



“EVALUACIÓN DEL EFECTO
ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Ocimum basilicum* L.
“ALBAHACA” Y *Zingiber officinale* Roscoe
“JENGIBRE” FRENTE A CEPAS
PATÓGENAS DEL GÉNERO *Vibrio*
AISLADAS DE LANGOSTINOS
ENFERMOS CULTIVADOS EN CENTROS
ACUÍCOLAS DE TUMBES – PERÚ”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRA
EN SANIDAD ACUÍCOLA

CARITO PAOLA JABO ABAD

LIMA - PERÚ

2023

ASESOR

Dr. Mg. MV. MARCOS ENRIQUE SERRANO MARTÍNEZ

CO ASESOR

DR. MV. LUIS ANTONIO LLANCO ALBORNOZ

JURADO TESIS

DR. MV. CARLOS MARTIN SHIVA RAMAYONI

PRESIDENTE

MG. MV. CLARISA ELIZABETH HINOSTROZA MEZA

VOCAL

MG. MV. FARIVA TRILCE VICUÑA ALVARADO

SECRETARIA

DEDICATORIA

Dedicado a mi tesoro más preciado, mi familia, especialmente a mi señor padre, Antero, a mi señora madre, Celinda y, a mis hermanos. Ellos son motor, motivo e inspiración en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios, por todas las oportunidades brindadas. A los docentes por su apoyo y conocimientos brindados durante la maestría y tesis, el camino correcto durante la maestría, al personal administrativo por su cooperación en cada trámite realizado.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

La realización de esta tesis para optar el grado de Magister en Sanidad Acuícola ha sido gracias al apoyo financiero otorgado al Programa de Maestría en Sanidad Acuícola de la UPCH subvencionado por FONDECYT del CONCYTEC (Convenio de Gestión N° 230- 2015- FONDECYT-DE-PROMOCION 3).

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ocimum basilicum* L. "ALBAHACA" Y *Zingiber officinale* Roscoe "JENGIBRE" FRENTE A CEPAS PATÓGENAS DEL GÉNERO *Vibrio* AISLADAS DE LAN

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%	10%	7%	2%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	1%
2	www.revistaepgunapuno.org Fuente de Internet	<1%
3	mreynosoblog.wordpress.com Fuente de Internet	<1%
4	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
5	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%
6	worldwidescience.org Fuente de Internet	<1%
7	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
8	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1%

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
III. MARCO TEÓRICO	4
3.1 <i>Litopenaeus vannamei</i>	4
3.2 Vibriosis	5
3.3 Aceite esencial:	7
3.3.1 <i>Ocimum basilicum</i> L. “Albahaca”	8
3.3.2 <i>Zingiber officinale</i> Roscoe “Jengibre”	10
3.3.3 Extracción de aceites esenciales	12
IV. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	13
V. OBJETIVOS.	15
5.1 Objetivo general	15
5.2 Objetivo específico	15
VI. METODOLOGÍA	16
6.1 Lugar de Estudio	16
6.2 Tipo de Estudio	16
6.3 Criterios de inclusión y exclusión	17
6.4 Tamaño de muestra	17
6.5 Recolección y procesamiento de muestras o datos	18
6.5.1 Aceites esenciales	18
6.5.2 Material Biológico)	19
6.5.2.1 Reactivación de cepas <i>Vibrio</i>	19
6.5.2.2 Extracción de DNA	20
6.5.2.3 Identificación molecular de las cepas mediante PCR	21
6.5.3 Determinación de actividad inhibitoria <i>IN VITRO</i> en placa mediante difusión en pozos de agar	22
6.5.4 Determinación Concentración mínima inhibitoria (CMI)	24
6.5.5 Determinación de Concentración Mínima Bactericida	26
6.6 Plan de análisis de datos	27
6.7 Consideraciones éticas	28

VII. RESULTADOS	29
7.1 Identificación de las cepas patógenas	29
7.2 Identificación, cuantificación de componentes químicos y pureza de aceites esenciales	31
7.3 Evaluación de actividad inhibitoria in vitro (método de difusión en pozos de agar)	35
7.4 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (cmi)	38
7.5 Determinación de la concentración mínima bactericida	38
VIII. DISCUSIÓN	40
IX. CONCLUSIONES	48
X. RECOMENDACIONES	49
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
XII. ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificación de cepas patógenas mediante PCR	31
Tabla 2. Composición química del aceite esencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. “Albahaca”	32
Tabla 3. Composición química del aceite esencial de <i>Zingiber officinale</i> Roscoe “jengibre”	33
Tabla 4. Análisis de normalidad de los halos de inhibición según grupo de concentración 5, 10 y 20% de los aceites esenciales frente a las cepas de <i>Vibrio</i>	35
Tabla 5. Actividad antibacteriana (halos de inhibición) de los aceites esenciales de <i>Ocimum basilicum</i> L. y <i>Zingiber officinale</i> Roscoe a concentraciones de 5, 10 y 20 % frente a la cepas patógenas de <i>Vibrio</i>	37
Tabla 6. Análisis de las diferencias significativas entre los grupos de las concentraciones 5%, 10% y 20% de cada aceite esencial	37
Tabla 7. Análisis entre los grupos de las concentraciones 5%, 10% y 20% del aceite esencial de Albahaca	37
Tabla 8. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. “albahaca” (AEA) frente a cepas patógenas del género <i>Vibrio</i>	38
Tabla 9. Concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. “albahaca” (AEA) frente a cepas patógenas del género <i>Vibrio</i>	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Antibiograma de cepas patógenas del género <i>Vibrio</i> realizados en este estudio	24
Figura 2. CMI de cepas patógenas del género <i>Vibrio</i> realizados en este estudio	26
Figura 3. Identificación bioquímica presuntiva de cepas patógenas de género <i>Vibrio</i> mediante tinción Gram.	9
Figura 4. Identificación bioquímica presuntiva de cepas patógenas de género <i>Vibrio</i> mediante prueba de catalasa.	29
Figura 5. Identificación bioquímica presuntiva de cepas patógenas de género <i>Vibrio</i> mediante prueba de oxidasa	30
Figura 6. Identificación molecular mediante PCR para las diferentes cepas patógenas de <i>Vibrio</i> . <i>V.a:</i> <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>V.m:</i> <i>V. mimicus</i> , <i>V.p:</i> <i>V. parahaemolyticus</i> . 1000 bp: Marcador de peso molecular.	30

RESUMEN

El cultivo de *Litopenaeus vannamei* “Langostino blanco” es uno de los más importantes en nuestro país debido a que su producción deja grandes divisas. Estos cultivos se ven mermados por bacterias que producen pérdidas económicas y productivas. Las malas prácticas en el uso de los antimicrobianos están generando la disminución de la eficacia de estos fármacos (resistencia antimicrobiana). Ante ello, se enfoca el interés en estudios con extractos de plantas con propiedades antibacterianas. Basándose en la problemática, la investigación evaluó las propiedades antibacterianas *in vitro* del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” y *Zingiber officinale* Roscoe “Jengibre” frente a 28 cepas patógenas del género *Vibrio* aisladas de langostinos de cultivo, los cuales ocasionan una enfermedad llamada Vibriosis. Se halló que el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. tiene mayor actividad antimicrobiana que *Zingiber officinale* Roscoe, con halos de inhibición de 19.33, 21.48 y 21.94 mm de diámetro a concentraciones de 5, 10 y 20 (v/v) respectivamente, mientras que el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe presentó halos de inhibición de 16.806, 17.516 y 16.468 mm, a través del método de difusión en pozos de agar. Además, el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. a concentración de 0.16 (v/v) manifiesta propiedades bacteriostáticas, y a concentración de 0.31 (v/v) manifiesta propiedades bactericidas frente a las cepas patógenas testadas.

Palabras claves: Actividad antimicrobiana, *Litopenaeus vannamei*, *Ocimum basilicum* L., *Vibrio*, *Zingiber officinale* Roscoe

ABSTRACT

Farming of *Litopenaeus vannamei* "white shrimp" is one of the most important in our country because its production generates great foreign exchange. These farms are affected by bacteria that produce economic and productive losses. Bad practices in the use of antimicrobials are generating a decrease in the efficacy of these drugs (antimicrobial resistance). In view of this, interest is focused on studies with plant extracts with antibacterial properties. Based on this problem, the research evaluated the in vitro antibacterial properties of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. "Basil" and *Zingiber officinale* Roscoe "Ginger" against 28 pathogenic strains of the genus *Vibrio* isolated from farmed white shrimp, which cause a disease called Vibriosis. It was found that, the essential oil of *Ocimum basilicum* L. has greater antimicrobial activity than *Zingiber officinale* Roscoe, with inhibition halos of 19.33, 21.48 and 21.94 mm in diameter at concentrations of 5, 10 and 20 (v/v) respectively, while, the essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe presented inhibition halos of 16.806, 17.516 and 16.468 mm, through the method of diffusion in agar wells. In addition, the essential oil of *Ocimum basilicum* L. at a concentration of 0.16 (v/v) manifested bacteriostatic properties, and at a concentration of 0.31 (v/v) manifested bactericidal properties against the pathogenic strains tested

Keywords: Antimicrobial activity, *Litopenaeus vannamei*, *Ocimum basilicum* L., *Vibrio*, *Zingiber officinale* Roscoe.

I. INTRODUCCIÓN

La especie de *Litopenaeus vannamei* “langostino blanco”, es muy importante en la acuicultura de nuestro país, en el 2016 fue la más exportada, por ende, su producción deja grandes divisas para el Perú. Estas producciones se ven afectadas por la aparición de enfermedades, entre ellas la vibriosis del langostino blanco que produce pérdidas económicas. Una acción recurrente en el tratamiento de esta enfermedad es el manejo de antibacterianos, entre ellos oxitetraciclina, florfenicol, enrofloxacin, etc. (Roque *et al.*, 2001; Santiago *et al.*, 2009).

No obstante, las malas prácticas de los fármacos (mal uso y/o uso excesivo), está fomentado la resistencia bacteriana, que es la capacidad de las bacterias de resistir a los efectos de los fármacos. Del mismo modo, la acumulación de residuos peligroso en los productos pesqueros y contaminación de los sistemas acuáticos, por estas razones son una preocupación para el rendimiento productivo y la sanidad pública (Aguirre *et al.*, 2021)

Por consiguiente, se está enfocando el interés en los ensayos con extractos de plantas y aceites naturales, aprovechando los antimicrobianos naturales contra enfermedades bacterianas y así impedir el manejo absoluto o incompleto de antibacterianos. Diversos autores proponen a los prebióticos, probióticos, aceites esenciales de hierbas curativas como las mejores opciones ecoamigables (Sosa *et al.*, 2013).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En nuestro país, para controlar o atacar las enfermedades bacterianas que atacan a especies de cultivo ya sean langostinos, bivalvos, peces; se requiere el uso de fármacos como ampicilina, oxitetraciclina, enrofloxacina, florfenicol, etc., muchas veces usados sin prescripción médica, generando con el tiempo la disminución de eficacia de los fármacos, y dando lugar a un problema llamado resistencia bacteriana (Santiago *et al.*, 2009).

En la industria langostinera en Tumbes se ha evidenciado resistencia a ampicilina, cloranfenicol y tetraciclina (Rosado, 2018), lo cual se está volviendo un dolor de cabeza para la producción animal, también para la salud del hombre, al quedar residuos de los fármacos en los tejidos comestibles del langostino, alterando la microbiota intestinal del consumidor. Además de la contaminación del medio acuático por residuos no biodegradables de estos fármacos (Santiago *et al.*, 2009).

Últimamente se viene aplicando frecuentemente extractos y derivados de vegetales a manera de alternativa medicinal, especialmente aceites esenciales a fin de controlar las enfermedades en especies acuáticas (Dorman y Deans, 2000; Sorroza *et al.*, 2017).

