



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
 NÚCLEO BOLÍVAR
 ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
 "Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
 COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

ACTA

TGB-2023-14-13

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. FERNANDO LINARES y Prof. IGNACIO RODRIGUEZ, Reunidos en:

a la hora: 11 am Dña Mercedes Quintero

Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE FERMENTADOS DE KOMBUCHA SOBRE ESCHERICHIA COLI UROPATOGENA

Del Bachiller ARELLANO ACOSTA DANIELA ANDREA DE JESÚS C.I.: 27596468, como requisito parcial para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN	X
-----------	----------	-----------------------------	------------------------------	---

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 18 días del mes de Octubre de 2023

Prof. IVÁN AMAYA
 Miembro Tutor

Prof. FERNANDO LINARES
 Miembro Principal

Prof. IGNACIO RODRIGUEZ
 Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ
 Coordinador comisión Trabajos de Grado





UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
“Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE
FERMENTADOS DE KOMBUCHA SOBRE *Escherichia coli*
UROPATÓGENA**

Tutor académico:

Msc. Iván Amaya

Trabajo de grado presentado por:

Br. Arellano Acosta Daniela Andrea de Jesús

CI: 27.596.468

**Como requisito parcial para optar al título
de Licenciado en Bioanálisis**

Ciudad Bolívar, octubre 2023

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN	11
OBJETIVOS	12
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos	12
METODOLOGIA.....	13
Tipo de estudio	13
Fase A. Preparación del té Kombucha.....	13
Fase B. Medir pH y realizar diferentes concentraciones	15
Fase C. Siembra de Kombucha Té negro y Té verde	16
Fase D. Método para evaluar efecto antimicrobiano	19
RESULTADOS	21
Obtención de fermentados de Kombucha (Té verde- Té negro)	21
Medición de pH de té Kombucha (Té verde- Té negro).....	21
Medición grados Brix de té Kombucha	22
Siembra de té Kombucha en Agares: Sangre, Levine y Sabouraud.	22
Preparación de las distintas diluciones a partir de la solución madre.....	22
Medición de concentraciones	23

Extracto acuoso de Té Kombucha directo sobre el agar con el asa calibrada.	24
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	30
RECOMENDACIONES	31
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	32

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradezco a mi familia por haberme permitido crecer en un hogar de unión, respeto, amor y apoyo incondicional; sin ellos no sería nada de lo que soy en estos momentos.

Quiero agradecer a mi padre y a mi madre a quienes no solo les debo la vida sino también muchas enseñanzas y amor, a mis abuelos por hacerme la mujer responsable que soy hoy en día.

A mi tutor, Iván Amaya, por orientarme y guiarme en el desarrollo de este trabajo de investigación.

A mis profesores, por su dedicación, experiencia y pedagogía al enseñar y orientar en esta etapa universitaria.

Al laboratorio Sócrates Medina y su personal, Licenciada Angélica González y Licenciada Daniela Pérez, por su grande apoyo en poder realizar mi trabajo de investigación con éxito.

Y por último y no menos importante, nuestra “Alma Mater”, la Universidad de Oriente, por ser mi segundo hogar.

DEDICATORIA

A mis abuelos, José Antonio y Teresa Acosta, quienes me acompañaron en toda la travesía de mis estudios. Siempre estuvieron para mí cuando más lo necesitaba, siempre me apoyan en cada paso que doy. Dios no me pudo bendecir mejor que tenerlos a ustedes, su amor y compañía es lo mejor que tengo.

A mis abuelos, José Antonio y Lutecia Arellano, su amor y dedicación hacia su familia inspira cada día para lograr ser como ustedes. Sé que me cuidan y protegen en cualquier camino que vaya. Espero volver a verlos algún día.

A mi madre, Daniela Acosta, gracias a ella soy una persona que lucha por lo que quiere, gracias a ella por su fomento a la lectura desde muy pequeña, este logro también es tuyo, gracias por tanto.

A mi padre, Henry Arellano, quien desde que estoy muy pequeña me ha enseñado que la educación es la riqueza más grande que uno puede tener. Eres mi más grande inspiración, el orgullo que tengo hacia ti es inmenso.

A mis hermanas, Daniela José, Daniela Virginia y Sofia Isabella, nadie más sabe todo el sacrificio y dedicación que tenemos cuando algo nos gusta. Ustedes serán exitosas en todo lo que se propongan.

A toda mi familia, gracias por todo el apoyo y por creer en mí más que nadie. Son mi impulso para seguir adelante, mi motivación para continuar mis objetivos y mi alegría para compartir mis logros y experiencias.

A los mejores amigos que me pudo haber regalado la universidad, José Sotillo, Naimar Garcia, Liznoris Aponte, Adanir Acosta, María Guzmán, Gabriela Freites, Addy Muñoz, Edgardy Alvarez, Derian Perez, Gerard Sarmiento, Roberto Henriquez y Eliana Brito. Esta etapa universitaria fue de las mejores experiencias gracias a ustedes, son mi mayor orgullo y estoy extremadamente agradecida por su lealtad y el brindarme su amistad y apoyo en todo momento. Han estado para mí en las muy buenas y en las muy malas, gracias por hacerme sentir querida y buena amiga. No los cambio por nada en el mundo. Su amistad y amor vale mucho más que cualquier cosa que pueda tener en la vida. Gracias, por tanto.

A mis mejores amigas que me regalo la vida, Diosa Silva, Lismar Serafini, Maria Jose España, Neysimar Salloum, Largenis Martinez y Karla Sanchez, ustedes que me han hecho tan feliz en mi vida, les agradezco por estar conmigo siempre. Las risas, los llantos y todas las experiencias junto a ustedes hacen que mi vida haya sido más bonita. Dios las bendiga siempre. Gracias por hacerme tan feliz.

A mis mejores amigos, Paola Scharbay y Victor Rodriguez, no hay palabras para que sepan lo agradecida que estoy con ustedes. Hablar con ustedes es una de las cosas favoritas que tengo en mi vida. Gracias por sus palabras de aliento, su presencia y sobretodo su amor y cariño hacia mí. Son las personas más especiales que tengo en mi vida, gracias por su hermandad.

¡Y a ti, que te tomaste el tiempo de leer este trabajo! Espero disfrutes esta investigación y que sea de provecho y enriquecedor. Muchas gracias.

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE FERMENTADOS DE
KOMBUCHA SOBRE *Escherichia coli* UROPATÓGENA**

Arellano Acosta, Daniela Andrea de Jesús

**Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud
Universidad de Oriente. Núcleo Bolívar**

RESUMEN

Los consumidores de Kombucha aumentan en todo el mundo dadas las propiedades antioxidantes de los extractos de té y el efecto potencialmente beneficioso de las bacterias fermentadoras. La Kombucha preparada a partir de té negro y verde ha sido ampliamente estudiada, aunque hasta ahora no se han realizado estudios microbiológicos en profundidad sobre bacterias y levaduras que están dentro de los preparados con estos sustratos. **Objetivo:** Demostrar la actividad antimicrobiana in vitro de fermentados de Kombucha sobre *Escherichia coli* uropatógena. **Metodología:** Estudio experimental de tipo multifactorial. **Resultados:** Se obtuvo que en promedio el pH del fermentado de kombucha de té verde después de 14 días de incubación fue de pH 3 y el de té negro obtuvo pH 4. Al inocular los preparados puros de kombucha se verificó en los medios de cultivo, en la kombucha de té verde no se evidenció crecimiento bacteriano ni fúngico a las 24 y 48 horas; en la kombucha de té negro se obtuvo desarrollo fúngico (*Saccharomycetaceae*) en Agar Sabouraud a las 24 y 48 horas, y crecimiento mínimo en Agar Sangre de tipo levaduriforme, en Agar Levine no hubo crecimiento. En relación a la susceptibilidad, en los ensayos donde se empleó kombucha de té verde a las 24 horas no se evidenció halo de inhibición en ninguna de las diluciones, en los preparados a base de té negro a las 24 y 48 horas se observó en la dilución 1:1 halos de inhibición de 11,2 mm; mientras que, en la dilución 1:10 se obtuvieron halos en promedio de 7 mm, en la dilución 1:20 no se observó inhibición. **Conclusión:** La kombucha de Te negro, presentó actividad antimicrobiana sobre cepas de *Escherichia coli* uropatógeno, en concentraciones puras y 1:10, mientras que la kombucha de sustrato Te verde, no evidenció actividad antimicrobiana significativa.

