



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE PRODUCTOS
NATURALES
“DR. ANTONIO MORALES MÉNDEZ”**



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
HOJAS Y TALLOS DE LA ESPECIE *Lippia origanoides* EN CEPAS DE
REFERENCIA INTERNACIONAL (ATCC)**

Trabajo de Grado II para optar al título de Licenciada en Bioanálisis

Tesista:

Yessica Aguilar
C.I.: V- 24.819.704

Tutor:

Dra. Janne Rojas

Cotutor:

Dr. Alexis A Buitrago

Mérida, marzo de 2021

DEDICATORIA

Pero en todas estas cosas somos más que vencedores por medio de aquel que nos amó. Romanos 8:37

Esta investigación la dedico a **Dios** por ser el pilar en mi vida y siempre demostrarme que ha estado conmigo en todo momento, desde el primer día que llegue a la ciudad de Mérida para emprender mi formación académica en la Universidad de los Andes, por guiarme y cruzar a las personas correctas.

A mi **Madre, Padre y hermana** por expresarme el amor y apoyo en cada momento de mi vida con sus consejos y palabras, impulsarme cada día a ser una mejor persona tanto en mi progreso académico como personal, por estar presentes en cada recorrido y ayudarme a cumplir un sueño, hacer posible que llegara al final de esta carrera universitaria.

A mi **nono**, por cuidarme y ayudarme con sus oraciones y estar siempre pendiente de mí, día a día.

A mis demás **familiares** gracias por el apoyo que siempre me han brindado, por sus consejos, porque a pesar de la distancia aún siguen presentes y preocupados por mi futuro.

A mi amiga **Dayana De Frenza** por su honestidad, por enseñarme a ser más fuerte y enfrentar las adversidades, por su apoyo a nivel académico mostrándome que con determinación y disciplina se pueden cumplir las metas.

A la ilustre **Universidad de Los Andes** y a todos los profesores que con su arduo trabajo han compartido sus conocimientos a lo largo de mi preparación académica, especialmente a mi Tutora **Janne Rojas**, por su dedicación y apoyo quien ha guiado con paciencia e integridad este trabajo para así lograr la culminación de esta maravillosa etapa.

Yessica Aguilar.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE TABLAS Y ESQUEMAS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
EL PROBLEMA.....	3
Planteamiento del Problema.....	3
Justificación de la Investigación	5
Objetivos de la Investigación	6
Objetivo General	6
Objetivos Específicos	6
Alcances y limitaciones de la investigación	7
CAPÍTULO II	8
MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos.....	8
Antecedentes Históricos.....	13
Bases Teóricas.....	15
Plantas Medicinales	15
Familia Verbenaceae	15
Género <i>Lippia</i>	16
Uso Medicinal del Genero <i>Lippia</i>	17
Generalidades de la especie <i>Lippia oreganoides</i>	17
Taxonomía de <i>Lippia oreganoides</i>	18
Antecedentes Fitoquímicos de la especie <i>Lippia origanoides</i>	18
Usos de la Especie <i>Lippia origanoides</i>	19
Extracto Vegetal	19
Extracción	21
Maceración.....	21
Infusión.....	22
Decocción	22
Digestión	22
Extracción con equipo Soxleth	23
Percolación	23
Antibióticos.....	23
Uso de los extractos vegetales como agentes antimicrobianos	24

Mecanismo de acción.....	25
Microorganismos patógenos	25
Tinción Gram.....	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
<i>Escherichia coli</i>	27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
<i>Enterococcus faecalis</i>	29
<i>Staphylococcus aureus</i>	30
Resistencia a penicilina.....	31
Modificación de las Proteínas de unión a Penicilinas (PBPs)	32
Resistencia a meticilina.....	32
Operacionalización de las Variables	35
Hipótesis	36
CAPÍTULO III	37
MARCO METODOLÓGICO	37
Tipo de Investigación.....	37
Diseño de la investigación	37
Población y muestra	38
Procedimiento de la investigación	39
Material botánico.....	39
Recolección.....	39
Métodos	39
Extracción por maceración a temperatura ambiente	39
Obtención del extracto concentrado.....	40
Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto	40
Microorganismos usados en el ensayo	40
Preparación de los medios de cultivo	41
Preparación de los inóculos bacterianos.....	41
Disposición de los discos	41
Incubación.....	42
Lecturas de las pruebas de susceptibilidad.....	42
Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)	42
Procedimientos y Metodología	43
CAPÍTULO IV	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
Rendimiento del extracto etanólico de hojas de <i>Lippia origanoides</i> ..	44
Actividad antibacteriana.....	45
CAPÍTULO V	49