En la composición química de los aceites esenciales se encuentra monoterpenos sesquiterpenos y diterpenos que presentan propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antivirales e inmunoestimulantes, por lo que el uso de aceites esenciales obtenidos de plantas naturales constituye una opción para controlar y/o combatir las enfermedades (Citarasu, 2010; Colivet *et al.*, 2011).

Es evidente que, urge realizar investigaciones que evalúen los efectos antibacterianos de aceites esenciales con el fin de salvaguardar la sanidad y calidad de los cultivos acuícolas y del medio acuático.

En consecuencia, este estudio se enfocó en evaluar la capacidad antibacteriana in vitro del aceite esencial de albahaca y jengibre frente a cepas patógenas del género *Vibrio* que afecten la producción langostinera, pues es el primer paso para la búsqueda de nuevos fármacos amigables y disponer de información básica para comenzar los estudios en organismos vivos.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 *Litopenaeus vannamei*

En el continente americano, en el 2008, el rendimiento productivo de *Litopenaeus vannamei* conformó el 80,7% de la acuicultura mundial (FAO, 2010). En nuestro país, *Litopenaeus vannamei* y *Argopecten purpuratus*, son dos especies muy significativas por su volumen de cosecha en nuestra acuicultura. La industria del langostino blanco experimenta un crecimiento significativo en las últimas décadas, después de su caída en la producción por el virus de Mancha Blanca (1999 – 2002), teniendo así volúmenes de cosechas de 3667 TM en 1993 a 57 349 TM en 2013. La producción de langostinos está centrada en la zona norte de Perú, siendo en Tumbes (92%) el principal departamento seguido por Piura (8%) (Baltazar *et al.*, 2014).

COMEX (2018), apunta que, los langostinos ocuparon el primer lugar en obtener las mejores divisas producidas por especies acuáticas derivados de nuestra acuicultura, pues se exportaron un 70.4%, generando mayores ingresos en el 2016. Cabe resaltar que, en el 2017, las exportaciones de langostinos registraron un alto valor de 216 millones de dólares, equivalente a un 38.2% más que el valor registrado exportado en el 2016.

No obstante, la presencia de agentes infecciosos como virus o bacterias alteran el rendimiento productivo de *Litopenaeus vannamei* (Alfaro *et al.*, 2010; Gracia *et al.*, 2011; Sosa *et al.*, 2013). Además, las enfermedades que afectan a los recursos de acuicultura, tienen la posibilidad de afectar a las

poblaciones de especies que no son de cultivo situando en peligro su condición saludable. La procedencia de los agentes infecciosos posiblemente sea de poblaciones naturales, como también pueden habitar en la propia especie o en especies semejantes a la de crianza (Raynard *et al.*, 2007).

3.2 Vibriosis

Enfermedad ocasionada por bacterias patógenas extracelulares y oportunistas correspondientes al género *Vibrio*, ocasiona la muerte del langostino blanco en las diferentes fases de su cultivo (fase de larva y fase de engorde). Según el área donde se presente la sintomatología clínica puede denominarse, Vibriosis oral, cuticular, de los apéndices, entérica, localizadas en las heridas, necrosis séptica del hepatopáncreas, síndrome de concha suelta (SLSS), enfermedad del intestino blanco (WGD) y vibriosis sistémica (Cuellar, 2010).

Los cambios o alteración de temperatura, salinidad y disponibilidad de nutrientes en el cultivo del langostino blanco, causan que se desarrolle la vibriosis. El rango de temperatura entre 21-37°C desarrolla la vibriosis (Franco *et al.*, 2010). A continuación, se mencionan las bacterias patógenas que causan la vibriosis: en: *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. anguillarum*, *V. penaeicida*, *V. harveyi*, *V. damsella*, *V. orientalis*, *V. campbellii*, *V. carchariae*, *V. pelagicus*, *V. fischeri*, *V. harveyi*, *V. logei* y *V. ordalii*.

El ingreso al hospedero (langostino) es penetrando el exoesqueleto por intermedio de poros y/o perforaciones elaboradas por enzimas quitinolíticas

(Cuellar, 2010; Rebouças *et al.*, 2017), y por el intestino medio que carece de exoesqueleto (Bauer, 1998; Cuellar, 2010), encontrándose al intestino como el área de mayor multiplicación por disponer de muchos más elementos orgánicos que el agua (Connell *et al.*, 1998).

Los signos clínicos que presentan los langostinos enfermos por vibriosis pueden ser anorexia, exoesqueleto perforado, intestino vacío, coloración rojiza, letargia, nado errático o hacia las orillas del estanque, reflejo de huida ausente, urópodos o apéndices rojos, edema en los urópodos, músculo intestinal opaco, cutícula melanizada (Cuéllar, 2013).

Para el control de esta enfermedad se emplean antibióticos o antibacterianos por ejemplo enrofloxacina, florfenicol, oxitetraciclina, entre otros (Roque *et al.*, 2001; Santiago *et al.*, 2009). Los antibacterianos mencionadas líneas arriba están permitidas en diferentes territorios tal es México (Santiago *et al.*, 2009), Costa Rica (Varela y Alfaro, 2018) y Perú (SANIPES, 2016) (ver anexo A y B). El tratamiento contra la vibriosis, se lleva a cabo combinando los antibióticos con alimento peletizado y proporcionados cada 8 horas por 10 días (Cuellar, 2010), sin embargo, la utilización errónea o indiscriminada de antibióticos promueve la resistencia antimicrobiana (López, 2007), por tal motivo, se experimentan alternativas para evitar el empleo de antibióticos como por ejemplo prebióticos, probióticos y aceites esenciales de plantas curativas, entre otros (Sosa *et al.*, 2013).

3.3 Aceite esencial:

Desde tiempos remotos se vienen usando a las plantas por sus propiedades antimicrobianas, la Organización Mundial de la Salud considera que el 80% de la población mundial emplea extractos de plantas o sus componentes activos como medicina popular (WHO, 1993 mencionado en ADIGÜZEL *et al.*, 2005).

Los aceites esenciales están compuestos por sustancias aromáticas complejas que muestran elevada volatilidad y al contacto con el aire se evaporan. Se obtienen de diferentes partes de la planta siendo así hojas, tallo, flor, raíces, semillas, corteza y frutos (Burt, 2007). Diferentes autores reportaron acción antimicrobiana, antifúngica y antioxidante de varios aceites esenciales, verbigracia, aceite esencial de hierbaluisa (*Aloysia triphilla*), orégano (*Origanum vulgare*) (Sorroza *et al.*, 2017) y orégano mexicano (*Lippia verlandieri*) frente a *Vibrio* sp. (Gracia *et al.*, 2012).

Actualmente, la camaronicultura se está beneficiando del uso de la medicina herbácea como *Callophyllum inphyllum* “palo María”, *Clinacanthus nutans* y *Tinospora cripta* que mostraron actividad contra el virus de la cabeza amarilla que afecta a *Penaeus monodon* “Langostino tigre” (Direksaburakom *et al.*, 1996 mencionado en Prieto *et al.* 2003).

3.3.1 *Ocimum basilicum* L. “Albahaca”

Antiguamente y hasta hoy, las especies de la familia *Lamiaceae* como albahaca, menta, orégano, romero, yerba buena, se utilizan en la actividad culinaria como en la medicina popular (Bozin *et al.*, 2006; Zheljazkov *et al.*, 2001; UNNE, 2010).

Según la tradición, la albahaca es empleada como planta medicinal contra dolores de cabeza, así como también, tos, diarrea, estreñimiento, verrugas, parásitos como gusanos y mal funcionamiento de los riñones. Muchos autores señalan sus propiedades medicinales como nematocida, antimutagénico, antibacteriano, antiviral, antifúngico, antioxidante, antiespasmódico, estomacal, anticonvulsivo e hipotónico y hasta de repelente de insectos (Simon *et al.*, 1999, Duke y Ayensu, 1985 mencionado en ADIGÜZEL *et al.*, 2005; Nadkarni 1976 mencionado en Prabuseenivasan *et al.*, 2006; Khare, 2007; Saggiorato *et al.*, 2009 mencionado en Snoussi *et al.*, 2016A).

El género *Ocimum*, presenta unas 150 especies (variación en las características morfológicas, hábito de crecimiento, color, tamaño y forma de hojas y flores, y composición aromática) que se cultivan en diferentes regiones como Asia, África América central y América del sur. Es una hierba, alcanza unos 90 cm de altura, con hojas lanceoladas, brillantes y fragantes. Actualmente se cultiva en todo el mundo. (Makri y Kintzios, 2008).

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es muy rica en aceites esenciales (0,2 – 1 %), sus componentes principales son monoterpenos (linalol, eugenol, geraniol, alfa terpinemo, ocinemo, alfa pineno, 1,8 cineol, metileugenol, chavicol, estragol, metilcinamato, borneol, ocinemo, alcanfor), sesquiterpenos (beta cariofileno) y fenilpropanoides (Labra *et al.*, 2004; Beltrán *et al.*, 2010; Hanif *et al.*, 2011). Varios autores concuerdan que el principal constituyente del aceite esencial es linalol de 56 – 60% (Hussain *et al.*, 2008), 42.1% (Snoussi *et al.*, 2016 A), 55% (Khare, 2007) y 69.9 % (Hanif *et al.*, 2011). El principal grupo activo, son los monoterpenos oxigenados con un 54.9% del total del aceite (Snoussi *et al.*, 2016A). Su actividad antimicrobiana se puede deber a la combinación de todos sus componentes activos. (Sánchez *et al.*, 2000; Chirinos *et al.*, 2009).

Este aceite muestra actividad antibacteriana *in vitro* contra *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (Rivas *et al.*, 2015) y *Staphylococcus aureus* (Olivares, 2018; Rivas *et al.*, 2015). Otros autores señalan que los terpenoides del aceite esencial son el grupo químico que le confiere el efecto inhibitorio *in vitro* contra *Salmonella* (Ver anexo C) (Domingo y López, 2003) y *S. aureus* ($p \leq 0,05$), a una concentración del 10 % en ensayo *in vitro*. (Colivet *et al.*, 2011).

Snoussi *et al.*, 2016A, demostró que el aceite esencial de albahaca exhibe actividad antimicrobiana contra a diferentes cepas de *Vibrio* spp., mostrando halos de inhibición de 8.67 – 23.33 mm. de diámetro a una dosis

de 10 mg/ml. del aceite. Además de encontrar valores muy bajos (0.019-0.039 mg/ml de aceite) para la CMI.

3.3.2 *Zingiber officinale* Roscoe “Jengibre”

El jengibre pertenece a la familia *Zingiberaceae*, una especie nativa de Asia tropical y generalmente se cultiva en el continente americano. Los rizomas de esta especie son muy conocidos desde la antigüedad por los beneficios en la salud por ejemplo en el tratamiento de infecciones gastrointestinales, como analgésico, náuseas, vómitos, mareos y enfermedades reumáticas. Presenta propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antiplaquetarias e hipoglucemiantes (Curiel *et al.*, 2017).

El aceite esencial de jengibre presente propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes, y se caracteriza por tener altos porcentajes de hidrocarburos sesquiterpénicos como zingibereno, α -curcumene (principales constituyentes) β -bisabolene, β -sesquiphellandrene, δ -cadineno y β -eudesmol. Además, monoterpenos como canfeno, geranial, acetato de geranilo, linalol, 1,8-cineol y neral. (Curiel *et al.*, 2017, Mesomo *et al.*, 2013, Bellik, 2014, Hossain *et al.*, 2018).