Palabras claves: Kombucha, té negro, té verde, *Escherichia coli*. Antimicrobiano

INTRODUCCIÓN

Los alimentos fermentados se definen como "alimentos o bebidas producidos mediante el crecimiento microbiano controlado y la conversión de componentes alimentarios por acción enzimática". Desde años atrás, los microorganismos probióticos se han reconocido como microorganismos benéficos, evitando el desarrollo de microorganismos patógenos (Marco *et al.*, 2017; Del Campo *et al.*, 2008).

En el proceso de fermentación intervienen diversas variables, como los microorganismos, los ingredientes nutricionales y las condiciones ambientales, que dan lugar a miles de variaciones diferentes de alimentos fermentados. Históricamente, la fermentación de los alimentos se realizaba como método de conservación, ya que la generación de metabolitos antimicrobianos (por ejemplo, ácidos orgánicos, etanol y bacteriocinas) reduce el riesgo de contaminación con microorganismos patógenos. La fermentación también se utiliza para mejorar las propiedades organolépticas (por ejemplo, el sabor y la textura), ya que algunos alimentos, como las aceitunas, son incomedibles sin una fermentación que elimine los compuestos fenólicos amargos (Rezac *et al.*, 2018).

Existen dos métodos principales a través de los cuales se fermentan los alimentos. En primer lugar, los alimentos pueden fermentarse de forma natural, a menudo denominados "fermentos silvestres" o "fermentos espontáneos", en los que los microorganismos están presentes de forma natural en los alimentos crudos o en el entorno de procesamiento, por ejemplo, el chucrut, el kimchi y determinados productos de soja fermentados. En segundo lugar, los alimentos pueden fermentarse mediante la adición de cultivos iniciadores, lo que se conoce como "fermentos

dependientes de cultivos", por ejemplo, el kéfir, la kombucha y el natto (Rezac *et al.*, 2018).

Entre los efectos del consumo de probióticos, sobre la salud humana, se encuentran la disminución de la intensidad y duración de diarreas virales, asociadas a antibióticos o por hospitalización; además, ayudan a la síntesis y absorción de nutrimentos (vitaminas), inhiben la actividad de enzimas implicadas en la generación de carcinógenos, participan activamente en la movilidad intestinal; esto último se atribuye a la producción de ácido láctico, que estimula los movimientos peristálticos del intestino, contribuyendo así a la excreción adecuada, evitando con ello el estreñimiento, ya que se retienen menos tiempo las heces y se contribuye a evitar la formación de sustancias cancerígenas en el intestino grueso (Parra, 2010).

La Kombucha, una de las bebidas más populares de los últimos años, es un producto fermentado que se extendió por primera vez en China, utilizando tradicionalmente té negro o verde [*Camellia sinensis*] como sustratos. Cuando empezó a popularizarse en Japón, recibió el nombre de "Kombucha", creado con la combinación de las palabras "kombu" y "cha", que significan algas y té, respectivamente. La Kombucha se vende en los mercados como bebida tipo té, aunque también se puede preparar en casa. La Kombucha es una bebida de baja graduación alcohólica con alto contenido en compuestos bioactivos derivados de material vegetal y actividad metabólica de microorganismos (bacterias acéticas, bacterias lácticas y levaduras) (Abaci *et al.*, 2022; Antolak *et al.*, 2021).

La Kombucha ha ido ganando protagonismo en todo el mundo y se ha hecho popular por sus buenos beneficios para la salud. Esta bebida se obtiene históricamente de la fermentación del té de *Camellia sinensis* y de una biopelícula de celulosa que contiene el cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY). También se ha informado de que otros sustratos añadidos al té de *Camellia sinensis* ayudan a la

producción de Kombucha. Tanto el tipo como la cantidad de sustrato de azúcar, que es el origen del SCOBY, además del tiempo y la temperatura de fermentación influyen en el contenido de ácidos orgánicos, vitaminas, fenoles totales y grado alcohólico de la Kombucha. Las hojas de *C. sinensis* producen diferentes té a partir de distintos procesos de fabricación. Sin embargo, los té negro y verde son los principales tipos diferenciados según el grado de fermentación y oxidación de las hojas (De Miranda *et al.*, 2022; Dutta y Paul, 2019).

El té verde se produce a partir de hojas frescas de la planta y, por lo tanto, conserva más contenido de polifenoles con una mayor concentración de catequinas y compuestos con actividad funcional en comparación con otros té producidos a partir de *C. sinensis*. El té negro se obtiene a partir de hojas envejecidas, influenciadas por el proceso de fermentación y oxidación de las catequinas que conducen a la formación de teaflavinas y tearubiginas, que son los principales compuestos polifenólicos presentes en el té negro. El alto consumo de té de *C. sinensis* se ha asociado con las propiedades funcionales conocidas, vinculando el efecto positivo debido a la presencia de antioxidantes y compuestos fenólicos que reducen el riesgo de enfermedades (Cardoso *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2018).

La Kombucha tradicional se produce mediante la fermentación aeróbica de té negro (también puede utilizarse té verde) y azúcar blanco por una combinación de bacterias y levaduras, conocida como cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY). La levadura convierte la sacarosa en etanol (además de ácidos orgánicos y dióxido de carbono) que las bacterias acéticas convierten en acetaldehído y ácido acético (Dufresne, 2000).

El té fermentado se produce por la acción de un tapiz/colonia microbiana flotante formada por bacterias aeróbicas y levaduras. El aspecto de la colonia suele parecerse al de un moho superficial o una seta, pero en realidad es un tapiz de

celulosa flotante producido durante el crecimiento y desarrollo microbiano. La producción de la estera flotante facilita la aireación para los microorganismos aerobios. Con cada lote de Kombucha se forma una nueva película, y esta nueva película es la colonia o estera que se puede utilizar para hacer lotes posteriores de Kombucha (Greenwalt *et al.*, 2000).

El proceso de producción de Kombucha inicia con la elaboración de una infusión de té negro y/o verde. La fermentación de la infusión azucarada da inicio con la inoculación del SCOBY y de un inóculo líquido. El inóculo líquido es una reserva, porción de un lote anterior de Kombucha terminada, sin saborización y conservada en refrigeración. Los microorganismos adicionados con las inoculaciones comienzan a metabolizar los sustratos del té endulzado, dando lugar a fermentaciones de tipo alcohólica, láctica y acética. Se ha visto que el consumo de la fuente de carbono incrementa linealmente durante la fermentación de la Kombucha y de forma paralela se forman celulosa, ácido acético y etanol (Kallel *et al.*, 2012).

Las levaduras de los géneros *Saccharomyces* y *Brettanomyces* llevan a cabo la hidrólisis de la sacarosa en glucosa y fructosa mediante la enzima invertasa. Posteriormente, ambos monosacáridos pueden ser utilizados como sustratos en la glucólisis produciendo piruvato, el cual durante la fermentación alcohólica es convertido a acetaldehído y luego a etanol por la enzima alcohol deshidrogenasa. Este proceso libera moléculas de CO₂ que se acumulan en el medio dando lugar a una bebida carbonatada. Otra parte de estos monosacáridos es utilizada para la producción de ácidos orgánicos y la biosíntesis de celulosa. La producción de ácidos disminuye el pH del medio permitiendo que las bacterias acidotolerantes se vuelven más abundantes (Bergström, 2018).

Las bacterias ácido acéticas (BAA) son capaces de transformar fructosa y etanol en ácido acético mediante la oxidación del etanol durante la fermentación

acética en presencia de O₂. Algunos estudios han reportado la presencia de bacterias ácido-lácticas (BAL), las cuales pueden producir ácido láctico a partir del piruvato por medio de lactato deshidrogenasa (Bergström, 2018).

Acetobacter aceti se trata de una bacteria que presenta movimiento gracias a sus flagelos (motilidad: positivo), no tiene la capacidad de producir enzimas de tipo proteolíticas (gelatinasas) que hidrolizan la gelatina (gelatina: positivo). Su proceso metabólico es bien conocido por producir ácido acético en grandes cantidades. *Acetobacter xylinum* es una bacteria con la capacidad de producir celulosa a partir de glucosa y a esta se le atribuye la formación de la matriz celulósica característica del hongo Kombucha. Presenta gelatinaza (gelatina: positivo) y no tiene la capacidad para separar indol a partir de L-triptofano. Al igual que *Acetobacter aceti* es aerobio por lo que no tiene la capacidad de reducir los nitratos (nitratos: -). *Acetobacter pasteurianus* presenta una respiración anaerobia por lo que utiliza nitrato como aceptor final de electrones (Nitratos: positivo) (González *et al.*, 2019).

