango de las señales son de 3010 cm^{-1} - 3095 cm^{-1} para alquenos.

Para el grupo C-H alcano sp^2 el rango teórico según Skoog (2015) es de la región comprendida alrededor de los 2850 cm^{-1} y los 3000 cm^{-1} . Indicando para las señales marcadas con un círculo rojo que pertenecen a este grupo.

La tercera señal que se muestra marcado con un círculo naranja corresponde un grupo carbonilo, esto porque está dentro del rango de la literatura de 1690 cm^{-1} - 1760 cm^{-1} con una intensidad de señal fuerte.

La cuarta señal marcada con color verde, corresponde a un grupo S=O sulfóxido en el cual el rango teórico corresponde a 1050 con una señal variable.

Tres de las cuatro señaladas que se observan en los espectros de las figuras 53 y 54 corresponden a grupos funcionales presentes en la molécula de Alicina. El ácido carbolixílico que se muestra con color naranja corresponde al aminoácido cisteína que forma la aliina, precursor de la Alicina.

Figura 52. Espectro de infrarrojo de la muestra obtenida por Soxhlet, realizado en la Universidad Iberoamericana

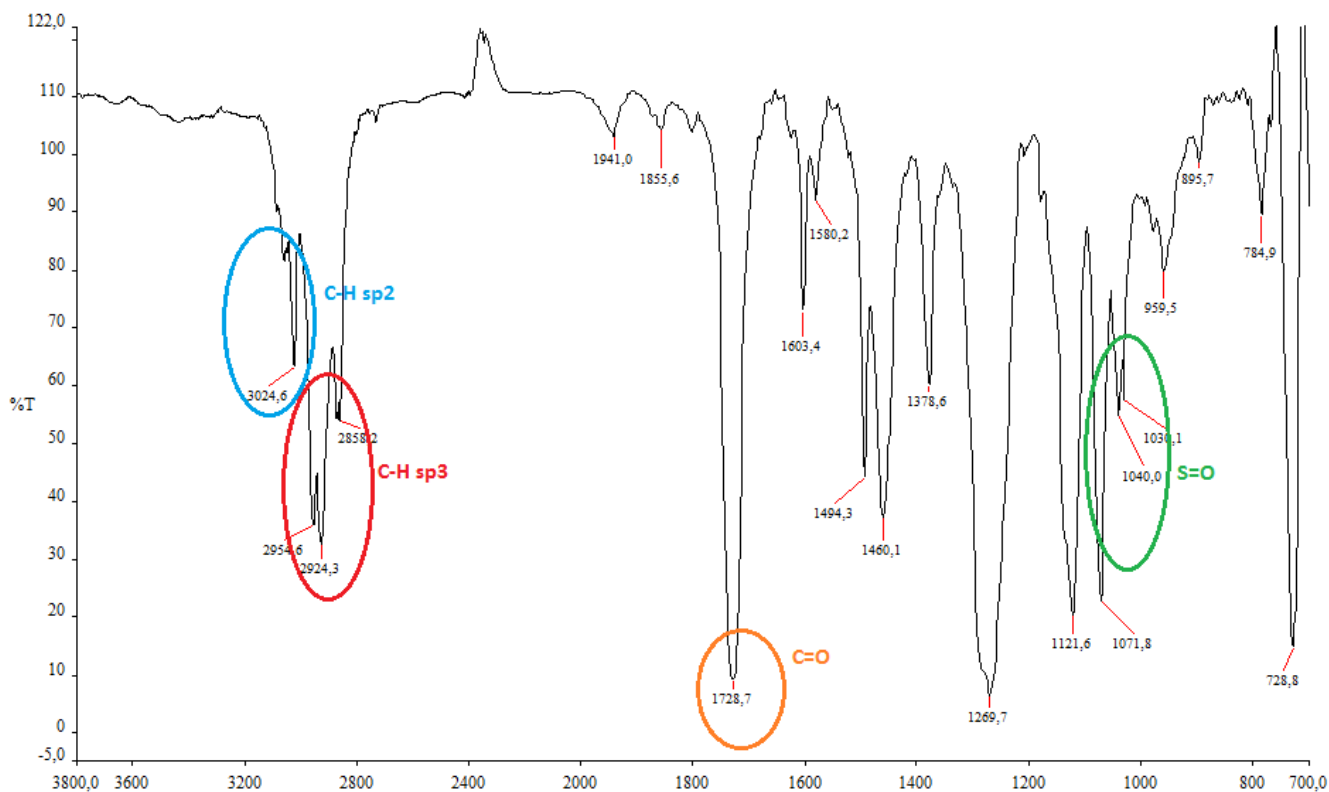


Tabla 12. Señales obtenidas en el espectro infrarrojo del aceite esencial de ajo por el método Soxhlet, según el grupo funcional responsable de las mismas, así como el rango e intensidad teórico correspondiente a cada señal