El aceite esencial de Jengibre tiene actividad antimicrobiana *in vitro* contra cepas de *Streptococcus iniae*, *S. parauberis* y *Photobacterium damsela* aisladas de *Paralichthys olivaceus*, con valor de MIC de 0.125%, 4% y 4% (V/V), respectivamente. Este mismo autor también señala que, respecto a los valores de MIB/MIC, el aceite esencial de jengibre presentó

efecto bactericida con valores $\geq 4\%$, y efectos bacteriostáticos $< 4\%$ (Hossain *et al.*, 2018)

Otro autor indicó que el aceite esencial de jengibre demostró actividad inhibitoria contra *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. entérica*, *S. typhi*, siendo la CMI de 1 mg/1 mL (Curiel *et al.*, 2017).

Debbarma *et al.*, 2012, también mencionan el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de jengibre contra *Yersinia enterocolitica*, (14.66 ± 0.33 a 23.33 ± 0.88 mm diámetro de la zona de inhibición con un volumen de 20 a 100 uL.) Además de presentar una moderada actividad inhibitoria contra *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella typhimurium* y *Vibrio vulnificus*. Indica también que los valores de MIC del aceite esencial contra esas bacterias fueron de 31.25–62.5 uL/mL.

Snoussi *et al.*, 2016 B, encontró que el aceite esencial de jengibre tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente *Aeromonas hydrophila*, *V. parahaemolyticus* y *Klebsiella oxitoca* a concentraciones de 0.05 mg/mL.

Tras una prueba piloto de ambos aceites (albahaca y jengibre) a concentraciones de 10, 20 y 40 %, se encontró un efecto antibacteriano a una concentración de 10% presentando halos de inhibición frente a cepas patógenas del género *Vibrio* Formulando así las concentraciones de los aceites esenciales del presente estudio.

3.3.3 Extracción de aceites esenciales

La obtención de los aceites esenciales se puede realizar por varios métodos como extracción a través de solventes volátiles, fluidos supercríticos, mediante prensado, enflorado, maceración, hidrofusión y la más usada por destilación por arrastre de vapor usando un equipo Clevenger (Peredo *et al.*, 2009). Para este tipo de extracción se aplica vapor de agua en forma directa sobre hojas de albahaca o rizoma de jengibre, obteniéndose una mezcla vapor – aceite. Esta mezcla es llevada a un punto de condensación. Luego el condensado se lleva a decantar y secar, que es la separación del agua y del aceite por diferencia de densidades, y por último el envasado del aceite en viales de vidrios de color ámbar y almacenado a 4°C hasta su respectivo análisis. (Araujo, 2018).

IV. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La producción de langostinos es la que presenta mayores exportaciones (70.4%) en comparación con las otras especies acuícolas también importantes como concha de abanico y trucha, generando mayores divisas para el Perú. Estas producciones se ven afectadas por la aparición de enfermedades bacterianas, como la Vibriosis, la cual ha provocado grandes pérdidas económicas a nivel mundial, siendo la especie de cultivo de langostinos la más susceptible.

Además, como medidas profilácticas y tratamientos a la vibriosis se usan antibióticos, los que con el uso continuo y discriminado han favorecido a la presencia de la resistencia antimicrobiana, la polución acuática del cultivo con presencia de microorganismos resistentes a varios fármacos, además de quedar residuos de fármacos en los tejidos comestibles del langostino alterando la microbiota intestinal del consumidor.

Hoy en día, la búsqueda de bioactivos contra enfermedades bacterianas es un tema muy investigado. Por esto, existe la necesidad de realizar estudios sobre el empleo de algunos compuestos químicos de origen vegetal, como los aceites esenciales ya que es sabido que presentan propiedades antimicrobianas.

Los aceites de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” y *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” presentan un historial medicinal desde tiempos remotos en beneficio de la salud humana. Son muy conocidas por sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antibacterianas, debido a sus componentes activos. Además de sus usos en la gastronomía, debido a excelente aroma y sabor. Aunque los aceites esenciales presentan un gran potencial en la actividad

antimicrobiana, presentan algunas limitaciones como la alta volatilidad. Al manipular los aceites esenciales, estos se volatilizan o se evaporan al contacto con el aire, disminuyendo así la efectividad antibacteriana.

En este contexto, esta investigación buscó evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de Albahaca (AEA), y aceite esencial de jengibre (AEJ) sobre cepas patógenas del género *Vibrio* aisladas de langostinos cultivados de la región Tumbes, con el fin de encontrar un aceite potencialmente activo contra la Vibriosis. Así como también se determinó los componentes químicos de los aceites esenciales, debido a, las diferentes variaciones climáticas, geográficas, ambientales, genéticas de la planta, etapa de madurez, metabolismo de la planta, provocan variaciones en su composición (Debbarna *et al.*, 2012). Con estos resultados del estudio, se inició el primer paso de investigación hacia el uso de un aceite esencial altamente activo como un medicamento ecoamigable frente a enfermedades en langostinos.

V. OBJETIVOS.

5.1 Objetivo general

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de albahaca y jengibre frente a cepas patógenas del género *Vibrio* aisladas de langostinos enfermos de centros acuícolas de la región Tumbes.

5.2 Objetivo específico

- Determinar los componentes químicos de los aceites empleados en el estudio, mediante un análisis de Gas Cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG - MS)
- Determinar la susceptibilidad *in vitro* de los aceites esenciales (albahaca y jengibre) a 3 concentraciones (5, 10 y 20%) frente a las cepas patógenas del género *Vibrio* aisladas de langostinos cultivados en centros acuícolas de la región Tumbes, usando la técnica de difusión en pozos de agar.
- Determinar usando el método de microdilución en caldo, la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima Bactericida (CMIB) del aceite que presenta mejor susceptibilidad frente a las cepas patógenas del género *Vibrio* aisladas de langostinos cultivados en centros acuícolas de la región Tumbes.

VI. METODOLOGÍA

El presente estudio fue un estudio experimental, que buscó evaluar la actividad antimicrobiana de dos aceites (albahaca y jengibre) frente a cepas patógenas del género *Vibrio* aisladas de langostinos cultivados en centros acuícolas de Tumbes.

Se comenzó identificando molecularmente las cepas del género *Vibrio* mediante PCR, también se determinó la composición química y pureza de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases. Luego, mediante la técnica de difusión en agar, se seleccionó cualitativamente el aceite con mayor potencial antimicrobiano, comparando los diámetros de los halos de inhibición de cada aceite frente a las diferentes cepas del género *Vibrio*.

Después, se procedió a determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del aceite esencial que presentó mayores halos de inhibición frente a las diferentes cepas patógenas, mediante la prueba de microdilución en caldo, teniendo en cuenta controles positivo, negativos y control de calidad.

6.1 Lugar de Estudio

El trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Parasitología Animal de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (FAVEZ-UPCH).

6.2 Tipo de Estudio

Esta investigación fue de tipo experimental, *in vitro*.

6.3 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión: Solo se tomó cepas de género *Vibrio* identificadas bioquímica y molecularmente mediante PCR; y provenientes de langostinos enfermos cultivados en Tumbes.

Criterios de exclusión: Se excluyeron cepas del género *Vibrio* si:

- Proviene de langostinos de ambientes naturales (no productivas).
- No coinciden con la bioquímica para el género *Vibrio*.
- No coinciden con una cepa patogénica.
- Se encuentran contaminadas.

6.4 Tamaño de muestra

Esta investigación trabajó con 28 cepas del género *Vibrio* aisladas de langostinos enfermos procedentes de centros acuícolas de la región Tumbes. Estas cepas del género *Vibrio* son parte del cepario del Laboratorio de Parasitología Animal – UPCH, fueron recolectadas y procesadas durante la investigación de la tesis de “Detección de especies patogénicas del género *Vibrio* en langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) de centros de crianza de la región Tumbes, mediante la aplicación de un protocolo de pcr múltiple-2019, con código de SIDISI 102158. El muestreo se llevó a cabo junto con la toma de muestra mensual llevada a cabo por SANIPES, referente al Plan Nacional de Vigilancia Sanitaria de Recursos Hidrobiológicos – Componente Crustáceos (Rosado, 2019).

Estas cepas se caracterizaron bioquímica y molecularmente por reacción en cadena de polimerasa (PCR), en el Laboratorio de Microbiología,

y Biología Molecular (FAVEZ-UPCH), respectivamente, para confirmar la identificación de la cepa y no estén contaminadas. Además, se incluyó 3 cepas ATCC, indispensables para el control de calidad del estudio.

6.5 Recolección y procesamiento de muestras o datos

6.5.1 Aceites esenciales

Se emplearon aceites comerciales de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” y *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” fabricados y envasados por Laboratorios Betogal E.I.R.L. con RUC N° 20462522178 que garantiza 100% de pureza. Los aceites esenciales estuvieron envasados en un frasco de color ámbar (oscuro) que los protege de los efectos del medio ambiente, además sobre el frasco, presenta una etiqueta de color negro para una protección adicional sobre los rayos ultravioleta. Fueron almacenados en un lugar fresco y seco, protegidos de la luz, humedad y el calor. Estos aceites fueron extraídos utilizando el método de arrastre de vapor de flores y hojas (albahaca), y rizomas (jengibre). Las características organolépticas del aceite esencial de albahaca que se apreciaron fue color amarillo suave, olor herbal, aspecto líquido, mientras que la del aceite esencial de jengibre fue color amarillo-naranja, olor terroso-picante intenso, aspecto líquido. En esta investigación, los aceites se evaluaron a tres dosis, 5, 10 y 20 % (v/v) diluido en etanol al 96 %.

Por otra parte, se realizó la técnica de Cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG - MS) a los aceites esenciales para la identificación y cuantificación de componentes químicos. Estos análisis

se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de la Unidad de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Ciencias y Filosofía “Alberto Cazorla Talleri” de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

La técnica CG-MS permite separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas. Esta técnica combina la capacidad de separación que presenta la cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masa. Se inyecta una pequeña cantidad de muestra a una corriente de gas inerte, esta atraviesa una columna cromatográfica que separa los componentes de la mezcla. Una vez separadas, son fragmentadas y analizadas en función de su patrón de fragmentación en un detector de masas. La identificación y cuantificación de cada componente se hace mediante el uso de componentes de referencia (Gutiérrez M, 2002)

6.5.2 Material Biológico)

6.5.2.1 Reactivación de cepas *Vibrio*

Se reactivó 28 cepas crioconservadas a temperatura -80° . Para esto se usó tubos de ensayo conteniendo 10 mL de agua peptonada alcalina esterilizada (pH de 8.6) al 2% NaCl, se agregó 200 μ L de la cepa crioconservada e incubó a 37°C por 24 horas.

Seguido, las colonias crecidas en el agua peptonada alcalina se sembraron en agar TCBS (tiosulfato citrato bilis sacarosa) al 2% NaCl, pH $8,6 \pm 0,2$, e incubó a 37°C por 24 horas. Se usó agar TCBS

porque es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de *Vibrio*.

Transcurrido el tiempo, se empleó agar TSA (agar tripticasa de soya) al 2% NaCl como medio para verificar la pureza de las colonias crecidas en el medio TCBS e incubó a 37° C por 24 horas. Luego, a las colonias puras se les realizó las pruebas primarias de identificación como Tinción Gram (bacilos Gram -), oxidasa y catalasa (positivo a ambas) (Rosado, 2018).

6.5.2.2 Extracción de DNA

Las cepas de *Vibrio* ya identificadas bioquímicamente, se sembraron en tubos de ensayo con 3 mL de BHI (infusión cerebro corazón), luego se incubaron a 35° C por 18 horas. Posteriormente, al observar turbidez en los tubos de ensayo indicando crecimiento bacteriano, se comenzó a centrifugar para conseguir pellets de cada cepa, después se conservó en congelamiento para su extracción de DNA.

Para la extracción de DNA se usó el kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, USA), teniendo en cuenta las indicaciones del fabricante. Para la cuantificación y pureza del DNA de las cepas se usó un equipo Nanodrop (Thermo Scientific, USA).