Las bacterias acéticas tienen un metabolismo estrictamente aerobio, es decir, que para su desarrollo necesitan disponer de oxígeno molecular, que actúa como aceptor final de electrones. La fuente de carbono es también un factor importante para el crecimiento bacteriano y dependiendo de ésta utilizan diferentes rutas metabólicas, con intermediarios y productos finales distintos (González *et al.*, 2019).

Acetobacter xylinum es productor de celulosa bacteriana. La celulosa bacteriana tiene ventajas sobre la celulosa vegetal debido a que se caracteriza por ser químicamente pura, libre de lignina y hemicelulosa, como también por sus fibras ultra finas, alta fuerza mecánica, biodegradabilidad, capacidad para absorber agua y altamente cristalina (Chawla *et al.*, 2009).

Estudios sugieren que el consumo de Kombucha atenúa el estrés oxidativo y la inflamación, mejora el proceso de desintoxicación hepática y reduce el desequilibrio en la microbiota del aparato digestivo. Estos estudios demuestran que el consumo de Kombucha es beneficioso para el control y el tratamiento de la obesidad y las comorbilidades asociadas, así como para la modulación de la microbiota intestinal in vivo (Costa *et al.*, 2021).

La actividad benéfica de la Kombucha incluye la acción antioxidante donde los compuestos fenólicos del Kombucha actúan como captadores de radicales y donantes de electrones, equilibrando el estado Redox celular y reduciendo la peroxidación lipídica y las especies oxigenadas reactivas. Se ha estudiado que la activación de la señalización Nrf₂ (Factor nuclear eritroide 2) es un mecanismo a través del cual los polifenoles atenúan el estrés oxidativo y puede explicar el aumento de la expresión de enzimas antioxidantes. En la modulación de la microbiota intestinal, los polifenoles que no se absorben en el intestino delgado pueden llegar al colon, donde pueden ser metabolizados por los microorganismos y actuar como un metabolito prebiótico que da lugar a una mayor abundancia de microorganismos beneficiosos que contribuyen a la salud del huésped. También modulan la composición de la comunidad microbiana intestinal mediante la inhibición de microorganismos patógeno (Costa *et al.*, 2021).

La acción antiinflamatoria de la Kombucha se ha descrito que el estrés oxidativo activa varios factores de transcripción implicados en la inflamación y la respuesta inmunitaria. La inhibición del estrés oxidativo reduce los mediadores proinflamatorios. También tiene acción desintoxicante en donde los ácidos orgánicos presentes en la Kombucha, como el acético, el glucónico y el glucurónico, facilitan el proceso de desintoxicación debido a su capacidad para conjugarse con toxinas y contaminantes, solubilizándolos y eliminándolos del organismo. Esta acción favorece la protección de las células β del hígado y del páncreas, previniendo su daño y muerte y/o estimulando su regeneración (Costa *et al.*, 2021).

Los consumidores de Kombucha aumentan en todo el mundo, ya que esta infusión es una deliciosa combinación de un delicado sabor ácido junto a las propiedades antioxidantes de los extractos de té y el efecto potencialmente beneficioso de las bacterias fermentadoras. La Kombucha preparada a partir de té negro y verde ha sido ampliamente estudiada, aunque hasta ahora no se han realizado estudios microbiológicos en profundidad sobre bacterias y levaduras que están dentro de los preparados con estos sustratos ya mencionados realizados con una combinación de técnicas dependientes de cultivos y moleculares (Gaggia *et al.*, 2018).

La población de levaduras detectada en los distintos estudios es heterogénea, lo que indica diferentes géneros dominantes en los diferentes estudios. Este estudio sugiere que la composición fúngica de la película celulósica utilizada para inocular los tés está durante la fermentación, en función del sustrato y de los cambios físicos y químicos del medio. Además, parece que la elección del sustrato del té tiene un efecto creciente sobre la diversidad alfa fúngica del Kombucha a medida que aumenta el tiempo de fermentación, mientras que la diferencia en la diversidad de la comunidad fúngica entre la Kombucha y la biopelícula o celulosa disminuye (Gaggia *et al.*, 2018).

Las diferentes concentraciones detectadas pueden estar correlacionadas con la abundancia de cepas productoras de ácido. Las mayores concentraciones de ácido acético se encontraron en la Kombucha realizado con el sustrato de Té negro. Con respecto a la actividad antioxidante y las catequinas, se afirma que los compuestos de catequina son degradados por actividad bacteriana y de levaduras en moléculas más simples, aumentando así el poder antioxidante. Este aspecto es extremadamente importante en una bebida fermentada, ya que las moléculas antioxidantes de los tés y extractos de plantas tienen una acción barredora de radicales libres, por lo que posiblemente protejan contra el daño oxidativo. De hecho, varios estudios ya han

investigado las actividades biológicas del Kombucha preparado a partir de sustratos tradicionales en modelos celulares *in vitro* y en modelos animales (Gaggia *et al.*, 2018).

Los beneficios para la salud de la Kombucha se atribuyen predominantemente a sus compuestos bioactivos que tienen efectos antioxidantes, antimicrobianos, probióticos y otros efectos positivos debidos a la fermentación. Muchos factores, como el tipo de sustrato utilizado, el cultivo simbiótico de la composición de levadura bacteriana y las condiciones de fermentación, influyen en el alcance de estas propiedades (Esatbeyoglu, 2023).

Entre los posibles mecanismos del impacto de los alimentos fermentados sobre la salud se encuentran el posible efecto probiótico de los microorganismos que los componen, la producción de péptidos bioactivos y aminos biógenas derivada de la fermentación, y la conversión de compuestos fenólicos en compuestos biológicamente activos, así como la reducción de antinutrientes (Dimidi *et al.*, 2019).

Greenwalt *et al.* (1998) abordaron que la eficacia antimicrobiana del Kombucha preparado tanto a partir de té negro como del té verde se debía a la presencia de ácido acético acético, considerado uno de los principales componentes antimicrobianos del Kombucha. Posteriormente, Sreeramulu *et al.* (2000) y Battikh *et al.* (2013) han demostrado que, aparte del ácido acético u otros ácidos orgánicos, otros compuestos biológicamente activos como los polifenoles, las proteínas, las bacteriocinas y las enzimas también pueden contribuir a la actividad antimicrobiana del Kombucha.

Los resultados de un estudio realizado utilizando bacterias de interés medico *S. aureus* (bacteria Gram positiva) y *E. coli* (Gram negativa) fueron los organismos más susceptibles a la actividad antimicrobiana de los preparados de bebida de Kombucha. Estos datos son muy importantes, porque ambas especies bacterianas son

microorganismos enteropatógenos y siguen siendo el problema de salud pública más prevalente e importante en los países en desarrollo; además, son los patógenos más comunes que causan infecciones asociadas a la atención sanitaria y bacteriemia, y el tratamiento de sus infecciones es cada vez más difícil debido a la resistencia antimicrobiana emergente (Al-Mohammadi *et al.*, 2021).

En otro estudio también, encontraron poca diferencia en la susceptibilidad de las bacterias entéricas Gram negativas y Gram positivas hacia el Kombucha de 14 días, sus extractos solventes y la fracción polifenólica. Además, aparte de ser agentes antimicrobianos, los polifenoles también poseen propiedades antivirulentas contra la patogénesis de diferentes microorganismos. Esto puede prestar el camino para investigar si el Kombucha puede actuar como agente antivirulento, inhibiendo la producción de diferentes factores de virulencia en bacterias entéricas (Bhattacharya *et al.*, 2016).

Un estudio realizado en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE ubicado en Ecuador demostró que, la Kombucha fermentada con base del té verde tiene más efecto antimicrobiano que la Kombucha fermentada a base de té negro. Obteniendo como resultado que el efecto que tiene sobre la bacteria *E. coli* tiene mayor susceptibilidad antimicrobiana debido al efecto inhibitorio que contiene este dicho probiótico (Romero, 2022).

En la Universidad Tecnológica Federal de Paraná se han encontrado estudios sobre el poder antimicrobiano que contiene la Kombucha, donde en dicho estudio se realizaron comparaciones a diferentes concentraciones para conocer la capacidad antimicrobiana que contiene el té fermentado. Se inoculó el té en cepas de la bacteria Gram negativa *Escherichia coli* demostrando su efecto antimicrobiano. Estos resultados concluyeron que la actividad antimicrobiana de la Kombucha es eficiente en concentraciones elevadas (Souza, 2022).