Tipo de muestra	Señal detectada (cm ⁻¹)	Grupo funcional correspondiente	Rango aproximado de la señal teórico (cm ⁻¹)	Intensidad de la señal teórico
Extracto del aceite esencial de ajo por Soxhlet	3024	C-H alqueno	3010-3095	Media
Extracto del aceite esencial de ajo por Soxhlet	2954	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por Soxhlet	2924	C-H alcano estiramiento	3000-2850	Fuerte

Soxhlet

Extracto del aceite esencial de ajo por maceración	1728	C=O Carbonilo	1690-1760	Fuerte
Extracto del aceite esencial de ajo por Soxhlet	1040	S=O sulfóxido	1050	Variable
Extracto del aceite esencial de ajo por Soxhlet	1071	S=O sulfóxido	1050	Variable

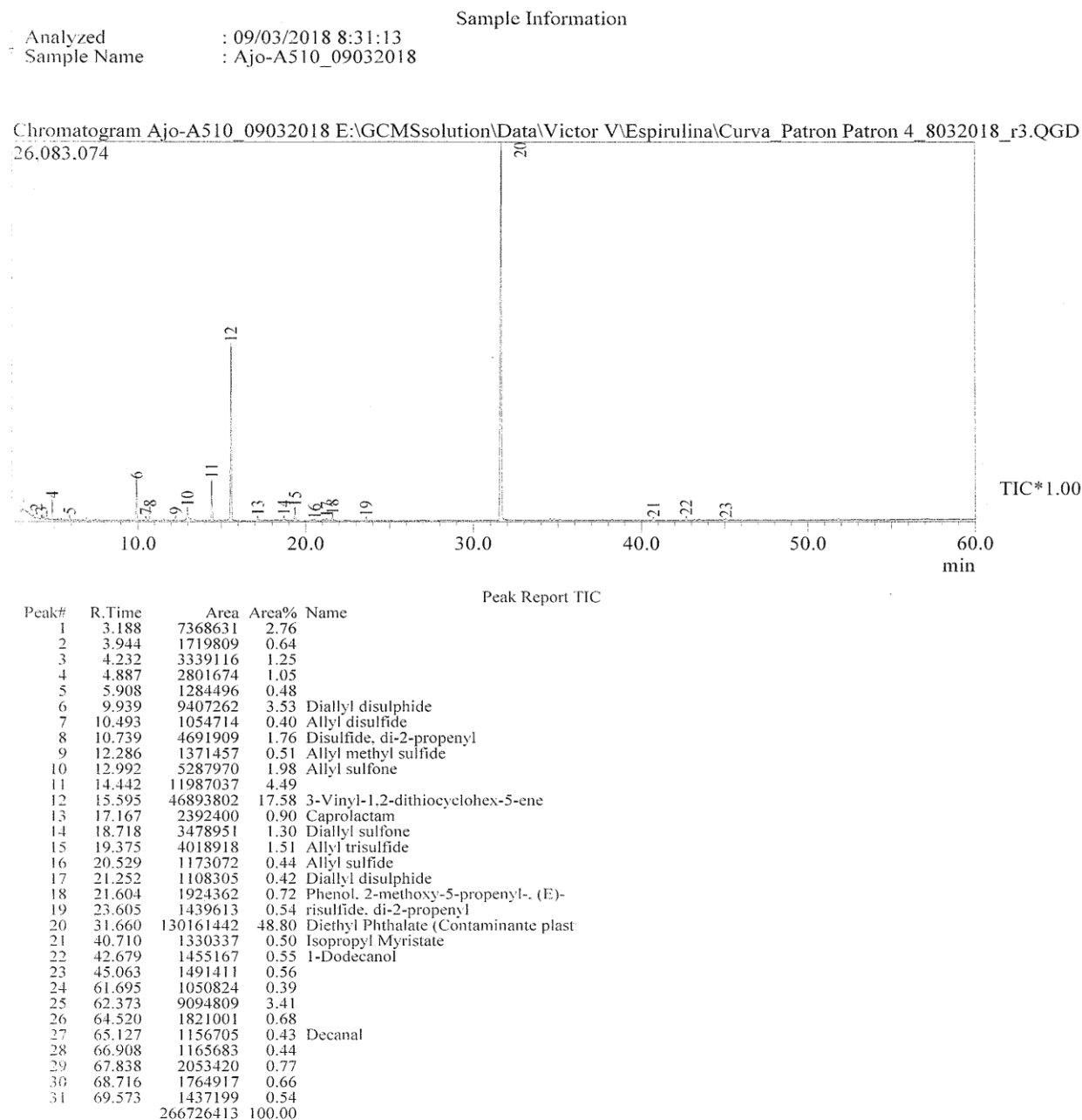
Análisis del cromatograma y espectro de masas obtenido del aceite esencial de *Allium Sativum* extraído por el método extracción sólido-líquido mediante la técnica de cromatografía de gases acoplado a un detector de masas