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
Conclusiones	49
Recomendaciones.....	50
Referencias.....	51

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS, ESQUEMAS Y FIGURAS

Figura 1. Monoterpenos aislados de especies del género <i>Lippia</i>	19
Tabla 1. Operacionalización de la variable independiente	35
Tabla 2. Operacionalización de la variable dependiente.	35
Tabla 3. Especies bacterianas sometidas a la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y tallos de <i>Lippia organoides</i>	41
Esquema 1. Diseño Experimental.	43
Tabla 4. Pesos de las hojas, tallos y del extracto etanólico de la especie <i>Lippia organoides</i>	44
Tabla 5. Actividad antibacteriana del extracto de <i>Lippia organoides</i>	45
Tabla 6. Antibióticos control usados en el ensayo del extracto de <i>L. organoides</i> . Halos de inhibición (mm)	46



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE PRODUCTOS
NATURALES
“DR. ANTONIO MORALES MÉNDEZ”



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
HOJAS Y TALLOS DE LA ESPECIE *Lippia origanoides* EN CEPAS DE
REFERENCIA INTERNACIONAL (ATCC)

Trabajo de Grado para optar al título de Licenciada en Bioanálisis

Autora: Yessica Aguilar

Tutor: Dra. Janne Rojas

Cotutor: Dr. Alexis A Buitrago

RESUMEN

La salud en la actualidad es un tema de suma importancia, con el paso del tiempo el estilo de vida de las personas junto con el sedentarismo ha provocado un incremento de enfermedades infecciosas además, el consumo prolongado de fármacos provocan efectos secundarios, lo cual genera resultados contrarios a los esperados, no obstante, esto ha creado conciencia en la población, por lo cual se acude a alternativas naturales. El objetivo de la investigación fue estudiar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y tallos de la especie *Lippia origanoides* en cepas de referencia internacional (ATCC) realizado en el laboratorio C “Antonio Morales” ubicado en el instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes desde Julio del 2019 hasta Febrero 2020, a través del método de maceración y evaluando la posible actividad antibacteriana empleando el método difusión en agar con discos de papel en cepas de referencia internacional (ATCC). Este estudio arrojó resultados prometedores ya que la especie *L. origanoides* mostró actividad antibacteriana frente a la cepa Gram positivas *S. aureus* con CIM de 70mg/mL para las hojas y 100mg/mL para los tallos. Los resultados expresados en esta investigación muestran que la especie en estudio podría ser una alternativa terapéutica para infecciones bacterianas.

Palabras clave: *Lippia origanoides*, *S. aureus*, actividad antibacteriana, extracto

INTRODUCCIÓN

Las plantas son seres orgánicos que viven y crecen pero no cuentan con capacidad motora, es decir, no se pueden mudar de un lugar a otro por un impulso voluntario. Desde la antigüedad han sido usadas para tratamiento de enfermedades y es por eso reciben el nombre de medicina natural. Este concepto procede del *latín medicina* y está vinculado a la ciencia que permite prevenir y curar las enfermedades humanas.

También es sinónimo de medicamento que a su vez se define como la sustancia que previene, alivia, cura las enfermedades o sus secuelas. En este orden de ideas, las plantas medicinales, pueden emplearse en el tratamiento de una afección mediante el uso de sus extractos.

En este sentido los extractos de las plantas contienen metabolitos secundarios los cuales se encuentran en diferentes tejidos vegetales y tienen distintas propiedades tales como: sedar, estimular el sistema nervioso, inhibir la actividad bacteriana y funciones analgésicas entre otros. Se puede mencionar los extractos de la Familia Verbenaceae la cual cuenta con múltiples propiedades curativas.