En Venezuela, no se han encontrado investigaciones que estudien la importancia reciente que se ha atribuido a los alimentos fermentados, probióticos y orgánicos, y su potencial actividad antimicrobiana, en el caso del té Kombucha, se propone realizar esta investigación a fin de demostrar la actividad antimicrobiana de fermentados de Kombucha en *Escherichia coli* uropatógena.

JUSTIFICACIÓN

El consumo del Kombucha se ha asociado con algunos efectos benéficos para la salud, entre ellos refuerza el sistema digestivo y debido a sus componentes ayuda a equilibrar y regular la flora gastrointestinal. Estos efectos benéficos han sido atribuidos a la presencia de compuestos bioactivos en la Kombucha, los cuales actúan sinérgicamente. Las bacterias contenidas en esta bebida pertenecen a los géneros *Acetobacter* y *Gluconobacter*; a su vez, las levaduras del género *Saccharomyces* contribuyen, junto con el ácido glucurónico, a la protección de la salud (Leal *et al.*, 2018).

La resistencia a los antibióticos es uno de los problemas de salud más urgentes en el mundo. La resistencia de las bacterias hacia un medicamento se debe a cambios en la pared bacteriana o en su código genético. Las bacterias que pueden sobrevivir a un tratamiento con antibióticos pueden multiplicarse y algunas bacterias pueden transmitir sus propiedades de resistencia a los medicamentos a otras bacterias. El uso excesivo de antibióticos, especialmente la toma de antibióticos cuando no es el tratamiento correcto, fomenta la resistencia frente a los antibióticos. El consumo de Kombucha disminuye el consumo de medicamentos antibióticos para tratar los problemas intestinales, y al disminuir el consumo de antibióticos contribuye a que disminuya la resistencia bacteriana (Pruthi *et al.*, 2022).

Se realizó este estudio, para demostrar la actividad antimicrobiana de la Kombucha de té verde y té negro frente a *Escherichia coli* uropatógena, y sentar bases para futuros estudios que permitan dilucidar los mecanismos antimicrobianos que pudiesen estar presentes, y a futuro ser una alternativa terapéutica válida frente a patógenos infecciosos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Demostrar la actividad antimicrobiana in vitro de fermentados de Kombucha sobre *Escherichia coli* uropatógena.

Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente los fermentados en estudio según sustrato.
- Comparar variaciones de las características físicoquímicas según actividad antimicrobiana.
- Determinar el efecto antimicrobiano de kombucha a diferentes concentraciones.
- Determinar el efecto antimicrobiano de kombucha a diferentes concentraciones según sustrato.

METODOLOGIA

Tipo de estudio

Se llevó a cabo un estudio experimental de tipo multifactorial.

Fase A. Preparación del té Kombucha

Materiales:

- Hojas de té negro
- Hojas de té verde
- Azúcar
- Hongo madre (SCOBY) de una Kombucha ya antes preparada
- Envases de vidrio
- Tela
- Ligas
- Papel tornasol medidor de pH
- Refractómetro

Así como en otros alimentos fermentados, inicialmente para realizar el preparado de este té debemos tener un hongo madre (SCOBY) de una Kombucha ya antes preparada. Las instrucciones que están a continuación son las aconsejadas para obtener la menor posibilidad de que se contamine el té Kombucha (Stevens, 1996).

Teniendo todo lo necesario para la preparación del té Kombucha, realizamos lo siguiente:

Sustrato: té negro

1. Se hirvieron 2 litros de agua en una olla esmaltada de acero inoxidable.
2. Después que hirvió durante cinco minutos, se procedió a añadir 100 gramos azúcar blanco y se dejó hervir 2 o 3 minutos más.
3. Se retiró la olla del fuego y se introdujo 20 gramos de hojas de té negro.
4. Se dejó que el té repose en el agua entre 15 y 20 minutos.
5. Transcurrido ese tiempo, se separó el té hecho de las hojas con un colador y se dejó que el líquido se enfriara. Cuando alcanzó una temperatura cercana a la del medio ambiente se traspasó al recipiente donde se va a fermentar.
6. Se añadió un vaso de té ya fermentado al recipiente donde se tiene el té que se va a fermentar.
7. Se colocó con cuidado el SCOBY sobre la superficie del líquido, con la parte más fina hacia arriba y la más rugosa y oscura hacia abajo. Este no importa si se hunde.
8. Se colocó la tela sobre la boca del recipiente de fermentación y luego se sujetó firmemente con una liga elástica.
9. Situamos el recipiente en un sitio tranquilo, de temperatura estable, donde no reciba luz solar directamente y se dejó reposar 14 días.
10. En 14 días se cosechó el té. En lo que quitamos la tela veremos que en la superficie se encuentra otra capa de celulosa (SCOBY).
11. Dentro de estos 14 días se va a medir el pH con papel tornasol cada 48 horas.

Sustrato: té verde

1. Se hirvieron 2 litros de agua en una olla esmaltada de acero inoxidable.
2. Después que hirvió durante cinco minutos, se procedió a añadir 100 gramos azúcar blanco y se dejó hervir 2 o 3 minutos más.
3. Se retiró la olla del fuego y se introdujo 20 gramos de hojas de té verde.

4. Se dejó que el té repose en el agua entre 15 y 20 minutos.
5. Transcurrido ese tiempo, se separó el té hecho de las hojas con un colador y se dejó que el líquido se enfriara. Cuando alcanzó una temperatura cercana a la del medio ambiente se traspasó al recipiente donde se va a fermentar.
6. Se añadió un vaso de té ya fermentado al recipiente donde se tiene el té que se va a fermentar.
7. Se colocó con cuidado el SCOBY sobre la superficie del líquido, con la parte más fina hacia arriba y la más rugosa y oscura hacia abajo. Este no importa si se hunde.
8. Se colocó la tela sobre la boca del recipiente de fermentación y luego se sujetó firmemente con una liga elástica.
9. Situamos el recipiente en un sitio tranquilo, de temperatura estable, donde no reciba luz solar directamente y se dejó reposar 14 días.
10. En 14 días se cosechó el té. En lo que quitamos la tela veremos que en la superficie se encuentra otra capa de celulosa (SCOBY).
11. Dentro de estos 14 días se midió el pH con papel tornasol cada 48 horas.

Fase B. Medir pH y realizar diferentes concentraciones

Al finalizar la fermentación del té Kombucha (Té verde- Té negro) se les realizó una prueba con papel tornasol para medir la acidez del producto final. Se medirán las concentraciones de las soluciones madres mediante su absorbancia a través de un espectrofotómetro.

Al fermentado finalizado del té de Kombucha se les realizó una medición de grados Brix mediante un refractómetro (instrumento óptico que nos da a conocer la lectura de los grados Brix). El índice refractométrico, sólidos solubles totales (SST) o grados Brix (°Bx) hace referencia al contenido de sacarosa (azúcar) que está presente

en una disolución y que puede ser determinado de manera práctica y rápida (Barbagelata *et al.*, 2019).

Junto con otros parámetros fisicoquímicos, los grados Brix permiten un adecuado seguimiento de las transformaciones físico-químicas de síntesis, degradación o fermentación; las cuales están directamente relacionadas con el grado de madurez durante y después de la cosecha, dando como resultado interacciones anatómicas, fisiológicas y bioquímicas (Barbagelata *et al.*, 2019).

La escala de los grados Brix se encuentra relacionado con el índice de refracción. Este índice es el resultado de la cuantificación del fenómeno físico de refracción de la luz (desviación de un haz de luz) al pasar por dos medios de distintas concentraciones de solutos. Es por esto que un refractómetro también permite medir indirectamente la densidad de las disoluciones (Barbagelata *et al.*, 2019).

A partir de las soluciones madres, se realizarán diluciones 1:1, 1:10 y 1:20 con la finalidad de obtener diferentes concentraciones de la misma. Estas se van a rotular y seleccionar para ser utilizados en la preparación de la inoculación sobre agar Müller-Hinton con el té de Kombucha. Las absorbancias de las diferentes diluciones se estarán midiendo igualmente con el espectrofotómetro.