Para tener certeza de cuáles compuestos están presentes en el aceite esencial de *Allium Sativum*, se realizó un análisis de cromatografía de gases acoplado a un detector de masas (CG-MS). Es posible afirmar que dicha técnica, además de ser muy confiable, es eficaz para determinar la proporción de componentes con alto grado de veracidad, pues, no solo separa de forma individual, sino que también permite —mediante la espectrometría de masas— esclarecer los compuestos orgánicos por análisis de fragmentos mayoritarios.

La prueba fue contratada al Centro de Investigación en Productos Naturales de la Universidad de Costa Rica (CIPRONA). En el cromatograma se logró establecer la presencia de 8 compuestos pertenecientes al ajo: disulfuro de dialilo (3,53%), disulfuro de alilo (0,40%), disulfuro 2-propenilo (1,76%), sulfuro de metilo alílico (0,51%), alilo sulfona (1,98%), trisulfuro de alilo (1,51%) y sulfuro de alilo (0,44%).

En la figura 55, se observa la muestra del cromatograma para la muestra del aceite esencial obtenido por el método extracción sólido-líquido. Los tiempos de retención de los picos corresponden al disulfuro de dialilo con un tr 9,939 minutos; disulfuro de alilo con un tr 10,493 minutos; disulfuro 2-propenilo con un tr 10,739 minutos; sulfuro de metilo alílico con un tr 12,286 minutos; alilo sulfona con un tr 12,992 minutos; trisulfuro de alilo con un tr 19,375 minutos; y sulfuro de alilo con un tr 20,529 minutos.

Figura 53. Espectro de masas del Aceite esencial de Allium Sativum



Cuando la alicina se descompone da paso a otras moléculas como el disulfuro de alilo y trisulfuro de alilo. Estas fueron encontradas al hacer el análisis de cromatografía. Según Fulder (1999). tan pronto la alicina comienza a decaer paso a paso. El producto principal es disulfuro de alilo y también produce trisulfuros, como el trisulfuro metil alilo.

Formulación de una crema antimicrobiana a base del aceite esencial de ajo

La crema antimicrobiana a base del aceite esencial de ajo se realizó con los pasos del capítulo III del apartado de la elaboración de una crema antimicrobiana siguiendo la indicación que se encuentran en la USP, como resultado se realizó esta forma farmacéutica de uso tópico.

Según López (2015), las cremas hidrófilas tienen efecto evanescente, después de su aplicación pierden el agua rápidamente sin dejar ningún residuo apreciable. Por la pequeña cantidad de grasa, tienen poco efecto oclusivo y esta grasa se absorbe rápidamente en la piel. Debido a su pequeña proporción de grasa, no manchan.

Las cualidades de la crema corresponden a las características mencionadas por López (2015), además presenta una coloración blanca. El olor que presenta es esencia de bebé, ya que el olor característico del ajo es un olor muy fuerte y poco agradable para las personas. Su consistencia es suave y uniforme, es ideal para tratar los forúnculos y su fácil lavado hará que sea más práctica para los pacientes que tienen la enfermedad.

Figura 54. Crema antimicrobiana a base del aceite esencial de ajo.



El empaque primario fue elegido por la autora porque este brinda protección a la forma farmacéutica, es estéticamente atractivo y fácil de transportar.

Figura 55. Empaque primario.



Tabla 13. Características organolépticas y fisicoquímicas de la crema con aceite esencial de ajo *Allium Sativum* L, elaborada en las Instalaciones del Laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas (UIA)

Propiedad organoléptica o fisicoquímica	Resultado obtenido
Color	Blanco
Textura	Suave y de fácil aplicación
Olor	Fuerte
Aspecto	Viscoso

Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite y la crema de *Allium Sativum* L (ajo) en el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* mediante halos de inhibición.