6.5.2.3 Identificación molecular de las cepas mediante PCR

Para la identificación molecular se siguió el protocolo de Kim *et al.*, 2015, usando los cebadores **VP 1155272 F** (5'-AGCTT ATTGG CGGTT TCTGT CGG'-3) y **VP 1155272 R** (5'-CKCAA GACCA AGAAA AGCCG TC'-3) con una amplificación de 297 pb para *V. parahaemolyticus*. **VV 2055918 F** (5'-CAGCC GGACG TCGTC CATTT TG'-3) y **VV 2055918 R** (5'-ATGAG TAAGC GTCCG ACGCG T'-3) con una amplificación de 484 pb para *V. vulnificus*. **VA 1198230 F** (5'-ACGGC ATTGG AAATT GCGAC TG'-3) y **VA 1198230R** (5'-TACCC GTCTC ACGAG CCCAA G'-3) con una amplificación de 199 pb para *V. alginolyticus*.

Los reactivos para la amplificación fueron: 12.5 µL de GoTaq® G2 Green Máster Mix, 1 µL de cada cebador (10 mM), 3.5 µL de agua libre de nucleasa y 1 µL de DNA (10 ng/µL), el volumen final fue de 25 µL. Las condiciones para el termociclador se programaron así: 1 ciclo de 95°C (2 min); seguido de 30 ciclos de 95 °C (1 min), 58 °C (30 seg) y 72 °C (1 min), finalizando con 1 ciclo de 72 °C (5 min), terminada la amplificación de los productos, estos fueron conservados a 4°C. Posteriormente se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 0.8%, usando como buffer TAE 1X, con un campo eléctrico de 80 V/cm durante 90 minutos. Finalmente, se tiñeron con bromuro de etidio (0,5 mg/mL), durante 20 minutos y fotografiaron en transiluminador de UV DNR Bio-Imaging Systems (USA). Como

controles positivos se usó ATCC® 17749™ de *V. alginolyticus*, ATCC® 17802™ de *V. parahaemolyticus*, ATCC® 33653™ de *V. mimicus* y como control negativo agua libre de nucleasa.

6.5.3 Determinación de actividad inhibitoria *IN VITRO* en placa mediante difusión en pozos de agar

Se siguió el método de difusión en pozos en agar, según Córdova *et al.*, 2016. Con este método se seleccionó al aceite que presentó mayor potencial antimicrobiano, observándose mayores diámetros de halos de inhibición en las mismas dosis aplicadas.

- **Estandarización del inóculo**

Antes de la inoculación de cada cepa en placas, se estandarizó la turbidez de cada cepa a 0.5 de Mc Farland equivalente a 1×10^8 UFC/mL. Con un asa se trasladan 5 colonias del TSA a un tubo con 3 mL de suero fisiológico estéril al 0.85%, después se lleva el tubo de ensayo a un espectrofotómetro con una absorbancia de 622 nm, se alcanzó la densidad óptica del inóculo entre 0.8 – 0.12 equivalente a 0.5 McFarland. (Perilla *et al.*, 2003). El uso de suero fisiológico al 0.85% permitió el crecimiento de las cepas de *Vibrio* en el agar de Mueller Hinton sin la adición de NaCl en este medio. (Malbrán, 2010)

- **Método de Difusión en pozos en agar**

Se agregó entre 20-25 mL de agar Mueller Hinton en placas Petri, lo que equivale aproximadamente unos 4 mm de altura el llenado del medio de cultivo para placas Petri de 10 cm de diámetro, luego se dejó solidificar y secar (CLSI, 2006). Con un hisopo estéril embebido en la solución bacteriana estandarizada se procedió a realizar el sembrado frotando en zigzag en tres direcciones para asegurar la distribución homogénea del inóculo (Cavalieri, 2005) de los *vibrios* sobre toda la placa. Se dejó secar con la tapa cerrada por 5 minutos antes de hacer los pozos.

Con un perforador estéril de 6 mm de diámetro se realizaron 5 pozos. La distancia entre pozos y borde de la placa fue de 20 mm. En cada pozo se agregó 50 μ L de cada concentración de aceite 5%, 10%, 20 % (v/v). Luego se incubó a 37 °C por 24 horas. Terminada la incubación de 24 horas, se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición que rodearon al pozo con una regla calibrada en milímetros (Vernier) (Roque *et al.*, 2001). La medición de los halos se hizo en 4 direcciones y se obtuvo un promedio. Véase Figura 1.

Los vibrios halófilos crecen bien en medio de Mueller-Hinton (7.3 ± 0.1) sin adición de NaCl. El exceso de sal puede alterar la actividad de ciertos antibióticos (Janda *et al.*, 1988)

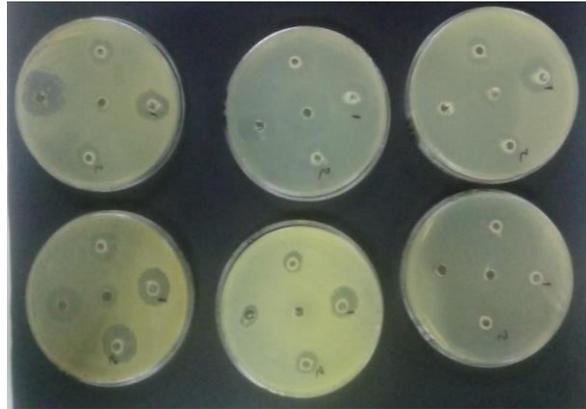


Figura 1. Antibiograma de cepas patógenas del género *Vibrio* realizados en este estudio

Este experimento se hizo por triplicado, usándose como control positivo ampicilina 10 ug (50 uL), control negativo etanol al 96 % (Bansemir *et al.*, 2006). Para el control de calidad del experimento se usaron cepas tipo ATCC® 17749™ de *V. alginolyticus*, ATCC® 17802™ de *V. parahaemolyticus*, ATCC® 33653™ de *V. mimicus*

Según la clasificación de zonas de inhibición, Bansemir *et al.*, 2006 señala que existe una actividad fuerte, intermedia y débil cuando los halos de inhibición presentan diámetros mayores a 15 mm, entre 15 y 8 mm, y menores a 8 mm respectivamente.

6.5.4 Determinación Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se define CMI como la concentración más baja del antibiótico que inhibe el crecimiento visible de la bacteria después de su incubación (Andrews, 2001). La CMI se realizó al aceite que presentó una mejor actividad antimicrobiana en el ensayo de difusión en pozos de agar. La CMI se determinó mediante el método de Microdilución en caldo usando una placa de cultivo de 96 pocillos, según el método de Eloff *et al.*, 1998.

Se prepararon inóculos bacterianos, a partir de solución salina estéril (0.85%) con 5 colonias de TSA, con una concentración de 1×10^8 UFC/mL (0.5 McFarland), luego se diluyó hasta llegar a una concentración de 5×10^5 UFC/mL.

Tras la prueba piloto se estableció las concentraciones para la CMI, por lo cual se optó por evaluar una concentración menor a la establecida en difusión en pozos en agar (5, 10, 20%), para mejorar su empleo. Para ello se diluyó el aceite esencial con etanol 96% a una concentración de 5 % (v/v) (solución madre), y mediante diluciones dobles seriadas se llevó a concentraciones de 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02 %. En una microplaca de 96 pocillos de fondo redondo, se dispensó al primer pozo 100 uL de la solución madre y 95 uL de caldo Mueller-Hinton, posteriormente se tomó 100 uL del primer pozo y se transfirió al siguiente pozo que contenía 95 mL de caldo Mueller Hinton, hasta el pozo n° 9.

Finalmente se agregó 5 ul de inóculo a los pocillos. Los pozos número 10, 11 y 12 fueron para el control positivo (caldo Mueller Hinton más inóculo), negativo (caldo Mueller Hinton) y como control de calidad el tratamiento estándar de *Vibrio* (ampicilina). El volumen final de cada pozo fue de 100 uL, se selló la placa con una película plástica autoadhesiva para evitar la evaporación del aceite e incubó por 24 horas a 37 °C.

Pasado el tiempo, se observó turbidez, y se agregó 40 uL de solución de sales de violeta de p-iodonitrotetrazolio (Sigma®) en cada pocillo y se incubó a 37°C por 30 minutos. Este reactivo indica si hubo crecimiento bacteriano, al actuar como un aceptor de electrones y es reducido por organismos biológicamente activos, tornándose a un color rojo. El pocillo con la menor concentración del aceite que no presentó cambio de color fue tomado como la CMI, lo cual indicó que no hay crecimiento visible de la cepa. El control de calidad de esta prueba incluyó las cepas tipo ATCC® 17749™ de *V. alginolyticus*, ATCC® 17802™ de *V. parahaemolyticus*, ATCC® 33653™ de *V. mimicus*. Este método se hizo por triplicado. Véase figura 2

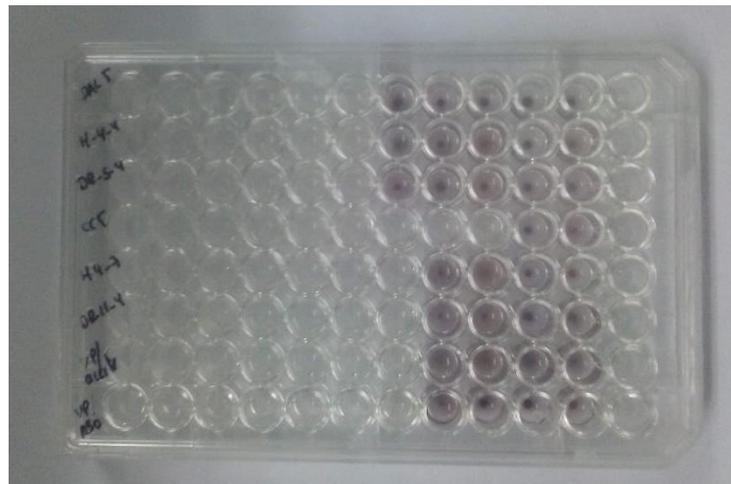


Figura 2. CMI de cepas patógenas del género *Vibrio* realizados en este estudio

6.5.5 Determinación de Concentración Mínima Bactericida

Se define Concentración Mínima Bactericida, como la menor concentración del antibiótico capaz de matar en un 99.9 % de bacterias después de una incubación de 18-24 horas (Cantón *et al.*, 2000).

Tomando en cuenta los lineamientos del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2014), se tomó una alícuota de 100 μ L de los pocillos que no presentaron cambio de color y se sembraron en Medio Mueller Hinton e incubaron a 37°C por 24 horas para observar si crecían. Este ensayo se hizo por triplicado.

6.6 Plan de análisis de datos

Los datos fueron recopilados en el programa Excel y luego se procesó en el paquete estadístico SPSS V25. Mediante la prueba estadística ANOVA (análisis de varianza) se determinó la existencia de diferencia significativa entre las medias de las diferentes concentraciones (5, 10 y 20%) de ambos aceites. Para establecer qué estadísticos utilizar para realizar el análisis de varianza de 1 factor, es necesario determinar primero si existe o no homogeneidad de varianzas de los halos de inhibición en mm entre las concentraciones (5% vs 10% vs 20%) de ambos aceites esenciales. Esto se realizó con la Prueba de Levene para determinar la homogeneidad de las varianzas, si es que son homogéneas se pueden utilizar los estadísticos de comparaciones múltiples y de rangos de Tukey. Una vez determinada la existencia de diferencia significativa entre las medias (halos de inhibición en mm.) de las concentraciones de ambos aceites, se procedió a determinar que medias difieren entre sí de ambos aceites. Se determinó con la prueba estadística de comparaciones múltiples y de rangos de Tukey.

También, mediante la prueba estadística ANOVA se comparó la concentración mínima inhibitoria y bactericida del aceite esencial, de la ampicilina y grupo control con etanol al 96%.

Se tuvo en cuenta la siguiente base de interpretación del valor de p:

Si $p > 0,01$; la diferencia no fue significativa, IC = 99%.