Fase C. Siembra de Kombucha Té negro y Té verde

Materiales:

- Placas de Petri
- Preparado de kombucha.
- Agar Sangre, Agar levine y Agar Sabouraud

- Agua destilada

Agar Sangre

Este medio no selectivo compuesto por un agar base que contiene una fuente proteica al cual se le agrega de 5% a 8% de sangre ovina, pero también puede ser sangre humana o de caballo, permite el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, es importante considerar que algunas bacterias varían el tipo de hemolisis de acuerdo con la naturaleza de la sangre, lo cual permite verificar la capacidad hemolítica y lo hace un medio diferencial. Las hemólisis que se pueden evidenciar en este medio son: beta, alfa y gamma (Corrales *et al.*, 2021).

Preparación Agar sangre:

1. Suspender 3,8 gramos del polvo en 95 mililitros de agua purificada.
2. Dejar reposar 5 minutos y mezclar perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea.
3. Calentar con agitación frecuente y hervir hasta punto de ebullición para disolución total.
4. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 20 minutos.
5. Agregar 5% (5 mL) de sangre que provenga de banco de sangre ya analizada y en condiciones óptimas para ser usada al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50°C.
6. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.
7. Se espera a que solidifique los agares.

Agar Levine

Este medio de cultivo tiene como inhibidores los colorantes eosina y azul de metileno; como hidratos de carbono, lactosa y sacarosa y como indicador eosina y azul de metileno. Permite la diferenciación de colonias de organismos fermentadores de lactosa y aquellos que no la fermentan; el contenido de eosina y azul de metileno inhiben el desarrollo de microorganismos Gram positivos y de bacterias Gram negativas exigentes (Corrales *et al.*, 2021).

La presencia de sacarosa permite, para algunos miembros del grupo coliforme, fermentarla con más facilidad que la lactosa. Las colonias lactosa positiva presentan un color azul o moradas con brillo metálico o poseen centros oscuros con periferias transparentes incoloras y las que son negativas se observan incoloras o rosa pálido transparentes. La fórmula original de este medio de cultivo fue modificada por Levine, quien eliminó la sacarosa e incrementó la concentración de lactosa, logrando así una mejor diferenciación de cepas de *Escherichia coli* (Corrales *et al.*, 2021).

Preparación Agar Levine:

1. Suspender 3,74 gramos del polvo en 100 mililitros de agua purificada.
2. Dejar reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y llevar a ebullición hasta disolución total.
3. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
4. Enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

Agar Sabouraud

1. Suspender 6,5 gramos del polvo en 100 mililitros de agua purificada.

2. Dejar reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y llevar a ebullición hasta disolución total.
3. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
4. Enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

Al culminar la preparación de los agares, se sembró con un asa calibrada de 10 λ por método de agotamiento que consiste en arrastrar la preparación de Kombucha y este permite aislar las bacterias que están contenidas en el. Se lleva a la estufa dentro de un sistema GAS-PAK para obtener un ambiente con microaerofilia a 35°C durante 24-48 horas para ver el crecimiento bacteriano.

Fase D. Método para evaluar efecto antimicrobiano

Dilución directa sobre el agar

Para realizar el estudio de antibiograma existen varios métodos, para esta investigación, se desarrolló el método en difusión en agar, también conocido como método Kirby-Bauer, este es un estudio de susceptibilidad por difusión en disco, un procedimiento cualitativo utilizado por diversos laboratorios clínicos en la actualidad. Consiste en depositar el microorganismo, en una superficie de agar Müller-Hinton. (Picazo, 2003).

Para efectos del antibiograma, se utilizó específicamente el medio de cultivo Agar Müller-Hinton, el cual posee una baja concentración de iones divalentes. Es recomendado para este tipo de estudios porque en él se reproducen la mayor parte de las bacterias patógenas (Picazo, 2003).

Materiales:

- Agar Müeller Hinton
- Cepa de *Escherichia coli*
- Asa calibrada
- Placas de petri
- Solución madre de Kombucha y sus diluciones
- Agua destilada

- 1- Preparar el agar Müeller Hinton: se disuelven 7,6 gramos del medio en 200 ml de agua destilada, se agita hasta que se disuelva mientras se calienta hasta el punto de ebullición.
- 2- Se lleva al autoclave a 121°C durante 15 minutos
- 3- Al salir el preparado, se deja enfriar hasta que llegue a una temperatura de 51°C.
- 4- Se inocula en 30 placas una dilución de *E. coli* de 0.5 de McFarland.
- 5- Utilizando un asa calibrada, se toman 10 λ de cada dilución de kombucha. Se realizó 15 placas para Kombucha té negro y 15 placas para Kombucha té verde.
- 6- Por cada dilución realizada se siembra en 5 placas Müeller Hinton.
- 7- Se lleva a la estufa a 35°C durante 24-48 horas y se observa la actividad.

RESULTADOS

Con fines experimentales, se procedió a realizar el estudio de la actividad antimicrobiana de fermentados a base Kombucha de Té frente a cepas de *Escherichia coli*, aisladas de muestras urinarias. A continuación, se detallan los resultados por fase:

Obtención de fermentados de Kombucha (Té verde- Té negro)

Se elaboraron infusiones de té verde y té negro para proceder a su fermentación y lograr el té kombucha. Los té se guardaron en envase de vidrio, cubierto con tela sujetados por una liga, se almacenaron a temperatura ambiente, resguardados de la luz solar directa, y se esperó 14 días, midiendo el pH cada 48 horas.

Medición de pH de té Kombucha (Té verde- Té negro)

Té verde: después de haber fermentado el té kombucha por 14 días, fue medido su pH con papel tornasol dando resultado 3 (ácido). *Té negro:* medido con papel tornasol, el pH de este sustrato dio resultado 4 (ácido).

Sustrato	0 días	2 días	4 días	6 días	8 días	10 días	12 días	14 días
Té Negro	6.5	4.5	4.23	4.00	4.0	4.0	4.0	4.0
Té Verde	6.5	4.5	3.20	3.10	3.0	3.0	3.0	3.0

Medición grados Brix de té Kombucha

Se midieron los grados Brix con el fin de poder conocer los grados alcohólicos de dichos fermentados. Al finalizar los 14 días de fermentación, se pudo determinar que los grados alcohólicos de la kombucha tanto de té negro como de té verde oscilaban entre 2.7 y 3.0.

Sustrato	10 días	12 días	14 días	°OH
Té Negro	4.5	4.5	4.5	2.71
Té Verde	4.2	5.0	5.0	3.01

Siembra de té Kombucha en Agares: Sangre, Levine y Sabouraud.

Los té se sembraron en 2 placas de vidrio respectivamente en cada medio: Agar sangre, Levine y Sabouraud. Se esperó 24h y 48h para ver el resultado.

Té verde: no hubo crecimiento bacteriano ni fúngico a las 24 y 48 horas.

Té negro: hubo crecimiento fúngico en Agar Sabouraud a las 24 y 48 horas, crecimiento mínimo en Agar Sangre de levaduras. En Agar Levine no hubo crecimiento.

Preparación de las distintas diluciones a partir de la solución madre

Se prepararon 3 diferentes diluciones: Dilución 1:1 (Solución madre), Dilución 1:10 y Dilución 1:20

Medición de concentraciones

Ambos tés fueron medidos a 610 nm de longitud de onda, dando una absorbancia de 0,798 para el té verde y 1,685 para el té negro.

Conocimos así la concentración de los extractos por la fórmula para calcular concentración:

$$C = \frac{\text{Masa}}{\text{volumen}} = \frac{20g}{1000ml} \cong 2000\text{mg/dl.}$$

Pudiendo calcular así el factor de calibración por la fórmula $FC = \frac{\text{Concentración}}{\text{Absorbancia}}$.

Té verde:

$$FC = \frac{2000\text{mg/dl}}{0,798} = 2.506,27$$

Té negro:

$$FC = \frac{2000\text{mg/dl}}{1,865} = 1.186,94$$

Luego fue medida la absorbancia de cada una de las

diluciones, haciendo lecturas repetidas para obtener un valor mínimo de lectura.

Té verde:

FACTOR DE CALIBRACIÓN		2.506,27	
MUESTRAS	ABSORBANCIAS	CONCENTRACIÓN	UNIDADES
1:1 (PURO)	0.798	2000	mg/dL
1:10 DIL	0.410	1027	mg/dL
1:20 DIL	0.160	401	mg/dL

Té negro:

FACTOR DE CALIBRACIÓN		1.186,94	
MUESTRAS	ABSORBANCIAS	CONCENTRACIÓN	UNIDADES
1:1 (PURO)	1.685	2000	mg/dL
1:10 DIL	0.807	958	mg/dL
1:20 DIL	0.521	618	mg/dL

Extracto acuoso de Té Kombucha directo sobre el agar con el asa calibrada.