Entre esta familia se encuentra el género *Lippia*; las mismas son plantas aromáticas, con un olor penetrante; esta característica especial hace que se empleen en culinaria y por sus propiedades curativas en medicina popular. En relación a este género se encuentra la especie *origanoides*, un arbusto silvestre que se encuentra en el nordeste de Suramérica y algunos países de Centro américa y las Antillas, dicha especie alcanza 3 m de longitud, posee hojas verdes ovadas muy aromáticas e inflorescencias en racimo, axilares y blancas, comúnmente se conoce como orégano de monte .

Se debe agregar que la siguiente investigación evaluó la capacidad antibacteriana de la especie *Lippia organoides* a través de diferentes métodos empleados en el laboratorio, desde la obtención del extracto etanólico de hojas y tallos por maceración en frío hasta evaluar la actividad antibacteriana por el método de difusión del agar en disco frente a cepas control ATCC.

Esta investigación se encuentra conformada por el capítulo I en el que se describe el planteamiento del problema, la justificación de la investigación, el objetivo general con el cual se busca evaluar la actividad antibacteriana del extracto de hojas y tallos de *Lippia organoides* (Verbenaceae), los objetivos específicos que se deben cumplir en el desarrollo de la investigación, los alcances y limitaciones de la investigación.

En el capítulo II se establece el marco teórico que está constituido por: los trabajos previos, antecedentes históricos, bases teóricas, operacionalización de las variables y sistema de hipótesis. Seguidamente el capítulo III constituye el marco metodológico de la investigación, por otra parte, el capítulo IV está constituido por los resultados y discusión del estudio y el capítulo V comprende las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La salud en la actualidad es un tema de suma importancia, con el paso del tiempo el estilo de vida de las personas junto con el sedentarismo ha provocado un incremento de enfermedades o afecciones. El consumo prolongado de fármacos provoca efectos secundarios, lo cual genera resultados contrarios a los esperados. No obstante, esto ha creado conciencia en la población, por lo cual se acude a alternativas naturales que prevengan dichas enfermedades.

De este modo se debe considerar el uso de plantas aromáticas con fines medicinales, las cuales poseen una amplia distribución mundial, las mismas se encuentran clasificadas en diversas familias, siendo de nuestro interés la familia Verbenaceae. Con el paso del tiempo la población ha ingerido infusiones de diferentes especies para tratar molestias que le aquejan; cabe resaltar que las hojas de la especie *Lippia origanoides* son entre otras usadas con fines medicinales.

Las hojas y tallos son las partes que se utilizan de esta planta; estudios relacionados a la especie reportan la presencia de diversos compuestos aromáticos como carvacrol, *p*-cimeno, *y*-terpineno, timol, α -terpineno, trans- β -cariofileno, α -felandreno + δ -3-careno, limoneno, entre otros. (Castañeda *et al*, 2007).

Algunas investigaciones han evaluado la citotoxicidad en células Vero y las actividades antifúngicas, antiparasitarias y antibacterianas. Los resultados obtenidos permitieron establecer que el aceite de *L. origanoides*, fue la mezcla más promisorio, debido a su alta actividad en los diferentes ensayos biológicos. (Celis y *et al.*, 2007). En este sentido la investigación se basa en la búsqueda de elementos antibacterianos a partir del extracto etanólico de las hojas y tallos de la especie *L. origanoides* debido a sus diversos usos terapéuticos.

De acuerdo con lo antes mencionado, se procede a plantear la pregunta de la presente investigación: ¿Existe actividad antibacteriana en el extracto de hojas y tallos de *L. origanoides* (Verbenaceae) sobre las cepas de referencia internacional (ATCC)? que será estudiada en el Laboratorio C de Productos Naturales “Antonio Morales” ubicado en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes desde Julio 2019 hasta Febrero 2020.

Justificación de la Investigación

Los resultados eficaces de los medicamentos naturales se obtienen al estudiar minuciosamente los elementos que los componen. La investigación se enfoca en la especie *Lippia origanoides* que de acuerdo con las investigaciones de la familia (Verbenaceae) posee elementos antibacterianos que permiten disminuir e inactivar la acción patógena de microorganismos bacterianos en el hospedero.