Para confirmar que los ensayos se realizaron de forma adecuada y con las medidas de bioseguridad, se usaron técnicas asépticas y el uso de materiales e insumos estériles, en cada etapa de desarrollo de las pruebas se usó una cámara de flujo laminar. Durante el periodo de incubación se mantuvo variables como temperatura adecuada, según el procedimiento.

Para evaluar capacidad antimicrobiana de los tres tipos de aceites de ajo obtenidos por los distintos métodos frente al *Staphylococcus aureus*, se utilizó un cultivo de este microorganismo del laboratorio de microbiología Microlabs, el cual se preparó 24 horas antes de realizar las pruebas.

Figura 56. Cepa de Staphylococcus aureus.



La placa se rotuló de la siguiente manera:

- ❖ El aceite número 1 es el que se obtuvo por maceración reconstituido después de usarse la cromatografía, ya que el disolvente era etanol y este es antimicrobiano.
- ❖ El aceite número 2 es el que se obtuvo por extracción sólido- líquido.
- ❖ El aceite número 3 es el obtenido por el método Soxhlet.

Figura 57. Halo de inhibición de los extractos de los tres diferentes métodos.

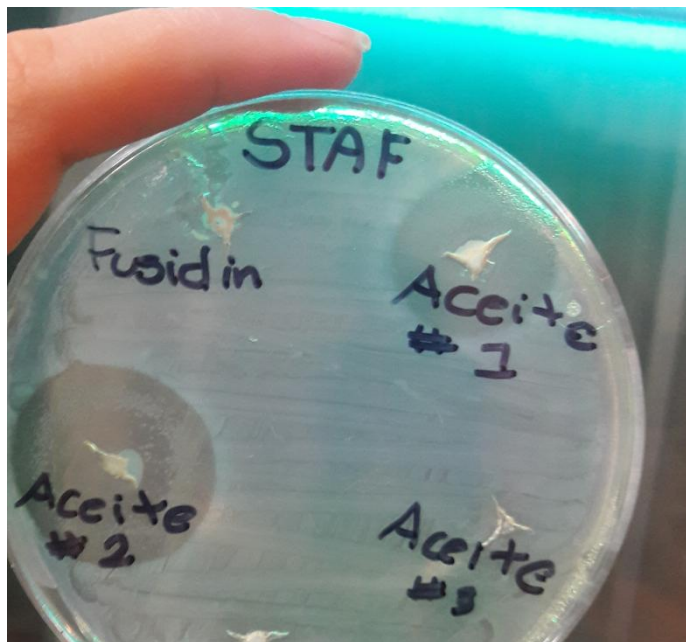


Tabla 14. Resultados de la formación de los halos de inhibición formados con distintas muestras

Muestra	Descripción de la muestra	Medida de halo de inhibición (mm)
1	Aceite que se obtuvo por maceración	7
2	Aceite que se obtuvo por extracción sólido-líquido	14
3	Aceite que se obtuvo por método Soxhlet	0
4	Crema Fucidin	0

En la figura 57 se observa que con el aceite 2 obtenido por el método de extracción solido-liquido hay inhibición en el crecimiento de la bacteria en estudio, dado que hay formación del halo de inhibición de gran tamaño. Ahora bien, comparándolo con el control positivo que fue la crema Fucidin, se ve que no hay formación de halo de inhibición por parte de esta.

En la tabla 14 se puede observar que los valores de medición obtenidos, siendo el caso del aceite 2 el que presentó mayor diámetro de inhibición, el cual fue de 14 mm, seguido de 7 mm para el aceite 1 y 0 mm para el aceite 3 y la crema Fucidin. Cabe señalar que se empleó de referencia este medicamento ya que cuenta con ácido fusídico, el cual tiene actividad bactericida, este proporciona un espectro de acción amplio contra la mayoría de cepas bacterianas, siendo efectivo contra *Staphylococcus aureus*.

Los halos de inhibición para la cepa de *Staphylococcus aureus* con el aceite 1 y 2 fueron de 7 mm y 14 mm. De acuerdo con Ribotty (2018, p. 13) en su estudio del efecto in vitro del extracto de *Allium Sativum L*, el halo de inhibición del bulbo contra el *Staphylococcus aureus* tiene un valor de 9,9 mm al 25%, 15,2 mm al 50% y 19,5 mm al 100%. Dando el aceite 2 entre el rango de dicha investigación, este sí coincide con datos positivos.