Se sembró en 30 placas pequeñas de Mueller Hinton una cepa de *Escherichia coli* uropatógena, estas mismas se distribuyeron 15 placas para el té negro y el té verde respectivamente. Cada dilución de los preparados tuvo 5 placas para inocular 10 lambdas con el asa calibrada. Se esperó de 24 a 48 horas para ver si ocurría inhibición. Se determinó que el punto de partida es de 5mm de la inoculación.

Té verde: a las 24 horas no hubo un crecimiento considerable del halo inhibición en ninguna de las diluciones; en cambio a las 48 horas se observaron en las 5 placas de la concentración 1:1 un halo diferencial dando un promedio de 10,6 mm. En las diluciones 1:10 y 1:20 no se observaron ningún halo de inhibición.

Te negro: a las 24 horas se observó en la dilución 1:1 halos de inhibición en las 5 placas dando un promedio de 11,2 mm. En 2 discos de dilución 1:10 también se observaron halos significativos dando un promedio de 7 mm. En la dilución 1:20 no se observó en ninguna de las placas un halo de inhibición.

A las 48 horas de incubación se pudo notar en la dilución 1:1 los halos de inhibición en las 5 placas dando como resultado un promedio de 11,6 mm adquiriendo una

diferencia de 0,4 en comparación con la incubación a las 24 horas. Los halos de inhibición de las diluciones 1:10 y 1:20 permanecieron constantes.

Dil	Té verde		Té negro	
	24 horas (mm)	48 horas (mm)	24 horas (mm)	48 horas (mm)
1:1	5	10	13	13
	5	11	10	11
	5	11	11	11
	5	11	12	12
	5	10	10	11
Promedio	5	10.6	11.2	11.6
1:10	5	5	10	10
	5	5	10	10
	5	5	5	5
	5	5	5	5
	5	5	5	5
Promedio	5	5	7	7
1:20	5	5	5	5
	5	5	5	5
	5	5	5	5
	5	5	5	5
	5	5	5	5
Promedio	5	5	5	5

DISCUSIÓN

Los beneficios para la salud de la kombucha se atribuyen predominantemente a sus compuestos bioactivos que tienen efectos antioxidantes, antimicrobianos, probióticos y otros efectos positivos debidos a la fermentación. Muchos factores, como el tipo de sustrato utilizado, el cultivo simbiótico de la composición de levadura bacteriana y las condiciones de fermentación, influyen en el alcance de estas propiedades (Esatbeyoglu, 2023).

En esta investigación se ensayó preparados de kombucha con dos sustratos distintos de té verde y de té negro. Se observó que, en promedio el pH del fermentado de kombucha de té verde después de 14 días fue de 3 unidades de pH (ácido) y el de té negro obtuvo 4 unidades de pH (ácido).

Existen diferentes rangos de pH que puede llegar a tener la kombucha durante la fermentación, ya que este va disminuyendo gradualmente hasta que en algún punto disminuye abruptamente dado el pico de crecimiento microbiano al que llegan las bacterias y levaduras presentes en el preparado. Inicialmente tenemos un pH de 5,3 el cual va disminuyendo de a poco a 4,3 y antes completar la semana a 3,6, luego al iniciar la segunda semana puede bajar rápidamente hasta llegar a 2,5. Según varios estudios, ese es el límite máximo hasta dónde puede disminuir, ya que luego de un máximo de 30 días o 6 semanas sigue observándose ese nivel (2,5) aun cuando la producción de ácidos orgánicos siga en aumento. Por lo tanto, dependiendo del tiempo de fermentación podemos obtener valores distintos, por el cual el pH óptimo de consumo puede obtenerse en un máximo 7 o 10 días de fermentación (Amarasinghe, *et al*, 2018).

El pH inicial fue 6.5 en ambos casos, luego de los 14 días de incubación, el té verde 3 y té negro 4, esta variación de pH se debe según Bergström en su estudio en 2018, a la presencia de levaduras que llevan a cabo la hidrólisis de la sacarosa en glucosa y fructosa mediante la enzima invertasa. Posteriormente, ambos monosacáridos pueden ser utilizados como sustratos en la glucólisis produciendo piruvato, el cual durante la fermentación alcohólica es convertido a acetaldehído y luego a etanol por la enzima alcohol deshidrogenasa. Este proceso libera moléculas de CO₂ que se acumulan en el medio. Otra parte de estos monosacáridos es utilizada para la producción de ácidos orgánicos y la biosíntesis de celulosa. La producción de ácidos disminuye el pH del medio permitiendo el crecimiento de las bacterias acidotolerantes, estas son capaces de transformar fructosa y etanol en ácido acético mediante la oxidación del etanol durante la fermentación acética en presencia de O₂.

Un pH bajo impide el desarrollo de organismos nocivos y de moho. La mayoría de los patógenos no sobreviven en un entorno de pH bajo. El pH inicial de kombucha debe ser igual o inferior a 4,5. El valor del pH desciende de forma más notable en los primeros días. Debería estar por debajo de 4 para que se considere seguro su consumo (Prieto, 2022).

Los preparados de kombucha se sembraron directamente a fin de verificar la inocuidad. En el té verde no hubo crecimiento bacteriano ni fúngico a las 24 y 48 horas, debido a su pH tan ácido de 3 que inhibe el crecimiento microbiano, en cambio en la de té negro se observó crecimiento fúngico en Agar Sabouraud a las 24 y 48 horas de levaduras de la familia Saccharomycetacea, crecimiento mínimo en Agar Sangre de levaduras. En Agar Levine no hubo crecimiento. Suarez y otros autores en su estudio en 2016, describen que la mayoría de las levaduras toleran un rango de pH entre 3 y 10, pero les resulta favorable un medio ligeramente ácido con un pH entre 4,5 a 6,5.

Con respecto a la actividad antimicrobiana se obtuvo que en el té verde no hubo inhibición significativa del crecimiento de la cepa bacteriana *E. coli* sin embargo al observar el crecimiento del ensayo en el té verde a las 24 horas no hubo un crecimiento considerable del halo de inhibición en ninguna de las diluciones; en cambio a las 48 horas se observaron en las 5 placas de la concentración 1:1 un halo diferencial dando un promedio de 10,6 mm. En las posteriores diluciones no se observó inhibición. Mientras que con el té negro a las 24 horas se observó en la dilución 1:1 halos de inhibición en las 5 placas dando un promedio de 11,2 mm. En 2 discos de dilución 1:10 se observaron halos dando un promedio de 7 mm. En la dilución 1:20 no se observó en ninguna de las placas un halo de inhibición. A las 48 horas de incubación se pudo detallar que en la dilución 1:1 presento halos de inhibición en las 5 placas dando como resultado un promedio de 11,6 mm adquiriendo una diferencia de 0,4 en comparación con la incubación a las 24 horas. Los halos de inhibición de las diluciones 1:10 y 1:20 permanecieron constantes.

Resultados que difieren de los obtenidos en Tailandia en 2019, Tragoalpua y colaboradores donde *Escherichia coli* fue inhibida por la kombucha y la kombucha desnaturalizada por calor, con un diámetro de las zonas de inhibición que osciló entre $15,0 \pm 0,0$ - $25,0 \pm 0,0$ mm.

El tamaño de la zona de inhibición está influenciado por la difusión del agente antimicrobiano a través del agar y varía según el antimicrobiano en cuestión. El tamaño de la zona, sin embargo, es inversamente proporcional a la CIM (Concentración Inhibitoria Mínima). Cada antibiótico tiene su halo de inhibición específico y éste depende del tamaño de la molécula del antibiótico y su polaridad; de esta manera, un antibiótico con un peso molecular bajo como la penicilina, tendrá mucha capacidad para migrar, por lo tanto, su halo, en el caso de una cepa sensible tendrá un diámetro muy amplio. (CLSI, 2012).

Ahora, bien, cuando se estudian sustancias naturales o en general, preparados que están conformados por diferentes sustancias, resulta difícil, establecer un rango de inhibición que discrimine la susceptibilidad de la resistencia, pero la medición de estos halos permite establecer el efecto antimicrobiano, independientemente de la intensidad de este. Se requieren luego estudios de los diferentes componentes de los preparados, en este caso de la Kombucha a base de té negro, para determinar cuál de ellos es el de efecto antimicrobiana, para luego estandarizar los halos de inhibición y su correspondencia con antibióticos de referencia.