En este sentido se espera encontrar una alternativa natural a través del extracto, que sea beneficiosa para el ser humano, logrando determinar la acción específica ante ciertos microorganismos. En base a los estudios de *L. origanoides* y de acuerdo al avance de la investigación se podrá conocer que capacidad inhibitoria tiene esta especie ante las bacterias ensayadas.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y tallos de la especie *Lippia origanoides* en cepas de referencia internacional (ATCC) actividad que se realizó en el laboratorio C “Antonio Morales” ubicado en el instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes desde Julio del 2019 hasta Febrero 2020.

Objetivos Específicos

www.bdigital.ula.ve

- Obtener el extracto de las hojas y tallos de la especie *L. origanoides* (Verbenaceae) a través del método de maceración a temperatura ambiente usando etanol como solvente extractor.
- Ensayar la posible actividad antibacteriana del extracto de hojas y tallos de la especie *L. origanoides* (Verbenaceae), empleando el método difusión en agar con discos de papel filtro en cepas de referencia internacional (ATCC).

Alcances y limitaciones de la investigación

Según Hurtado (2000) la explicitación de los alcances advierte a la comunidad científica acerca de las consideraciones y precauciones que debe tener a la hora de utilizar los resultados derivados de la investigación y establece hasta donde llega su aplicabilidad.

Por ello se busca evaluar la capacidad antibacteriana de la especie *Lippia origanoides*, a través de un ensayo por el método de difusión en agar con discos de papel filtro impregnados con el extracto obtenido de las hojas y tallos de la especie en estudio.

Durante la investigación los procesos de secado, obtención del extracto, almacenamiento o preparación de las muestras para el ensayo pudieran presentarse contaminación del material, por lo que afectaría los resultados esperados.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Se entiende por revisión documental el proceso mediante el cual un investigador recopila, revisa, analiza, selecciona y extrae información de diversas fuentes, con el propósito de llegar al conocimiento y comprensión más profundos del mismo. (Hurtado, 2000).

Los autores Islam *et al.*, (2018) realizaron una investigación titulada “*In Vitro* actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y extractos orgánicos diferentes de *L. alba*” el objetivo de este estudio fue investigar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales y diferentes extractos orgánicos extraídos de la planta medicinal *Lippia alba*. La composición química del aceite se determinó por cromatografía de CG-EM.

En el proceso de extracción se secaron las hojas de *L. alba* al aire libre, se pulverizaron y se dejaron en forma de polvo seco (50g), luego se extrajo con etanol, metanol, cloroformo, éter de petróleo, acetato de etilo y diclorometano por separado a temperatura ambiente durante 7 días.

Se determinó La actividad antibacteriana *In vitro* utilizando el método de difusión en agar y la prueba de determinación de CIM contra seis bacterias patógenas. Los aceites esenciales y diferentes extractos mostraron gran potencial de actividad antibacteriana contra bacterias Gram-positivas y Gram-

negativas (*E. coli*, *Pseudomonas sp*, *Klebsiella pneumoniae*). Las zonas de inhibición de diferentes concentraciones de los aceites y los extractos contra las bacterias analizadas se encontraron en el rango de 6-23 mm.

Los resultados obtenidos de este estudio son prometedores y muestran una posible alternativa terapéutica para diversas infecciones causadas por bacterias patógenas. Los resultados también apoyan el uso tradicional de la planta y sugiere que algunos extractos poseen compuestos con altas propiedades antibacterianas, además, demostraron que el producto natural derivado de *L. alba* podría ser utilizado en productos farmacéuticos, cosméticos y en agroindustria.

En este orden de ideas los autores Rúa *et al.*, (2019) enfocaron sus estudios en una investigación titulada “Eficacia antimicrobiana del extracto natural de *Lippia citriodora* contra *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* en el jugo de melón “Piel de sapo.” El extracto de *Lippia citriodora* comercial (PLX®) contiene una concentración de (10mg/mL) que fue preparado para disolver en una cantidad apropiada en etanol al 40% (v/v), esta solución fue refrigerada a -40°C hasta su uso.