Si $p \leq 0,01$; la diferencia fue significativa, IC = 99%.

6.7 Consideraciones éticas

Se tuvo presente las normas de bioseguridad según la OMS para trabajos en laboratorios y la adecuada protección personal (OMS, 2005), dentro y fuera del laboratorio, así como las buenas prácticas de laboratorio, así como también se tuvo en cuenta las normas de desecho de material biológico según laboratorio de Microbiología –Parasitología de FAVEZ-UPCH. El presente trabajo fue sometido por la comisión de ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con código de registro 208862.

VII. RESULTADOS

7.1 IDENTIFICACIÓN DE LAS CEPAS PATÓGENAS

Terminada la reactivación y el crecimiento bacteriano en los diferentes medios (TCBS, TSA) de las 28 cepas patógenos del género *Vibrio*, se procedió a su identificación bioquímica observándose bacilos Gram negativos, oxidasa y catalasa positivos. Véase Figura 3, 4 y 5.

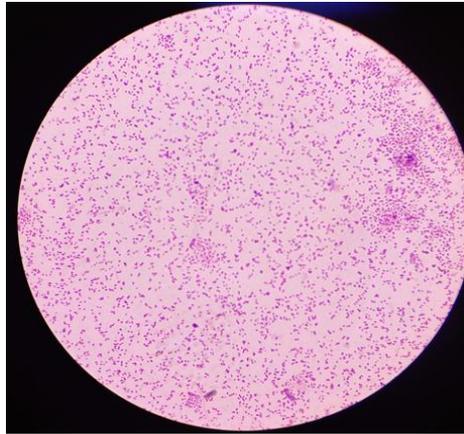


Figura 3. Identificación bioquímica presuntiva de cepas patógenas de género *Vibrio* mediante tinción Gram.



Figura 4. Identificación bioquímica presuntiva de cepas patógenas de género *Vibrio* mediante prueba de catalasa.



Figura 5. Identificación bioquímica presuntiva de cepas patógenas de género *Vibrio* mediante prueba de oxidasa

Una vez identificados por bioquímica presuntiva las cepas patógenas se procedieron a la confirmación molecular de las cepas patógenas del género *Vibrio*, mediante PCR, observándose bandas con una amplificación de 297 pb para *Vibrio parahaemolyticus*, 199 pb para *Vibrio alginolyticus* y 249 pb para *Vibrio mimicus*. Se encontró 16 cepas patógenas de la especie *Vibrio parahaemolyticus*, 8 cepas patógenas de la especie *Vibrio mimicus* y 4 cepas patógenas de la especie *Vibrio alginolyticus*. Véase figura 6, tabla 1.

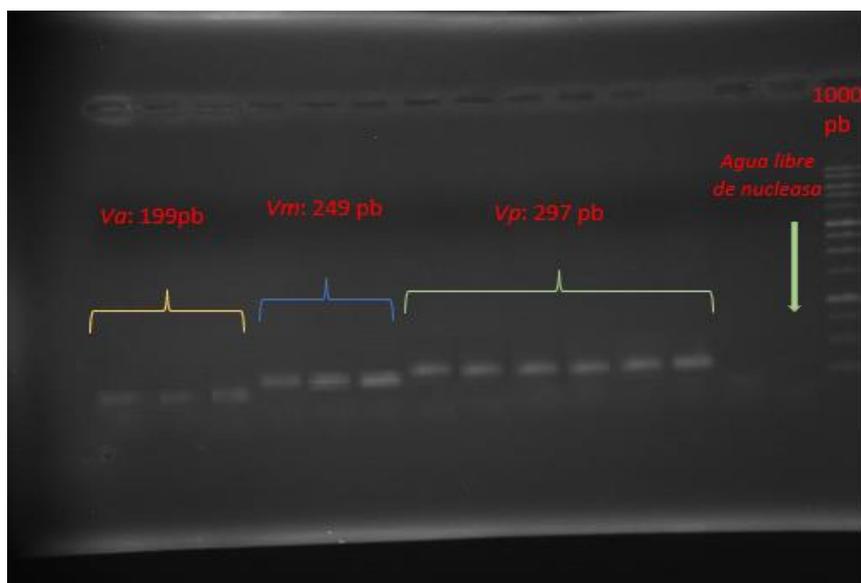


Figura 6. Identificación molecular mediante PCR para las diferentes cepas patógenas de *Vibrio*. V.a: *Vibrio alginolyticus*, V.m: *V. mimicus*, V.p: *V. parahaemolyticus*. 1000 pb: Marcador de peso molecular.

Tabla 1. Identificación de cepas patógenas mediante PCR

ESPECIE IDENTIFICADA POR PCR	N° CEPAS	PORCENTAJE
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	16	57.1
<i>Vibrio mimicus</i>	8	28.6
<i>Vibrio alginolyticus</i>	4	14.3
TOTAL	28	100

7.2 IDENTIFICACIÓN, CUANTIFICACIÓN DE COMPONENTES QUÍMICOS Y PUREZA DE ACEITES ESENCIALES

En el aceite de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” se identificaron 13 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial, siendo el estragol el compuesto con mayor porcentaje (77.75 %) seguido por el β -linalool con 16.71 % total de la muestra. Los componentes que predominaron fueron los fenilpropano (77.75%), monoterpenos (18.32%) y sesquiterpenos (1.86%). Véase tabla 2.

Por otro lado, en el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” se identificaron 34 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial, siendo α -Zingibereno, el compuesto con mayor porcentaje (34.60 %) seguido por β -Sesquifelandreno con 12.75% del total de la muestra. Los componentes químicos que predominaron fueron los sesquiterpenos (78.31%) y monoterpenos (18.33%). Véase tabla 3.

Tabla 2. Composición química del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L.

“Albahaca”

Número	Nombre del compuesto	Tiempo de retención (tR) en minutos	% en la muestra (áreas relativas)
1	Eucaliptol	16.48	0.12
2	β -Ocimeno	16.72	0.13
3	β -Linalool	18.48	16.71
4	Mentona	20.39	0.15
5	Mentol	21.02	0.28
6	Estragol	21.72	77.75
7	β -Citral	22.69	0.38
8	α -Citral	23.52	0.55
9	β -Cariofileno	28.65	0.45
10	α -Bergamoteno	28.81	0.64
11	β -Fameseno	29.22	0.22
12	α -Cariofileno	29.86	0.22
13	β -Cubebeno	30.75	0.33
14	Desconocido (C₁₅H₂₄)	45.72	2.07

Tabla 3. Composición química del aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre”

Número	Nombre del compuesto	Tiempo de retención (tR) en minutos	% en la muestra (áreas relativas)
1	Hexanal	9.09	0.33
2	α -Pinoeno	13.26	1.89
3	Camfeno	13.86	5.89
4	6-Metil-5-hepten-2-ona	14.72	0.68
5	β -Mirceno	14.89	0.61
6	α -Felandreno	15.59	0.24
7	D-Limoneno	16.34	1.12
8	β -Felandreno	16.44	4.14
9	Eucaliptol	16.49	2.54
10	Terpinoleno	18.12	0.08
11	β -Linalool	18.43	0.20
12	Desconocido (C ₁₀ H ₁₄ O ₂)	20.60	0.17
13	trans-Borneol	20.96	0.85
14	α -Terpineol	21.55	0.47
15	Decanal	21.68	0.24
16	2-Undecanona	24.18	0.30
17	α -Copaeno	27.11	0.59
18	Acetato de 3,7-dimetil-	26.71	0.31

	2,6-Octadien-1-ol		
19	Ciclosativeno	27.01	0.33
20	β -Elemeno	27.45	1.05
21	7-epi-Sesquituyeno	27.70	0.30
22	γ -Elemeno	28.73	0.43
23	β -Farneseno	29.22	0.37
24	β -Funebreno	29.43	0.42
25	Alloaromadendreno	30.03	0.31
26	Curcumeno	30.46	9.29
27	Germacreno D	30.75	1.54
28	α -Zingibereno	31.02	34.60
29	α -Farneseno	31.13	4.74
30	β -Bisaboleno	31.48	11.12
31	epi- Biciclosesquifelandreno	31.94	0.40
32	δ -Cadineno	32.01	0.28
33	β -Sesquifelandreno	32.19	12.75
34	Desconocido (C ₁₅ H ₂₄)	32.27	0.23
35	Elemol	33.30	0.42
36	Desconocido (C ₁₅ H ₂₆ O)	33.53	0.38
37	Desconocido (C ₁₅ H ₂₆ O)	36.47	0.39

7.3 EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO (MÉTODO DE DIFUSIÓN EN POZOS DE AGAR)

Mediante la prueba de normalidad Shapiro Wilk, se planteó la hipótesis nula que, los grupos de tratamiento 5, 10 y 20% muestran una distribución normal, con un valor de probabilidad menor a 0.01 (confiabilidad al 99%), se determinándose que los grupos de concentración de 5 y 10 % (v/v) siguen una distribución normal en ambos aceites esenciales, y a concentración de 20% no siguen una distribución normal en ambos aceites. Véase tabla 4.

Tabla 4. Análisis de normalidad de los halos de inhibición según grupo de concentración 5, 10 y 20% de los aceites esenciales frente a las cepas de *Vibrio*

GRUPO	AE DE ALBAHACA	AE DE JENGIBRE
5%	0.02874	0.06051
10%	0.03097	0.2945
20%	0.003252	0.002169

AE: Aceite Esencial. Desv. Est: Desviación estándar. 99 % (0.01) de confiabilidad

El aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” mostró halos de inhibición (20.85 mm) mayores que el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” (16.930 mm). En el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L, la concentración que presentó mayores halos (21.94 mm) de inhibición fue de 20 %, mientras que para el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” fue la concentración de 10% (17.516 mm). De acuerdo con la clasificación de Bansemir *et al.*, 2006, ambos aceites esenciales en sus tres dosis se clasifican con actividad

fuerte porque se encontraron halos mayores a 15 mm. Se observó que el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” tuvo mayor actividad antibacteriana que el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” dado que, $t = -4,072$, y $p\text{-valor} = 0,000139 < 0,01$, concluyendo que los halos de ambos aceites fueron estadísticamente diferentes. Véase tabla 5.

Con la aprueba de ANOVA se determinó que, los grupos de las concentraciones al 5%, 10% y 20% del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” presentan diferencias significativas dado que el p-valor (Sig.) $= 0,018 < 0,05$ al 95 % de confiabilidad, mientras que para el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” no presentan diferencias significativas dado que dado que el p-valor (Sig.) $= 0,445 > 0,05$ al 95 % de confiabilidad. Véase tabla 6.

Se realizó la prueba de Tukey solo para el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca”, y se observó que, el promedio de halos de inhibición en mm de la concentración de 5% de aceite esencial es significativamente diferente al promedio correspondiente a una concentración del 20%. Véase tabla 7.

Tabla 5. Actividad antibacteriana (halos de inhibición) de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Zingiber officinale* Roscoe a concentraciones de 5, 10 y 20 % frente a las cepas patógenas de *Vibrio*

AE	5%		10%		20%	
	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
Albahaca	19,13	3,566	21,48	3,365	21,94	5,151
Jengibre	16,806	2,6510	17,516	3,1609	16,468	3,9432

AE: Aceite Esencial. Desv. Est: Desviación estándar.