Al verificar la actividad antimicrobiana de la Kombucha de té negro, se establece un futuro campo de investigación que permita elucidar los diferentes mecanismos biológicos que se establecen y las posibilidades terapéuticas que puedan dársele, más allá del uso recreativo y culinario.

CONCLUSIONES

- Se observó que en promedio el pH del fermentado de kombucha de té verde después de 14 días fue de 3 unidades de pH (ácido) y el de té negro obtuvo 4 unidades de pH (ácido).
- Se determinó que los grados alcohólicos de la kombucha tanto de té negro como de té verde oscilaban entre 2.7 y 3.0.
- Se observó que en la siembra en los medios Agar Sangre, Agar Sabouraud y Agar Levine en el té verde no hubo crecimiento bacteriano ni fúngico a las 24 y 48 horas. En el té negro hubo crecimiento fúngico de levaduras de la familia *Saccharomycetacea* en Agar Sabouraud a las 24 y 48 horas, crecimiento mínimo en Agar Sangre de levaduras. En Agar Levine no hubo crecimiento.
- En el té verde a las 24 horas no hubo un crecimiento considerable del halo de inhibición en ninguna de las diluciones.
- En el té negro a las 24 y 48 horas se observó en la dilución 1:1 halos de inhibición en las 5 placas dando un promedio de 11,2 mm. En 2 discos de dilución 1:10 se observaron halos dando un promedio de 7 mm. En la dilución 1:20 no se observó en ninguna de las placas un halo de inhibición.

RECOMENDACIONES

- En cuanto a estudios posteriores, cambiar el sustrato de estudio y utilizar concentraciones mayores.
- Realizar más estudios fisicoquímicos para determinar los principios activos de la Kombucha.
- Realizar pruebas toxicológicas considerar los efectos tóxicos que pueda tener con un uso excesivo.
- Hacer determinaciones químicas para saber cuál es el componente que le aporta la actividad antimicrobiana.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abaci, N., Senol Deniz, F.S., Orhan, I.E. 2022. Kombucha: una antigua bebida fermentada con bioactividades deseadas: una revisión limitada. *Food Chemist: X [Serie en línea]* **14** (1). Disponible: <https://www.sciencedirect.com/journal/food-chemistry-x> [marzo, 2023].
- Al-Mohammadi, A. R., Ismaiel, A. A., Ibrahim, R. A., Moustafa, A. H., Abou Zeid, A., Enan, G. 2021. Constitución Química y Actividad Antimicrobiana de la Bebida Fermentada de Kombucha. *Collection Bioactive Compounds: Molecules [Serie en línea]* **26** (16). Disponible: <https://doi.org/10.3390/molecules26165026> [marzo, 2023].
- Amarasinghe, H., Weerakkody, N., Waisundara, V. 2018. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha "Tea Fungus" during extended periods of fermentation. *Rev Food Sci Nutr. [Serie en línea]* 6 (3): 659 - 665. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5980301/> [agosto, 2023].
- Antolak, H., Piechota, D., Kucharska, A. 2021. Té de Kombucha: un doble poder de compuestos bioactivos del té y cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY). *Antioxidants [Serie en línea]* **10** (10). Disponible: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/10/1541> [marzo, 2023].

- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., Ammar, E. 2013. Actividades antibacterianas y antifúngicas de los tés negro y verde de Kombucha. *J Food Biochem* [Serie en línea] 27 (1):231–236. Disponible:<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x> [marzo, 2023].
- Barbagelata, R., Fuentes, V., Baschini, M. 2019. Grados Brix (índice refractométrico): Concepto Físicoquímico Aplicado a la Resolución de un Problema Agronómico. *Rev INDUSTRIA & QUÍMICA*. [Serie en línea] 11 (1). Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Veronica-Martinez-9/publication/359621943_Produccion_de_Hidrogeno_Biologico_para_Celdas_de_Combustible_Tipo_PEM/links/6245a8d15e2f8c7a034cbcbf/Produccion-de-Hidrogeno-Biologico-para-Celdas-de-Combustible-Tipo-PEM.pdf#page=13 [agosto, 2023].
- Bergström, H. 2018. El efecto de la bebida de té fermentado kombucha en la microflora intestinal. Trabajo de Grado. Laboratorio biotechnology and food. Universidad de Lund. pp 31 (Multígrafo).
- Bhattacharya, D., Bhattacharya, S., Patra, M. M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., Koley, H., Gachhui, R. 2016. Actividad Antibacteriana de la Fracción Polifenólica de Kombucha Contra Patógenos Bacterianos Entéricos. *Current microbiology* [Serie en línea] 73 (6): 885–896. Disponible: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-016-1136-3> [marzo, 2023].

- Cardoso, R. R., Neto, R. O., dos Santos D'Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D. L., Cameron, C., Ferreira, M. S. L., de Barros, F. A. R. 2020. La kombucha del té verde y negro tienen un perfil fenólico diferente, lo que impacta en sus capacidades antioxidantes, actividades antibacterianas y antiproliferativas. *Food Research International* [Serie en línea] **128** (1). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919306684?via%3Dihub> [marzo, 2023].
- Caycedo Lozano, L., Corrales, L., Trujillo, D. 2021. Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova* [Serie en línea]. **19** (36): 49-94. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702021000100049&lng=en. [junio, 2023].
- Chen, C., Liu, B. Y. 2000. Cambios en los principales componentes de los metabolitos del hongo del té durante la fermentación prolongada. *Journal of Applied Microbiology* [Serie en línea] **89** (5): 834–839. Disponible en: <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/89/5/834/6724042?redirectedFrom=fulltext> [marzo, 2023].
- Costa, M.A.C., Vilela, D.L.S., Fraiz, G.M., Lopes, I.L., Coelho, A.I.M., Castro, L.C.V., Martin, J.G.P. 2021. Efecto de la ingesta de kombucha sobre la microbiota intestinal y las comorbilidades relacionadas con la obesidad: una revisión sistemática. *Crit Rev Food Sci Nutr.* [Serie en línea] **1** (1):1-16. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34698580/> [marzo, 2023].

- De Miranda, J.F., Ruiz, L.F., Silva, C.B., Uekane, T.M., Silva, K.A., González, A.G.M., Fernandes, F.F., Lima, A.R. 2022. Kombucha: Una revisión de sustratos, regulaciones, composición y propiedades biológicas. *J Food Sci* [Serie en línea] **87** (2): 503-527. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35029317/> [marzo, 2023].
- Dimidi, E., Cox, S. R., Rossi, M., & Whelan, K. 2019. Alimentos Fermentados: Definiciones y Características, Impacto en la Microbiota Intestinal y Efectos en la Salud y Enfermedades Gastrointestinales. *Nutrients* [Serie en línea] **11** (8): 1806. Disponible: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/8/1806> [marzo, 2023].
- Dufresne, C., Farnworth, E. 2000. Té, Kombucha y salud: una revisión. *Food Res. Int* [Serie en línea] **33** (6): 409–421. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996900000673> [marzo, 2023].
- Dutta, H., Paul, S. K. 2019. Bebida de Kombucha: Aspectos de producción, calidad y seguridad. In *Production and Management of Beverages*. [Serie en línea] **1** (1): 259-288. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128152607000080?via%3Dihub> [marzo, 2023].
- Esatbeyoglu, T., Sarikaya Aydin, S., Gültekin Subasi, B., Erskine, E., Gök, R., Ibrahim, S. A., Yilmaz, B., Özogul, F., Capanoglu, E. 2023. Avances adicionales relacionados con los beneficios para la

salud asociados con el consumo de kombucha. *Critical reviews in food science and nutrition*. [Serie en línea] **1** (1): 1–18. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2022.2163373> [marzo, 2023].

Gaggia, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D., Jakobsen, R., Castro-Mejía, J., Di Gioia, D. 2018. Bebida de kombucha de té verde, negro y rooibos: un estudio comparativo que analiza la microbiología, la química y la actividad antioxidante. *Nutrientes* [Serie en línea] **11** (1): 1. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30577416/> [marzo, 2023].

González-Téllez S.V., Vázquez Olivares, D.A., Espinosa-Raya, J.B., Gómez-Pliego R.A. 2019. Estudio Comparativo de la microbiota aislada del Hongo Kombucha y su uso en la elaboración de alimentos fermentados para Síndrome metabólico. *FCB UANL Mex* [Serie en línea] **4** (1): 2-33. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/2/33.pdf> [marzo, 2023].