La concentración inhibitoria mínima (CIM) de un extracto acuoso de *Lippia citriodora* con propiedades funcionales reportadas (PLX®) se determinó en dos cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*) que pertenecen a serogrupos comúnmente asociados con enfermedades transmitidas por alimentos (*E. coli* O157: H7 ATCC 700728 y *E. coli* O111 aislante 172) en productos vegetales y dos cepas de control para ensayos de pruebas antimicrobianas (*E. coli* ATCC 25922 y *Enterococcus* – *E. faecalis* ATCC 29212).

Los autores observaron como resultado que los valores medios de CIM a pH estándar 7,4) en el caldo para las cepas de *E. coli* analizadas oscilaron entre 4,444 µg / mL (35°C) a 1,250 µg / mL (10°C) y 182 µg / mL (4°C). A un

pH de 5,5 condiciones similares a las del jugo de melón, la CIM fue aproximadamente 2 veces mayor a 35 y 10°C en comparación con 4°C.

El CIM de *E. faecalis* fue de 3,352 µg / mL (35°C) ligeramente inferior a la de *E. coli* en las condiciones analizadas. En el jugo de melón fortificado con PLX® (2,500 g /mL, límite máximo sensorial aceptable), las tres cepas de *E. coli* mantuvieron su viabilidad, aunque ninguno mostró el potencial de crecimiento después de 4 días a 4°C. Llegando a la conclusión que PLX® podría agregarse al jugo de melón para controlar las cepas de *E. coli* O157:H7 y *E. coli* O111 durante el almacenamiento refrigerado, reduciendo el riesgo de contaminación microbiológica en este alimento.

De igual modo los autores Purificação *et al.*, (2013) realizaron un estudio el cual esta titulado “Actividad antimicrobiana de una especie de *Lippia* proveniente de la región semiárida brasileña usada tradicionalmente como antiséptico y agente anti infeccioso”.

Lippia origanoides Kunth, *Lippia alnifolia* Schauer y *Lippia thymoides* Martius y Schauer son arbustos utilizados en la medicina tradicional brasileña como antisépticos, así como el tratamiento de enfermedades infecciosas. El estudio se diseñó para investigar las actividades antibacterianas y antifúngicas de los extractos metanólicos de estas especies, como fuentes potenciales de medicamentos antimicrobianos.

La actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos se investigó contra levaduras y bacterias resistentes mediante difusión en agar con discos de papel, las placas se incubaron a 28°C / 48 h y 37 °C / 18 24 h para levaduras y bacterias, respectivamente. Se midieron las zonas de inhibición (mm) y se consideró un resultado positivo con halos mayores de 6,5 mm (diámetro del disco incluido). Se usaron Nistatina® (10 µg/disco), Eritromicina® y Cloranfenicol® (30 µg/disco) como controles positivos contra

levaduras y bacterias. Las pruebas fueron realizadas por triplicado, además, determinaron la CIM de las especies más activas y sus fracciones en hexano, diclorometano, acetato de etilo y agua. Los extractos de plantas con CIM $\leq 2,631 \text{ mg mL}^{-1}$ se consideraron agentes antimicrobianos activos. Mediante el ensayo de difusión en agar, todas las especies fueron activas contra al menos dos microorganismos, dando evidencia para apoyar su uso en la medicina popular.

Las hojas de *L. origanoides* exhibieron la acción antimicrobiana más amplia, inhibiendo el crecimiento de dos bacterias Gram-positivas y dos levaduras, esta actividad fue confirmada por la evaluación CIM. El fraccionamiento de extractos crudos de *L. origanoides* mejoró la actividad en espectro e intensidad. Los resultados obtenidos en este estudio indican que *L. origanoides* puede ser una alternativa prometedora en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas y en la búsqueda de nuevos fármacos antimicrobianos.

Los autores Vélez *et al.*, (2019) realizaron un estudio titulado “Fitoquímica de *Lippia citriodora* K cultivada en Ecuador y su actividad biológica”. Realizaron un estudio fitoquímico de los metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letal del extracto metanólico de las partes botánicas de *Lippia citriodora* K (cedrón).