Según el laboratorio Leo Pharma (2008) el ácido fusídico. Inhibe las bacterias en concentraciones de 0,03-0,12 microgramos/ml. Estas inhiben casi todas las cepas de *Staphylococcus aureus*. La crema de ácido fusídico también es activa contra *Streptococos*, *Corynebacteria*, *Neisseria* y ciertos *Clostridium*. En la figura 58 se observa la actividad antibacteriana del ácido fusídico.

Figura 58. Espectro de la actividad invitro de la crema Fusidin**Table 1. Spectrum of In Vitro Activity of Sodium Fusidate**

Species	No. of strains tested	Cumulative percentage of strains inhibited by given concentration of Fucidin (in ug/mL)**										Activity Range in ug/mL.
		0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2*	4	8	
Staph. aureus (penicillin sens.)	149	-	11	50	74	98	100	100	100	100	100	0.03 - 0.3
Staph. aureus (penicillin resist.)												
Strep. pyogenes	10	-	-	-	-	-	-	-	-	40	100	4 - 16
Strep. pneumoniae	13	-	-	-	-	-	-	-	8	46	100	2 - 16
Strep. faecalis	8	-	-	-	-	-	-	13	13	100	100	1 - 8
N. gonorrhoeae	102	-	9	19	30	47	76	92	96	99	100	0.03 - 4
N. meningitidis	108	18	51	81	92	98	100	100	100	100	100	0.015 - 0.5
Clostridium spp.	42	-	-	21	50	74	88	100	100	100	100	0.06 - 1.0
Peptostrep. spp.	15	-	-	13	40	67	73	93	100	100	100	0.06 - 2
Bacteroides fragilis	83	-	-	-	-	1	4	31	80	89	94	0.25 - 16
Bacteroides spp.	72	-	-	7	14	29	47	60	79	90	94	0.06 - 16
Corynebacterium spp.	118	-	-	77	79	-	-	87	-	98	-	0.06 - 12.5

* isolates with MIC's greater than 2 ug/mL are considered to be insensitive at those serum concentrations achievable with normal doses of Fucidin.
** Expressed as sodium fusidate

Nota: Leopharma (2008)

La crema Fucidin no sirvió ya que estuvo sometida a la luz y altas temperaturas, y según la Oficina española de patentes (2004) el ácido fusídico se debe resguardar de la luz y temperaturas ya que se vuelve inestable.

Se realizó la prueba con las cremas que contenían 5 mL del extracto. Las cremas para medir la eficacia antimicrobiana se hicieron sin metilparabeno y propilparabeno, ya que estos poseen propiedades bactericidas. Se probó también con una crema sin aceite y sin parabenos.

Figura 59. Halo de inhibición de los extractos de los tres diferentes métodos.



Tabla 15. Resultados de la formación de los halos de inhibición formados con distintas muestras de crema

Muestra	Descripción de la muestra	Medida de halo de inhibición (mm)
1	Crema con aceite 1 (maceración)	7
2	Crema con aceite 2 (método sólido-líquido)	14
3	Crema aceite 3 (método Soxhlet)	0
4	Crema Fucidin	0

Crema sin nada

5

0

En la tabla 15 se puede observar los valores de medición de los halos obtenidos, presentando la crema 2 el mayor diámetro de 14 mm y seguida de 7 mm para la crema 1. De igual forma que en la primera prueba, la crema Fucidin y la crema 3, que representa el aceite obtenido por método Soxhlet, no hicieron halo de inhibición. Lo anterior porque pueda que sea otra sustancia, ya que, de acuerdo con Córdoba (2010), la alicina es insoluble en agua y para el método Soxhlet se uso agua como disolvente.

La forma farmacéutica 2 que representa la crema hecha con aceite obtenido por método extracción solido- líquido es la que tiene mayor actividad antibacteriana.

Los halos de inhibición de la crema 1 y 2 fueron de 7 mm y 14 mm respectivamente. De acuerdo con Ribotty (2018, p. 13) en su estudio del efecto in vitro del extracto de *Allium Sativum L*, el halo de inhibición del bulbo contra el *Staphylococcus aureus* tiene un valor de 9,9 mm al 25%, 15,2 mm al 50% y 19,5 mm al 100%. Dado que la crema 2 está entre el rango de dicha investigación, esta sí coincide dando datos positivos.

Se hizo una tercera prueba donde se compararon los aceites con cremas hechas con aceite.

Figura 60. Comparación del aceite con la crema.



En la figura 60 se puede ver que los halos de inhibición de los aceites comparados con las cremas son muy semejantes. Se ve que igual que en las demás pruebas los que hicieron halo de inhibición fueron los aceites de los métodos de maceración y extracción sólido-líquido.

Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- El material vegetal permite la extracción del aceite esencial mediante los métodos de maceración y el método de extracción solido-liquido.
- El disolvente que se uso para la extracción por método Soxhlet no fue el ideal, ya que la alicina es insoluble en agua.
- Se logró comprobar el efecto antimicrobiano del aceite esencial ajo obtenido por los métodos de maceración y el método de extracción solido-liquido
- Con base en los resultados obtenidos por espectroscopía infrarroja se detectó la presencia de los principales grupos funcionales del aceite esencial de ajo, correspondientes a la molécula de Alcina.
- Se determina que el aceite de ajo extraído por el método extracción solido-liquido, es el que tiene mayor actividad antimicrobiana. Esto se observó comparando sus halos de inhibición
- Se determina que el halo de inhibición del aceite esencial de ajo por método de maceración fue de 7 mm, dando como positivo la propiedad antimicrobiana del aceite esencial de ajo.
- Se observa que el halo de inhibición del aceite esencial de ajo por método extracción solido-liquido fue de 14 mm, dando como positivo la propiedad antimicrobiana del aceite esencial de ajo.
- Se observa que las dos cremas creadas con los aceites esenciales de ajo obtenidos por maceración y extracción solido-liquido crearon un halo de inhibición.

Recomendaciones

- A la hora de pelar y picar el ajo, es de suma importancia el uso de guantes ya que tiende a irritar un poco e impregnar el olor en la piel.
- En el momento de realizar la separación del solvente del aceite con el rota vapor, se recomienda no utilizar una temperatura mayor a 40 grados centígrados, ya que la Alicina es muy inestable en temperaturas mayores.
- Para evitar que la muestra sufra de algún cambio químico luego de la extracción, es importante que el aceite ya envasado se cubra con papel aluminio, se resguarde de la luz solar y se mantenga a una temperatura de 15 a 20 grados centígrados.
- Para conseguir una mayor seguridad de que se cuenta con cada uno de los componentes del aceite esencial de ajo, se sugiere la compra del patrón o estándar.
- Se recomienda evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial con otros microorganismos patógenos que sean de importancia para la salud de la población.

Referencias bibliográficas

- Alarcón, T., Delgado, S., Del Campo, R. y Ferrer, M. (2016). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, EIMC. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia59.pdf>
- Armas, A., Suarez, B., Crespo, N. y Suarez, A. (2015). Resistencia de *Staphylococcus aureus* a la meticilina en aislamientos nosocomiales en un hospital provincial. *Gaceta Medica Espirituana*, 17 (3), 1-3 Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1608-89212015000300011
- Astorga, K., Zúñiga, C. y River, W. (2014). Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (*Allium Sativum* L). *Instituto Tecnológico de Costa Rica. Tecnología en marcha*, 27 (1), p 77-84.
- Barrios, M. (2012). *Características Epidemiológicas, Clínicas y Microbiológicas de las infecciones por Staphylococcus Aureus adquirido en la comunidad en pediatría*. Universidad Complutense de Madrid. España.
- Bender, D. y Bercenas, M. (2013). *El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos*. Temas selectos de Ingeniería de alimentos, 7 (1), 25-36. Recuperado de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Bender-Bojalil-et-al-2013.pdf>
- Burillo, A., Moreno, A. y Salas, C. (2006). *Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos*. Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y

Microbiología Clínica, EIMC. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia22.pdf>

Catalán, H., Tribaldos, H. y Tribaldos, J. (2013). *El ajo, maquinaria y técnicas de cultivo, desde el punto de vista del agricultor*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Recuperado de http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/publicaciones/H108476_tcm7-329111.pdf

<http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/726/1/UDLA-EC-TIAG-2012-16.pdf>

Cervantes, E., García, R., y Salazar, P.M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 61(1), 28-40.

Cevallos, K. (2012). *Obtención de aceite esencial crudo de jengibre (Zingiber officinale) mediante los métodos soxhlet y arrastre por vapor*. Universidad de las Américas, Ecuador. Recuperado de

Chalar, L., Moya, J., Vargas, E., Rebollo, M y Romero, B. (2014). *Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Escherichia coli*. Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Medicina. Bolivia

Contreras, C. y Ruiz, J. (2012). *Estudio comparativo de dos métodos de extracción para el aceite esencial presente en la cascara de pomelo (Citrus máxima)* (Tesis para optar al grado de químico). Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería.