Greenwalt, C.J., Ledford, R.A., Steinkraus, K.H. 1998. Determinación y caracterización de la actividad antimicrobiana del té fermentado de Kombucha. *Food Sci Technol-LEB* [Serie en línea] **31** (3): 291–296. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643897903546> [marzo, 2023].

- Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H., Ledford, R. A. 2000. Kombucha, el té fermentado: microbiología, composición y efectos declarados sobre la salud. *Journal of Food Protection* [Serie en línea] **63** (7): 976–981. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10914673/> [marzo, 2023].
- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., Hassan, E. 2012. Información sobre la bioquímica de la fermentación de los tés de Kombucha y los posibles impactos de beber Kombucha en la digestión del almidón. *Food Research International* [Serie en línea] **49** (1): 226–232. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996912003274?via%3Dihub> [marzo, 2023].
- Marco, M.L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C.J., Cotter, P.D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E.J., Hutkins, R. 2017. Beneficios para la salud de los alimentos fermentados: Microbiota y más allá. *Curr. Opin. Biotechnol* [Serie en línea] **44** (1): 94–102. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27998788/> [marzo, 2023].
- Martin del Campo, M., Gómez, H., Alaniz, R. 2008. Bacterias ácido lácticas con capacidad antagónica y actividad bacterio-cinogénica aisladas de quesos frescos. *e-Gnosis*. [Serie en línea] **6** (5): 1-17. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=73011197005> [marzo, 2023].
- Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., Escalante-Aburto, A. 2018. Una revisión de los beneficios para la salud de

los compuestos y metabolitos nutricionales de la kombucha. *CyTA - Journal of Food* [Serie en línea] **16** (1): 390-399. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2017.1410499> [marzo, 2023].

Parra, A. 2010. Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. Facultad de Ciencias Agropecuarias [Serie en línea] **8** (1): 94-105. Disponible en: <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/724> [marzo, 2023].

Pruthi, S, Mayo Clinic. 2022. Antibióticos: ¿Los estás usando de manera incorrecta? [En línea]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es/healthy-lifestyle/consumer-health/in-depth/antibiotics/art-20045720> [julio, 2023]

Rezac, S., Kok, C.R., Heermann, M., Hutkins, R. 2018. Los alimentos fermentados como fuente dietética de organismos vivos. *Front. Microbiol* [Serie en línea] **9** (1): 1785. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01785/full> [marzo, 2023].

Romero Vizcarra, A. C. 2022. Evaluación del efecto inhibitorio de kombucha en bacterias de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas* spp. Trabajo de integración curricular. Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura. Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE. pp 68. (Multígrafo).

- Santos, J. S., Deolindo, C. T. P., Hoffmann, J. F., Chaves, F. C., Do Prado-Silva, L., Sant'ana, A. S., Azevedo, L., Do Carmo M. A. V., Granato, D. 2018. Optimized *Camellia sinensis* var. *sinensis*, *Ilex paraguariensis*, and *Aspalathus linearis* blend presents high antioxidant and antiproliferative activities in a beverage model. Food Chemistry [Serie en línea] **254** (15): 348–358. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618302474?via%3Dihub> [marzo, 2023].
- Souza, A. C. 2022. Verificación antifúngica contra té de hibisco y kombucha fermentada. Trabajo de grado. Ingeniería de Alimentos. Universidad Tecnológica Federal de Paraná UTFPR. (Multígrafo).
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., Knol, W. 2000. Fermentación de Kombucha y su actividad antimicrobiana. J Agric Food Chem [Serie en línea] **48** (6): 2589–2594. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10888589/> [marzo, 2023].
- Stevens, N. 1996. Kombucha. El rey extraordinario. Editorial Sirio S.A. & Celestial Connection, Inc. Barcelona – España. 9^{na} edición. pp 55.
- Suárez, C., Garrido, A., Guevara, C. 2016. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica ICIDCA. [Serie en línea] **50** (1): 20-28. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf> [agosto, 2023].

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE FERMENTADOS DE KOMBUCHA SOBRE <i>Escherichia coli</i> UROPATÓGENA
---------------	--

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CVLAC / E MAIL
Arellano Acosta Daniela Andrea de Jesús	CVLAC: 27.596.468 E MAIL: danielandrearellano @gmail.com

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Kombucha

Té negro

Té verde

Escherichia coli

Antimicrobiano

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÀREA y/o DEPARTAMENTO	SUBÀREA y/o SERVICIO
Dpto de Bioanálisis	Bacteriología
	Micología
	Microbiología

RESUMEN (ABSTRACT):

Los consumidores de Kombucha aumentan en todo el mundo dadas las propiedades antioxidantes de los extractos de té y el efecto potencialmente beneficioso de las bacterias fermentadoras. La Kombucha preparada a partir de té negro y verde ha sido ampliamente estudiada, aunque hasta ahora no se han realizado estudios microbiológicos en profundidad sobre bacterias y levaduras que están dentro de los preparados con estos sustratos. **Objetivo:** Demostrar la actividad antimicrobiana in vitro de fermentados de Kombucha sobre *Escherichia coli* uropatógena. **Metodología:** Estudio experimental de tipo multifactorial. **Resultados:** Se obtuvo que en promedio el pH del fermentado de kombucha de té verde después de 14 días de incubación fue de pH 3 y el de té negro obtuvo pH 4. Al inocular los preparados puros de kombucha se verificó en los medios de cultivo, en la kombucha de té verde no se evidenció crecimiento bacteriano ni fúngico a las 24 y 48 horas; en la kombucha de té negro se obtuvo desarrollo fúngico (*Saccharomycetaceae*) en Agar Sabouraud a las 24 y 48 horas, y crecimiento mínimo en Agar Sangre de tipo levaduriforme, en Agar Levine no hubo crecimiento. En relación a la susceptibilidad, en los ensayos donde se empleó kombucha de té verde a las 24 horas no se evidenció halo de inhibición en ninguna de las diluciones, en los preparados a base de té negro a las 24 y 48 horas se observó en la dilución 1:1 halos de inhibición de 11,2 mm; mientras que, en la dilución 1:10 se obtuvieron halos en promedio de 7 mm, en la dilución 1:20 no se observó inhibición. **Conclusión:** La kombucha de Te negro, presentó actividad antimicrobiana sobre cepas de *Escherichia coli* uropatógeno, en concentraciones puras y 1:10, mientras que la kombucha de sustrato Te verde, no evidenció actividad antimicrobiana significativa.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
Msc. Iván Amaya	ROL	CA	AS	TU(x)	JU
	CVLAC:	12.420.648			
	E_MAIL	rapomchigo@gmail.com			
	E_MAIL				
Lcdo. Fernando Linares	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	24.850.713			
	E_MAIL	fernando.lch17@gmail.com			
	E_MAIL				
Lcdo. Ignacio Rodríguez	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	19.369.765			
	E_MAIL	ignaciojosue7@gmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				
	CVLAC:				
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2023 AÑO	10 MES	18 DÍA
--------------------	------------------	------------------

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis actividad antimicrobiana in vitro de fermentados de kombucha sobre Escherichia coli uropatógena	. MS.word

ALCANCE

ESPACIAL: Laboratorio Bacteriólogo Sócrates Medina, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar

TEMPORAL: 10 AÑOS

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Licenciatura en Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO:

Dpto. de Bioanálisis

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *Mazley*
FECHA *5/8/09* HORA *5:20*

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

Juan A. Bolaños Cunele
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Telesinformática, Coordinación General de Postgrado.
JABC/YGC/mariya

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

“Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participará al Consejo Universitario “

AUTOR(ES)

Br. ARELLANO ACOSTA DANIELA ANDREA DE JES Br.
CI. 27596468 C.I.

AUTOR

AUTOR

JURADOS

TUTOR: Prof. IVÁN AMAYA
C.I.N. 1292068

EMAIL: KABMchigo@gmail.com

JURADO Prof. FERN.
LINARES

C.I.N. 24.880.713

EMAIL: fernando.linares@gmail.com

JURADO Prof. IGNACIO
RODRÍGUEZ

C.I.N. 17364765

EMAIL: IgnacioRodriguez@gmail.com

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO
Ajuro- Edificio de Ciencias de la Salud
Teléfono: (024) 6032446

ucfa