Tabla 6. Análisis de las diferencias significativas entre los grupos de las concentraciones 5%, 10% y 20% de cada aceite esencial

ACEITE	ALBAHACA	JENGIBRE
Sig (p-valor)	0.018	0.445

Sig: valor de probabilidad < 0.05

Tabla 7. Análisis entre los grupos de las concentraciones 5%, 10% y 20% del aceite esencial de Albahaca

GRUPOS	5%		10%		20%	
	10%	20%	5%	20%	5%	10%
Sig.	0.067	0.023	0.067	0.902	0.023	0.902

Sig: valor de probabilidad < 0.05

7.4 DETERMINACION LA DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA

INHIBITORIA (CMI)

Las 28 cepas patógenas mostraron diferentes CMI frente al aceite esencial según el método de microdilución en caldo, encontrándose CMI de 0.08 y 0.16 (v/v), siendo la concentración de 0.08 (v/v) la CMI del 75 % de cepas patógenas. Véase tabla 8

Tabla 8. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” (AEA) frente a cepas patógenas del género *Vibrio*

ESPECIE	CMI DE AEA	
	0.16%v/v	0.08%v/v
<i>V. parahaemolyticus</i>	4	12
<i>V. alginolyticus</i>	2	2
<i>V. mimicus</i>	1	7
TOTAL	7	21
PORCENTAJE	25%	75%

7.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA

BACTERICIDA

Las 28 cepas demostraron diferentes CMB frente al aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca”, encontrándose así concentraciones que van desde 0.31 a 0.08 (v/v), siendo la CMI de 0.08 (v/v) la concentración del 50% de cepas patógenas. Véase tabla 9.

Tabla 9. Concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” (AEA) frente a cepas patógenas del género *Vibrio*

ESPECIE	CMB DE AEA		
	0.31%v/v	0.16%v/v	0.08%v/v
<i>V. parahaemolyticus</i>	4	5	7
<i>V. alginolyticus</i>		2	2
<i>V. mimicus</i>		3	5
TOTAL	4	10	14
PORCENTAJE	14.3%	35.7%	50%

VIII. DISCUSIÓN

Las propiedades medicinales de plantas son usadas en el tratamiento contra diferentes enfermedades desde tiempo remotos, debido a que ofrecen una diversidad de sustancias potencialmente favorables contra estas (Giamarellou, 2000). Hay indicios de que los hombres de Neandertal que habitaron Irak hace 60 000 años empleaban plantas con razones medicinales (Stockwell, 1988 mencionado en Domingo y López, 2003). Plantas como la manzanilla (*Matriarca chamomilla*), el tomillo (*Thymus vulgaris*) se emplean contra infecciones urinarias (Yeaman, 2003) y la planta de San Juan (*Hypericum perforatum*) como antidepresivo (Miskovsky, 2002).

En la acuicultura, el constante y/o mal uso de los antimicrobianos en sus producciones o cultivos ha provocado que los patógenos adquieran resistencia a estos fármacos (Modak, 2011). Algunos estudios demuestran el potencial uso de componentes de las plantas en la acuicultura, aunque Bauer y colaboradores, en 1959, empezaron a ejecutar estudios de fitoterapia en animales de cultivo (Bauer, 1959 mencionado en Prieto *et al.*, 2005). Por ejemplo, el empleo de guayaba (*Psidium guajava*) para control de necrosis hematopoyética infecciosa de los salmónidos (Wei *et al.*, 2000); el palo María (*Callophyllum inphyllum*) mostró efectos viricidas contra el virus de la cabeza amarilla del camarón (Direksaburakom *et al.*, 1996), así como la albahaca morada (*Ocimum sanctum*) también mostró efecto viricida contra el mismo virus (Janwitayanuchita *et al.*, 2003). El eucalipto (*Eucalyptus* sp.) presentó efecto bactericida contra *Aeromonas* sp. y *Vibrio* sp. (Núñez *et al.*, 2001).

Con respecto a la composición química del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca”, varios autores difieren en su composición y principal constituyente. Empleando el método de hidrodestilación y usando las partes áreas (hojas y tallos) de *O. basilicum* cultivada en Venezuela se identificó 14 componentes químicos, siendo al isoestragol el componente mayoritario (77.22%) (Rivas *et al.*, 2015). En Turquía, Ozcan y Chalchat, 2002, identificaron 49 componentes químicos siendo el methyl eugenol (78.016%) el componente más abundante del aceite extraídas de las hojas en la época de floración (agosto) mediante hidrodestilación.

Hussain *et al.*, 2008, evidenciaron 29 compuestos químicos y Linalool (56.7%) como el componente principal del aceite, extraídas de hojas mediante hidrodestilación, durante las 4 estaciones del año en Pakistán. En Túnez, se detallaron 48 componentes químicos y el componente principal fue Linalool (11.5%), extraída de hojas mediante hidrodestilación (Snoussi *et al.*, 2016A).

Por otro lado, en Serbia y Montenegro, Bozin *et al.*, 2006, registraron 47 componentes químicos, siendo el principal metil chavicol o estragol (45.8%), originadas de hojas con flores mediante hidrodestilación, en julio.

La presente investigación, concuerda con Bozin *et al.*, 2006 encontrando al estragol 77.75% como el principal constituyente de *Ocimum basilicum* L., siendo extraído de hojas mediante hidrodestilación y; con Rivas *et al.*, 2015 en su composición (igual número de componentes).

Muchos autores, mencionan que, estas variaciones con respecto a su composición y componentes principales del aceite esencial se deben a diferentes

factores ambientales, climáticos, de suelo, genéticos, de desarrollo, estado nutricional, condiciones de producción. Debbarma *et al.*, 2012, Shehata *et al.*, 2013

En lo que se refiere a la actividad inhibitoria, diversos estudios revelan diferentes actividades inhibitorias del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca”. Rivas *et al.*, 2015, evidenciaron que el aceite esencial extraído de hojas y tallos tuvo un efecto moderado tanto para bacterias gramnegativas (8-11mm halos de inhibición) sobre *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enteritidis*, y grampositivas (12mm) sobre *B. subtilis* a concentración de 50 mg/mL., y valores altos de CMI (100 mg/mL.)

Mientras que, Hussain *et al.*, 2008, evidencian una fuerte actividad inhibitoria sobre *B. subtilis* (halos de inhibición 22.2-24.4 mm) y *S. aureus* (20.4-26.1 mm) y valores bajos CMI (0.9 mg/mL y 0.8 mg/mL), sin embargo, para bacterias gramnegativas, *E. coli* y *P. multocida* presentaron una actividad moderada con halos de inhibición de 11.4 – 16.2 mm y 13.6-18.4 mm y valores bajos de CMI 1.7 mg/mL y 1.6 mg/mL respectivamente.

Bozin *et al.*, 2006 manifiestan una fuerte actividad inhibitoria del aceite esencial sobre bacterias grampositivas (*S. aureus*, *S. epidermidis* y *B. subtilis*) y gramnegativas (*E. coli*, *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. sonei*), con halos de inhibición de 20.0 - 22.6 mm y 18.0 – 29.0 mm. respectivamente a una concentración de 20 %.

Snoussi *et al.*, 2016A, revelaron halos de inhibición de 8.67 a 15.1 mm contra de diferentes especies de *Vibrio* (*Vibrio cholerae*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. cincinnatiensis*, *V. proteolyticus*, *V. natrigens*, *V. mimicus*, *V. fluviales*, *V. anguillarum*, *V. carchariae*, *V. harveyii*, *V.*

diazotrophicus, *V. splendidus* y *V. pectenecida*), reflejando una actividad inhibitoria moderada del aceite. Además, registraron valores de CMI de (0.019-0.039 mg/mL), CMB (2.5 -10 mg/mL).

Por otro lado, en esta investigación, el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” evidenció una actividad inhibitoria fuerte (19.13, 21.48, 21.94 mm halos de inhibición) frente a cepas patógenas de 3 especies diferentes de *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. mimicus*) a concentraciones de 5, 10 y 20 % (v/v). Además de presentar valores bajos de CMI (0.08-0.16 v/v) y CMB (0.08-0.31 v/v)

En este trabajo, la actividad antibacteriana se le puede atribuir a las altas concentraciones de estragol (fenilpropano) y linalol (monoterpeno oxigenado). Así como en Bozin *et al.*, 2006., obtuvo resultados similares, siendo sus principales componentes estragol y linalol obtuvieron también una actividad antibacteriana fuerte. Mientras que, en los trabajos de Snoussi *et al.*, 2016A, Hussain *et al.*, 2008, su principal componente fue el linalol, evidenciando una actividad antibacteriana moderada. En efecto, Wan *et al.*, 1998, señala que la actividad inhibitoria del aceite esencial de albahaca está ligada a la presencia de estragol y linalol.

Con respecto a la composición química del aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre”, diversos autores han encontrado variaciones en la composición química. Curiel *et al.*, 2017, reportan 28 componentes químicos y sus principales constituyentes Eudesmol 8.19%, γ -terpinemo, extraídos mediante hidrodestilación de rizomas en verano (junio), México. También se evidenció mayor cantidad de sesquiterpenos (53.57%) que monoterpenos (21.87%). En la

India, Singh *et al.*, 2008, encuentran 57 componentes químicos y los principales constituyentes geraniol (25.9), α zingibereno extraídos de rizomas mediante hidrodestilación. Mientras tanto en Túnez, Snoussi *et al.*, 2016B, manifiestan 60 componentes químicos y sus componentes principales canfeno (11.5%), β felandreno. Además, su composición química presenta mayor cantidad de monoterpenos que sesquiterpenos. Estos autores difieren con el presente estudio, encontrándose 34 componentes químicos y sus principales componentes zingibereno (34.6%), β sesquifelandreno extraídos de rizomas mediante hidrodestilación.

Por otro lado, autores como Sacchetti *et al.*, 2005, Sasidharan y Menon 2010, Debbarma *et al.*, 2012, Wang *et al.*, 2020 concuerdan con el presente estudio, manifestando a zingibereno como el principal componente (23.9%, 28.6%, 27.4), pero discrepan en el número de componentes químicos (35, 51, 10, 20)

Varios estudios demuestran que, el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe es una mezcla compleja de componentes existiendo variaciones en su composición química. Estas diferencias se atribuyen a las diversas condiciones agroclimáticas (Estacional, geográfica y climática), localidades de siembra, etapas de madurez de la planta, partes de la planta analizada, factores genéticos Snoussi *et al.*, 2016A, Hossain *et al.*, 2018.

En lo que respecta a la actividad inhibitoria, diferentes estudios demuestran que el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” presentó una clasificación variada en la actividad antibacteriana. Exponiendo una actividad antimicrobiana fuerte para bacterias grampositivas *S. aureus* (24.0 mm), *B. subtilis*

(46.0 mm) y bacterias gramnegativas *Vibrio vulnificus* (16.33 mm) y *V. vulnificus* (15 mm) a concentración de 100 uL.de aceite esencial (Debbarma *et al.*, 2021).

Otros autores, observaron actividad moderada frente a *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* y *S. sciuri* con halos de inhibición 10.33, 12.33 y 11.33 mm a concentraciones de 10 mg de aceite esencial por disco (Snoussi *et al.*, 2016A). Por otro lado, frente a *Edwardsiella tarda* aislada del lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*) de cultivo fue resistente al aceite a una concentración de 20%, mientras que, para las grampositivas (*S. iniae* y *L. garvieae*) hubo una actividad moderada (12 mm y 8mm) (Hossain *et al.*, 2019). En china, Wang *et al.*, 2020, encontraron una actividad fuerte (17.1 mm) para *S. aureus* y moderada (12.3mm) para *E. coli*. A diferencia de los autores mencionados anteriormente, en esta investigación se evidenció una actividad antibacteriana fuerte contra cepas patógenas del género *Vibrio*, observándose halos de inhibición de 16,81 mm, 17,52 mm y 16,468 mm a concentraciones de 5, 10 y 20 (v/v).

Estas diferencias en su actividad bacteriana se pueden deber al tipo de método empleado (método de difusión por disco o en pozos). La actividad antimicrobiana fuerte fue evidenciada en el método de difusión en pozos, método empleado por Debbarma *et al.*, 2021 y en el presente trabajo, mientras que la actividad antibacteriana moderada fue evidenciada usando el método de difusión por disco como en Snoussi *et al.*, 2016B, Hossain *et al.*, 2019, Wang *et al.*, 2020.