Recuperado de
http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/108/1/Proyecto%20final%20de%20grado%2014-11-2012_.pdf

Córdoba, M. (2010). *Extracción y purificación de Alicina a partir de ajo (Allium sativum L): Implicaciones analíticas*. Instituto Politécnico Nacional. Centro de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Santa Cruz, Xoxocotlán, Oaxaca.

Corrales, I. y Reyes, Juan. (2014). Actividad antimicrobiana y antifúngica de Allium Sativum en Estomatología. *Revista 16 de abril*, 258, 59-68. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/336013173/Actividad-Antimicrobiana-y-Antifungica-de-Allium-Sativum-En>.

Cubillo, M. (2007). *Determinación de la actividad antimicrobiana de algunas especies naturales sobre microorganismos asociados a alimentos* (Tesis para optar al grado de licenciado en Microbiología y Química Clínica). Universidad de Costa Rica.

El Liberal. (2014). La OMS difunde cuáles son los 7 agentes infecciosos más peligrosos por su alta resistencia a los antibióticos. *El Liberal*. Recuperado de <https://www.elliberal.com.ar/noticia/134554/oms-difundio-cuales-son-7-agentes-infecciosos-mas-peligrosos-resistencia-antibioticos>

Committe on herbal medicinal products (2016). Assessment report on Allium sativum L bulbos .European Medicines Agency. Recuperado de: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-HMPC_assessment_report/2016/07/WC500210924.pdf

- Guapulema, M. (2013). *Proceso y elaboración de cápsula de ajo* (Tesis para optar al grado de ingeniero químico). Universidad de Guataquil. Ecuador.
- Hernández, R. (2014). *Metodología de la investigación, Interamericana* (6.ª ed.). México: McGraw-Hill.
- Lazo, D. y Rivas, V. (2014). *Estudio de las propiedades antifungicas de los extractos de Hojas de Cassia Grandis (Carao) y bulbos de Allium sativum (Ajo) en Microsporium cani, Trichophyton rubrum y Epidermophyton floccosum*. Universidad de el Salvador. Facultad de Química y Farmacia. El Salvador.
- Lemus, D., Maniscalchi, M., Ledesma, E., Sánchez, J. y Apitz, R. (2009). *Ajoene más intraconazol en la terapia combinada de un caso de onicomiosis*. Sede de Universidad de Oriente, Venezuela. Recuperado de <file:///C:/Users/Andre/Downloads/ajoenemasitraconazol.pdf>
- Leo Pharma Inc.(2008). Product Monograph FUCIDI. Recuperado de: [file:///C:/Users/Andre/Desktop/Fucidin+Cream +Ointment+PM+\(1.01\)+6-AUG-2008.pdf](file:///C:/Users/Andre/Desktop/Fucidin+Cream +Ointment+PM+(1.01)+6-AUG-2008.pdf)
- Lopez, B., Ortonobes, S. y García, A. (2015). Ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿es todo lo mismo? *Form Act Pediatr Prim*, 8(4), 183-7. Recuperado de http://archivos.fapap.es/files/639-1294-RUTA/FAPAP_4_2015_Unguentos_pomadas.pdf
- Martínez, A., Montes de Oca, M. y Alemañy, J. (2017) Resistencia antimicrobiana del *Satphylococcus aureus* resistente a meticilina en el hospital Dr. Gustavo Aldereguia

- Lima. Medisur. *Revista en Internet* (2017), 15-2. Recuperado de <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/3321/2297>
- Mejías, M., Molist, P. y Pomball, M. (2016). *Atlas de histología vegetal y animal*. Tegumento. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Recuperado de <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/o-a-tegumento.pdf>
- Moroga, F. y Martínez, A. (2012). Enfermedades bacterianas de la piel. *Pediatría Integral*, XVI(3), 235-243. Recuperado de https://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2012/06/235-243-Enf.Bact_.pdf
- Moyano, M., Peuchot, A. y Giachetti, A. Infecciones de piel y partes blandas en pediatría: consenso sobre diagnóstico y tratamiento. *Revista Sociedad Química del Perú*, 79, 1. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100004
- Muñoz, F. (2016). *Cromatografía en papel y capa fina*. Práctica número 7. Universidad de los ANDES, Mérida, Venezuela. Recuperado de <http://webdelprofesor.ula.ve/ciencias/fidelmun/practica7.pdf>
- New Jersey Department of Health. (2016). *Hoja informativa sobre sustancias peligrosas Tolueno*. Recuperado de: <http://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1866sp.pdf>
- OMS. (2017). *Un informe de la OMS informa que el mundo se está quedando sin antibióticos* [página web]. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/running-out-antibiotics/es/>

OMS. (2013). *Medicina tradicional: definiciones*. Recuperado de http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/

Paredes, D., Quinotoa, F. (2010). *Desarrollo de un sistema de extracción de aceites esenciales*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Mecánica, Escuela de Ingeniería Mecánica. Ecuador

Pava, T. (2016). *Actividad Antimicrobiana de Extractos de Allium sativum y Zingiber Officinale sobre microorganismos de importancia en patologías infecciosas de cavidad oral*. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia.

Plasencia, A. (2015). *La espectrometría de masas*. Universidad del Norte Ficaya. Recuperado de <https://es.slideshare.net/caritolinda37017/espectrometria-y-cromatografia-de-masa>

Puga, D. (2015). *Actividad Antifúngica: estudio microbiológico comparativo entre el ajoeno y el aceite esencial de hierba Luisa al 100% sobre cepas de Candida Albicans*. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Odontología.

Ramírez, R., Narcedalia, L. y Martínez, Ericka. (2016). Efectos terapéuticos del Ajo (Allium Sativum). *Salud y administración*, 3, 2-8. Recuperado de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.unsis.edu.mx/r/evista/doc/vol3num8/A4_Efectos_Terapeuticos_Ajo.pdf

Ribotty, V. (2018). *Efecto in-vitro del extracto acuoso de Allium Sativum (ajo) sobre cepas de Stahylococcus aureus resistente a la meticilina* (Tesis para optar al título profesional de médico cirujano). Facultad de Medicina. Chiclayo, Perú. Recuperado

de

http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/bitstream/usmp/3212/3/ribotty_sv.pdf

Rodríguez, B. y Zhagui, R. (2016). *Extracción y uso del colorante natural de la flor de Jamaica (Hibiscus Sabdariffa) como alternativa para la elaboración de salchicha y yogur. Universidad de Ciencias Químicas* (Tesis previa para optar al título de ingeniero químico). Universidad de Cuenca. Recuperado de <file:///C:/Users/Andre/Downloads/tesis.pdf>

Ruiz, M. (2017). *Elaboración de una crema antimicrobiana a base del aceite esencial de jengibre (Zingiber officinale Roscoe) para tratar los forúnculos*. Tesis para optar al grado de licenciado en Farmacia. Universidad Internacional de las Américas.

Sánchez, E., Rojas, S. y Agüero, N. (2015). Investigaciones actuales del empleo de *Allium sativum* en medicina. *Revista electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaureta*. 41(3), 2-5.

Sánchez, J. (2013). Revisión bibliográfica: Forunculosis. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica*, LXX(608), 569-571. Recuperado de <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/608/art2.pdf>

Sejia, L. (2008). *Temas de bacteriología y virología médica*. Etiopatogenia microbiológica. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>

Sosa, L. y Sosa, C. (2014). Infecciones bacterianas primarias de piel y tejidos blandos. *CCAP*, 12(3), 46-47. Recuperado de http://www.scp.com.co/precop-old/precop_files/ano12/TERCERO/infecciones_bacterianas.pdf

- Soto, V., Camargo, A., Gonzalez, R. y Galmarini, C. *Síntesis y purificación de ajoeno y su cuantificación en aceites comerciales de ajo*. Tomo XXXIX. N 1.
- Transito, M. (2007). *El ajo propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas*. Ámbito Farmacéutico, fitoterapia.
- Toledano, M. (2017). *Optimización del proceso de elaboración y caracterización fisiológica y fisicoquímica del ajo negro*. Universidad de Córdoba. Recuperado de <http://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/15111/2017000001692.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vega, H. y Vega, N. (2015). *Costos por consumo de antibióticos en infecciones causadas por Pseudomona areruginosa en el Hospital Universitario Fernando Toconis de Santa Marta* (Tesis para optar al grado de especialista en Epidemiología). Universidad Cooperativa de Colombia. Recuperado de <http://repository.ucc.edu.co/bitstream/ucc/253/1/Especializaci%C3%B3n%20en%20Epidemiolog%C3%ADa.pdf>
- Velilla, M. y Ávila, J. (2016). La piel: un enfoque integral más allá de la función de barrera. *Revista Dermatología CMQ*, 14(4), 328-329. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2016/dcm164i.pdf>
- Xatruch, C. (2015). *Análisis de las propiedades terapéuticas de un preparado farmacéutico de uso tópico a partir del aceite esencial extraído de la planta Syzygium aromaticum* (Tesis para optar al grado de licenciado en Farmacia). Universidad Internacional de las Américas, Costa Rica.