Tanto el método de difusión en disco como en pozos son comúnmente empleados en el estudio de efecto antibacteriano de aceites esenciales debido a su bajo costo y factibilidad. De los dos métodos de difusión, el de pozos es más

sensible que la de disco, también brinda condiciones más apropiadas para el crecimiento bacteriano (Valgas *et al.*, 2007)

El efecto antibacteriano o antimicrobiana de ambos aceites esenciales, albahaca y jengibre se puede deber a la presencia de terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos) en su composición química. La literatura señala que, (Sánchez *et al.*, 2009) la actividad antibacteriana de los aceites esenciales se debe a la presencia de terpenoides. Kotan *et al.*, 2007, manifiesta que la actividad antibacteriana de los monoterpenos se debe a la alta solubilidad en el agua por lo que tiene mayor difusión en el medio celular. En este trabajo, en ambos aceites se encontraron terpenos (monoterpenos y se sesquiterpenos) en su composición química.

Considerando que los aceites son una mezcla compleja de compuestos químicos, es posible que su actividad antibacteriana no solo se atribuya a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios compuestos sobre diferentes partes de la célula bacteriana. La literatura, señala que, el mecanismo de acción de los terpenoides consiste en la disrupción de la membrana celular mediante 3 vías posibles: desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, afectando la estabilidad estructural de la membrana y aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, cualquiera sea la vía, producen la muerte de la célula bacteriana (Favio *et al.*, 2007)

En líneas generales, la actividad antibacteriana está supeditada a la variedad de los componentes químicos de los aceites, los cuales se pueden asignar a diferentes factores como clima, estación del año, geográfica de la región, etapa de madurez, zona de la planta de extracción del aceite esencial, metabolismo de las

plantas, y a factores genéticos (Debbarma *et al.*, 2012, Shehata *et al.*, 2013, Snoussi *et al.*, 2016A, Hossain *et al.*, 2018).

La actividad antibacteriana exhibida por los aceites esenciales frente a bacterias patógenas aisladas de langostinos de cultivo de la región Tumbes, revela un potencial antimicrobiano como fuente de bioactivos antibacterianos para el desarrollo de fármacos, cumpliendo un rol importante en el progreso de la calidad e inocuidad de alimentos y garantía de ambientes acuáticos libres de desechos contaminantes. Se requieren más ensayos y/o investigaciones para evaluar la eficacia antibacteriana de los aceites esenciales en sistemas acuáticos (*in vivo*). Este presente estudio *in vitro* de los aceites esenciales frente cepas patógenas del género *Vibrio* es un gran y primer paso de investigación para estudios posteriores en la evolución del efecto antibacteriano de los aceites esenciales hacia el empleo de alternativas altamente activas como medicamentos ecoamigables frente a enfermedades en langostinos y/ producción acuícola.

IX. CONCLUSIONES

- Ambos aceites esenciales, *Ocimum basilicum* L. “albahaca” y *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre”, exhibieron 13 y 34 compuestos químicos en su composición, siendo estragol y α -Zingibereno los más notables.
- El aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” presentó una mejor actividad antimicrobiana *in vitro* que el aceite esencial de *Zingiber officinale* Roscoe “jengibre” contra las cepas patógenas del género *Vibrio* estudiadas, mediante la técnica de difusión en pozos.
- El aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” presentó efecto bacteriostático y bactericida contra las cepas patógenas del género *Vibrio*.

X. RECOMENDACIONES

- Es necesario realizar estudios *in vivo*, con la finalidad de comprobar la palatabilidad y seguridad de los aceites esenciales de albahaca y jengibre en la crianza de langostinos, así como su dosis con efecto antimicrobiano.
- Realizar estudios sobre la estabilidad de los aceites esenciales en sistemas acuáticos.
- Se recomienda hacer estudios de aceites esenciales contra otras enfermedades que afecten a langostinos de cultivo, ya sean ocasionadas por bacterias o virus como Necrosis Hepatopancreática (HPN), virus de la mancha blanca VSMB, virus del síndrome de Taura (ST).

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adigüzel, A., Güllüce, M., Sengül, M., Ogütcü, H., Sahi, F., Karaman, I. (2005). Antimicrobial Effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae). Extract. Turk J Biol 29: 155-160
2. Aguirre, E., Sanchez, H., Ordinola, A. (2021). Resistencia antibiótica em *Vibrio* spp aislados de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Alternativas de tratamiento con extractos de *Azadirachta indica* y *Origanum vulgare*.. Rev Inv Vet Perú; 32(4):1-15
3. Alfaro, R., Guevara, M., Gonzales, I. (2010). Prevalence and distribution of the principal etiologic agents that affecting wild shrimps from Tumbes, Peru. Rev. Peru. Biol. 17(3): 359 – 364.
4. Andrews, J. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 48 (Suppl. 1): 5-16.
5. Araujo, C. (2018). Parámetros de extracción de aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) por arrastre de vapor. Tesis para optar el título de ing. Químico. Univ. Nac. del Altiplano, Puno.
6. Baltazar, PM., Palacios, J., Mina, L. (2014). Production, marketing and development prospects of the Peruvian aquaculture. Científica 11 (2): 1-16.
7. Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., Lindequist, U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. Aquaculture, 252(1): 7984.
8. Bauer, R. (1998). Gill-cleaning mechanisms of the crayfish *Procambarus clarkii* (Astacidea: Cambaridae): Experimental testing of setobranch function. Invertebrate Biology, vol. 117, n° 2: 129-143.

9. Bellik, Y. (2014). Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 4 :40-44.
10. Beltrán, M., Peláez, E., Estrada, J., Escobar, J., Serna, L., Ríos, D. (2010). Estudio farmacognóstico para el cuidado de la salud a partir de aceites esenciales obtenidos por destilación de arrastre de vapor. Investigaciones Andinas. 20(12):8-18.
11. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., Anackov, G. (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. Rev. J. Agric. Food Chem. 54: 1822-1828
12. Burt, S. (2007). Antibacterial activity of essential oil: Potential application and food. (Doctoral dissertation. Utrecht University). International Journal of Food Microbiology 94: 223-253
13. Cantón, R., Gómez, L., Rodríguez, C., Martínez, L., Vila, J. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica; SIEMC: Madrid, Spain. 54 p.
14. Cavalieri, S. (2005). Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Editora coordinadora, Marie B. Coyle. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. 231 p.
15. Chirinos, M., Velásquez, R., Ascanio, C., Mata, J., Carrasqueño, A. (2009). Obtención de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” a partir de tejidos cultivados *in vivo* e *In vitro*. Rev. De la Facultad de Agronomía Universidad del Zulia. 35 (1): 28 –33.

16. Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. *Aquacult Int* 18:403–414
17. Colivet, J., Marcano, G., Belloso, G., Brito, D., Gómez, E. (2011). Efecto antimicrobiano de extractos etanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2 (2): 313-320.
18. COMEX PERÚ. (2018) (visto el 9 de octubre del 2021): Exportaciones de langostinos peruanos alcanzan récord. *Diario Gestión*. Recuperado de: <https://gestion.pe/economia/comexperu-exportaciones-langostinos-peruanos-alcanzan-record-226989-noticia/>
19. Connell, T., Metzger, D., Lynch, J., Folser, J. (1998). Endochitinase is transported to the extracellular milieu by the eps-encoded general secretory pathway of *Vibrio cholerae*. *Journal of Bacteriology* 180(21): 5591-5600.
20. Córdova, I., Aragón, O., Díaz, L., Cabrera, S., Serafín, A., Pozos, A., Soto, T., Martínez, F., Isiordia, M. (2016). Actividad antibacteriana y antifúngica de un extracto de *Salvia apiana* frente a microorganismos de importancia clínica. *Rev Argent Microbiol*.48(3):217-221.
21. [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals. Approved Guideline VET03-A. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA: CLSI.
22. [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing of bacteria isolated from

- aquatic animals. Informational supplement VET03/04-S2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA: CLSI.
- 23.** Curiel, E., Hernández, M., Ramírez, J., Rivas, A., Ortiz, M., Serrano, R., Hernández, T. (2017). Antimicrobial activity of essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae). American Journal of Plant Sciences, 8: 1511-1524
- 24.** Cuellar, J., Corteel, M., Galli, L., Alday, V., Hasson, K. (2010). Principal shrimp infectious diseases, diagnosis and management. Alday V. The Shrimp Book. UK: Nottingham University Press. 517-621.
- 25.** Debbarna, J., Kishore, P., Nayak, B., Kannuchamy, N., Gudipati, V. (2012). Antibacterial activity of ginger, eucalyptus and sweet orange peel essential oils on fish-borne bacteria. Journal of Food Processing and Preservation, 37:1022-1030.
- 26.** Direksaburakom, S., Herunsalee, A., Rongkumnardwong, A. (1996). The virucidal activity of nine species of herb against yellow head baculovirus of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and viruses of fish. NICA Technical Abstract 6, 34-45
- 27.** Domingo, D., López, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. Rev. Española Quimioterapia. 16 (4): 385-393.
- 28.** Dorman H y Deans G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88(2), 308-316.
- 29.** Eloff, J. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts fort bacteria. Rev. Planta med 64: 711-713

30. FAO (Food and Agriculture Organization). (2010). *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). Programa de información de especies acuáticas. Departamento de Pesca y Acuicultura (en línea). Consultado 30 mayo 2021. Disponible en http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/es
31. Favio, A., Cernelli, C., Favio, G., Nicoletti, P., Quaglio, P. (2007). Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phytotherapy research*, 21(4): 374-377
32. Franco, J., Zarza, A., Villa, N., Ramón, L., Galván, O., Meza, M., Mota, L. (2010). Especies patógenas del género *Vibrio* en alimentos marinos de establecimientos de Isla del Carmen, Campeche, Mexico. *Ciencia y Mar*, XIV 40:31-44.
33. Giamarellou, H. (2000). Anaerobic infection therapy. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16(3), 341–346. Doi:10.1016/s0924-8579(00)00269-7
34. Gracia, M., Ávila, L., Yepiz, G., Hernández, J., Mendoza, F., García, G., Gollas, T. (2011). Assessing the viability of necrotizing hepatopancreatitis bacterium (NHPB). stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for use in forced-feeding infection of *Penaeus (Litopenaeus vannamei)*. *Aquaculture*. 311 (1-4):105-109.
35. Gracia, M., Orozco, C., Molina, C. (2012). Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri*). en bacterias patógenas del camarón *Litopenaeus vannamei*. *Rev. Hidrobiológica*. 22(3):201-206.
36. González, J., Delfin, H., De la Cruz, M., Rojas, R., Zamudio, M. (2011). Protocolo para la extracción de ADN metagenómico bacteriano del langostino *Macrobrachium carcinus* L. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14(3):875-883.

37. Gutiérrez, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes del mal olor. Boletín intexter (UPC) N° 122: 35-41.
38. Hanif, M., Al-Maskari, M., Al-Maskari, A., Al-Shukaili, A., Al-Maskari, A., Al-Sabahi, J. (2011). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of unexplored Omani basil. Journal of Medicinal Plants Research. 5(5):751-757.
39. Hossain, S., De Silva, B., Wimalasena, S., Pathirana, H., Heo, G. (2019). In vitro antibacterial effect of ginger (*Zingiber officinale*). Essential oil against fish pathogenic bacteria isolated from farmed olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). In Korea. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 18(2): 386-394
40. Hussain, A., Anwar, F., Sherazi, S., Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chem. 108:986–995.
41. Instituto Nacional de la Salud (INS). (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de normas técnicas n°30. Lima: Lecca. 43-44 p.
42. Janda, J., Powers, C., Bryant, R. y Abbott, S. (1988). Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio spp.* Clin Microbiol Rev, 1: 245-267.
43. Janwitayanuchita, W., Suwanboriruxa, K., Patarapanicha, C., Pummanguraa, S., Lipipuna, V., Vilaivanb, T. (2003). Synthesis and anti-herpes simplex viral activity of monoglycosyl diglycerides. Rev. Phytochemistry. 64:1253–1264.

44. Khare, C. (2007). Indian medicinal plants. An illustrated dictionary. Ed. Springer. India. 446pp. ISBN:978-0-387-70637-5. Springer-Verlag Berlin/Heidelberg
45. Kim, H., Ryu, J., Lee, S., Kim, E., Kim, H. (2015). Multiplex PCR for detection of the *Vibrio* genus and five pathogenic *Vibrio* species with primer sets designed using comparative genomics. *BioMed Central* 15:239.
46. Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A. (2007). Screening of antibacterial activities of twenty – one oxygenated monoterpenes. *Zeitschrift fur naturforschung C*, 62 (7-8): 507-513
47. Labra, M., Miele, M., Ledda, B., Grassi, F., Mazzei, M., Sala, F. (2004). Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Plant Science*, 167(4): 725–731.
48. López, R., Negrete, P., Romero, J. (2007). Comprobación in vivo de la capacidad antibacterial de *Oedogonium capillare* contra *Vibrio fluvialis* en pez Dorado *Carassius auratus*. *Vet Méx.* 38(4):439-54.
49. Makri, O., Kintzios, S. (2008). *Ocimum* sp. (Basil): Botany, Cultivation, Pharmaceutical Properties, and Biotechnology. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*.13:3, 123-150.
50. Malbrán, C. (2021). Manuel de procedimientos. Prueba de sensibilidad a los Antimicrobianos en *Vibrio cholerae*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS. 15p.
51. Mesomo, M., Corazza, M., Ndiaye, P., Dalla, O., Cardozo, L., Scheer, A. (2013). Supercritical CO₂ extracts and essential oil Ginger (*Zingiber officinale* R.):

- Chemical composition and antibacterial activity. *The Journal of Supercritical Fluids* 80:44-49.
- 52.** Miskovsky, P. (2002). Hypericin - A New Antiviral and Antitumor Photosensitizer: Mechanism of Action and Interaction with Biological Macromolecules. *Current Drug Targets*, 3(1): 55-84. doi:10.2174/1389450023348091
- 53.** Modak, B. (2011). Antivirales de origen natural en la industria acuícola: Un desafío a la Fitoterapia. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(4): 292-296.
- 54.** Nuñez, M., Pozo, M., Valladares, J. (2001). Concentración inhibitoria mínima de tres extractos de plantas medicinales sobre bacterias del género *Aeromonas* causantes de enfermedades en peces. *Revista Aqua TIC* 14: 23-28.
- 55.** Organización Mundial de la Salud. (2005). Manual de bioseguridad en el laboratorio 3ra. edición. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. 223 p.
- 56.** Özcan, M., Chalchat, J. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech Journal of Food Sciences*. Vol. 20, No 6, 223-228.
- 57.** Peredo, H., Palou, E., López, A. (2009). Aceites esenciales: Métodos de extracción. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 3(1):24-32
- 58.** Perilla, M., Ajello, G., Bopp, C., Elliot, J., Facklam, R., Knapp, J., Popovic, T., Wells, J., Dowell, S. (2003). Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo. 6ta Edición. Ginebra. 152p.

59. Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6:39.
60. Prieto, A., Auró, A., Fernández, A., Pérez, M. (2005). El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potencialidades de uso en Cuba y México. *Rev. Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 8(1):38-49.
61. Raynard, R., Wahli, T., Vatsos, I., Mortensen, S. (2007). Review of disease interactions and pathogen exchange between farmed and wild finfish and shellfish in Europe. VESO project number: 1655: 459
62. Rebouças, R., Rodrigues, F., Silva, R., Viana, O. (2017). *Vibrio* spp. como patógenos na carcinicultura. *Arq. Ciên. Mar, Fortaleza*, 50(1): 163 – 179
63. Reyes, F., Palou, E., López, A. (2014). Métodos de la evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales. *Rev, TSIA*. 8: 68-78.7
64. Rivas, K., Rivas, C., Gamboa, L. (2015). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Multiciencias*.15(3): 281 – 289.
65. Roque, A., Molina, A., Bolán, C., Gomez, B. (2001). In vitro susceptibility to 15 antibiotics of *Vibrios* isolated from penaeid shrimps in Northwestern Mexico. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 17: 383-387
66. Rosado, A. (2018). Resistencia antimicrobiana de bacterias del género *Vibrio* en langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*). en centros de cultivo de la región

- Tumbes. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. Universidad Ricardo Palma, Lima - Perú.
- 67.** Rosado, A. (2019). Detección de especie patogénicas del género *vibrio* en langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) de centros de crianza de la región tumbes, mediante la aplicación de un protocolo de pcr múltiple. Tesis para optar el grado de maestro en sanidad acuícola. Universidad Cayetano Heredia, Lima-Perú
- 68.** Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredin, S., Radice, M., Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.* 91, 621–632.
- 69.** Sasidharan, I., Menon, N. (2010). Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe). *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 2(4), 40–43.
- 70.** Sánchez, E., López, L., Fuentes, L., Rodríguez, C. (2000). Estudio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. “albahaca blanca”. *Rev. Cub. Far.* [Revista virtual]. 34 (3): 187 –195.
- 71.** Sánchez, Y., Pino, O., Correa, T., Naranjo, E., Iglesia, S. (2009). Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (caisimón de anís). *Rev. Proteccion Veg.* Vol 24: 39-46)
- 72.** [SANIPEZ] Organismo Nacional de Sanidad Pesquera. (2016). Indicadores Sanitarios y de Inocuidad para los Productos Pesqueros y Acuícolas para Mercado Nacional y de Exportación. Resolución de Dirección Ejecutiva No 057-2016-SANIPES-DE.

73. Santiago, H., Espinosa, A., Bermúdez, M. (2009). Uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 4 (3): 22-32.
74. Shehata, S., Mohamed, M., El-Shafi, S. (2013.) Antibacterial activity of essential oils and their effects on Nile tilapia fingerlings performance. *Journal of Medical Sciences*, 13, 367-372.
75. Simon, J., Morales, M., Phippen, W., Fontes, R., Hao, Z. (1999). Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb. J. Janick ed. ASHS Press, Alexandria, VA. 499-505.
76. Singh, G., Kapoor, I., Singh, P., Heluani, C., De Lampasona, M., Catalan, C. (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology* 46: 3295–3302.
77. Snoussi, M., Dehmani, A., Noumi, E., Flamini, G., Papetti, A. (2016A). Chemical composition and antibiofilm activity of *Petroselinum crispum* and *Ocimum basilicum* essential oils against *Vibrio* spp. Strains. *Microbial Pathogenesis* 90: 13 – 21
78. Snoussi, M., Trabelsi, N., Taleb, S., Dehmeni, A., Flamini, G., Feo, V. (2016B). *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: Composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*. 21, 1414.
79. Sosa, D., Escobar, A., Faure, R. (2013). Empleo de la oxitetraciclina en el cultivo del camarón con énfasis en la especie *Litopenaeus vannamei* y alternativas que favorecen la disminución o sustitución de su aplicación. *Rev. Redvet*. 14(7):1-11.

- 80.** Sorroza, L., Campoverde, M., Santacruz, R. (2017). Estudio preliminar del extracto de dos plantas medicinales con efecto antibacteriano para uso en acuicultura. *Rev. AquaTIC*. 49: 1-7.
- 81.** UNNE. (2010). Asteridias. Diversidad vegetal, Biotaxonomía de espermatofitos. Universidad Nacional de Nordeste – Facultad de ciencias exactas, naturales y agrimensura. *Corrientes Argentinas*. 121 – 126.
- 82.** Valgas, C., Machado de Souza, S., Smania, F., Smania, A. (2007). Screening methods determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology* 38: 369 – 380.
- 83.** Varela, A., Alfaro, R. (2018). Revisión sobre aspectos farmacológicos a considerar para el uso de antibióticos en la camaronicultura. *Rev Inv Vet Perú*. 29(1):. 01-14.
- 84.** Wan, J., Wilcock, M., Coventry, J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of applied microbiology*, 84(2): 152-158
- 85.** Wang, X., Shen, Y., Thakur, K., Han, J., Zhang, J., Hu, F., Wie, Z. (2020). Antibacterial activity and mechanism of Ginger essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 2 (17):3955.
- 86.** Wei, L., Li, Z., Chen, B. (2000). Clinical study on treatment of infantile rotaviral enteritis with *Psidium guajava* L. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 20, 893-895
- 87.** Yeaman, M. (2003). Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. *Pharmacological Reviews*, 55(1), 27–55. doi:10.1124/pr.55.1.2

88. Zheljzkov, V., Cantrell, C., Tekwani, B., Khan, S. (2008). Content, composition, and bioactivity of the essential oil of three basil genotypes as a function of harvesting. *Rev. J. Agric. Food Chem.* 56: 380 - 385.

ANEXOS

*Anexo A. Medicamentos permitidos en el musculo de productos pesqueros -
SANIPEZ. 2016*



Tabla N° 12 - Límite Máximo de Medicamentos Veterinarios en el Músculo para Productos Pesqueros

PRODUCTO FARMACÉUTICO	LMP (ppm)
Oxitetraciclina	0.1
Ácido oxolinico	0.1
Flumequina	0.15
Sulfas	0.1
Florfenicol	1.0
Eritromicina	0.2
Enrofloxacino	0.1
Amoxicilina	0.05
Benzoato de Emamectina	0.1
Ciprofloxacino	0.1
Trifluralin	0.001

*Anexo B. Medicamentos prohibidos que no deben suministrarse a productos
pesqueros para consumo humano SANIPEZ. 2016*

Tabla N° 13 - Sustancias Prohibidas que no Deben ser Suministradas a Animales Destinados al Consumo Humano

SUSTANCIAS PROHIBIDAS	CONTENIDO
Cloranfenicol	Ausencia
Dimetridazol	Ausencia
Nitrofuranos (Furazolidona, nitrofurazona)	Ausencia
Estilbenos (Diethylstilbestrol)	Ausencia
17 β estradiol	Ausencia
Verde de Malaquita	Ausencia
Leuco Verde de Malaquita	Ausencia
Diclorvos	Ausencia
Ivermectina	Ausencia
Zeranol	Ausencia



Nota: Se entiende por ausencia a los resultados obtenidos bajo el limite de cuantificación de la técnica.

Anexo C. Grupos químicos con actividad antimicrobiana obtenidos de plantas.

Tabla 1. Grupos químicos más importantes con actividad antimicrobiana obtenidos de plantas.			
Grupo químico	Compuesto	Planta	Actividad
Fenoles simples	Timol	<i>Thymus officinalis</i> (tomillo)	General
	Ácido antémico	<i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)	<i>S. aureus</i> , <i>S. thyphimurium</i>
	Terpenoide	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Salmonella</i>
Quinonas	Hipericina	<i>Hypericum perforatum</i> (hipérico)	VIH
Taninos		<i>Quercus rubra</i> (roble)	Bacterias y virus
		<i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)	Virus
		<i>Melissa officinalis</i> (melisa)	
Cumarinas		<i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)	Virus
Flavonas	Catequina	<i>Camellia sinensis</i>	<i>Shigella</i> , <i>Vibrio</i> , <i>S. mutans</i>
	Isoflavona	<i>Milletia thonningii</i>	<i>Schistosoma</i>
	Quercitina	<i>Quercus rubra</i> (roble)	
Alcaloides	Coca	<i>Erythroxylum coca</i> (coca)	Cocos grampositivos
	Piperina	<i>Piper nigrum</i>	Hongos, <i>Lactobacillus</i>
	Mescalina	<i>Lophophora williamsii</i> (peyote)	General