Identificaron la presencia taninos, polifenoles, triterpenos y esteroides insaturados para las hojas, flores y tallo; fenilpropanoides y catequinas para tallos y flores; alcaloides para hojas y flores; saponinas para hojas y tallos. Además, las flores exhibieron la presencia de cumarinas y metilencetonas.

El extracto metanólico de todas las partes botánicas de *L. citriodora* demostró una alta actividad antibacteriana contra *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, a excepción del extracto de las flores que exhibió una actividad

antibacteriana moderada o mediana contra cepas de *S. aureus*. Además, se observó un efecto antifúngico moderado del extracto de las hojas, y una actividad alta de los extractos del tallo y flores, contra la cepa *Candida albicans*.

A una concentración de 20 mg. ml⁻¹, el extracto del tallo fue el que mostró mayor actividad antibacteriana contra todas las cepas ensayadas, al presentar halos de inhibición superiores a 15 mm, seguido por los extractos de las hojas y las flores. También se observaron los porcentajes de rendimientos de extracción de hojas, tallos y flores secas, pudiéndose notar que el extracto de las flores presentó el rendimiento de extracción más alto con 11,81% seguido de las hojas que presentaron un 7,18% y el del tallo mostró el rendimiento más bajo con respecto a todos los extractos obtenidos, con un porcentaje de extracción de 3,78%.

www.bdigital.ula.ve

Antecedentes Históricos

En su trabajo Pascual *et al.*, (2014) describe:

“La medicina natural y tradicional forman parte del acervo cultural de la humanidad, y se han desarrollado en muchos países con características propias, en franca tendencia a los recursos disponibles en ellos, sobre la base, además, de la idiosincrasia de sus habitantes: por tanto es el resultado de una evolución lenta, pero avalada por la experiencia práctica”

“El empleo de las plantas para la alimentación del hombre y la curación de diversas enfermedades, se remonta a la creación del mundo. Esta experiencia fue transmitida de generación en generación, a tal punto, que en la actualidad, en pleno siglo XXI, son denominadas plantas de uso tradicional, el cual continuará hasta el fin de los tiempos”

El uso de plantas medicinales o la medicina herbaria se utilizan desde tiempos remotos para aliviar las dolencias, en este contexto surgen los fitofármacos, su empleo es válido para mejorar la salud humana. La herbolaria funciona más o menos de la misma manera que los fármacos convencionales, debido a su composición química. (Pascual *et al.*, 2014).

Las plantas contienen gran variedad de compuestos químicos los cuales presentan actividad biológica. En los últimos 150 años los químicos y farmacólogos se han dedicado a aislar y purificar compuestos “activos” de las plantas en un intento para producir nuevos fármacos. (Pascual *et al.*, 2014).

En el último cuarto del siglo XIX a partir de los estudios de Pasteur y Koch, se demostró la implicación microbiana en el génesis de varias enfermedades epidémicas. La difusión de la teoría del germen microbiano supuso un importante cambio de paradigma en los estudios epidemiológicos:

por fin se podían entender un grupo de enfermedades que ocasionaban elevada morbilidad y mortalidad en las comunidades humanas. (Marcén, 2000)

A comienzos del siglo XX, Ehlich propuso la teoría de las balas mágicas, sustancias químicas que atravesaban los campos celulares humanos destruyendo solamente a ciertos tipos de microbios, entre esas sustancias, llamadas quimioterapéuticos, se encuentran los antipalúdicos, las sulfamidas y las quinolonas. (Marcén, 2000)

En la segunda Guerra Mundial se desarrollaron los procedimientos de fabricación industrial de la penicilina, a partir de los cultivos de hongos descubiertos por Fleming. Otros antibióticos se fueron incorporando al arsenal terapéutico. (Marcén, 2000)

En antiguos documentos aparecen referencias a tratamientos antiinfecciosos; entre las creencias populares persiste el uso de alimentos y sustancias sencillas con poder antiséptico, motivando el aumentando de los ensayos de laboratorio para detectar la acción antimicrobiana de las plantas, minerales y de ciertos microorganismos. (Marcén, 2000).

En cuanto a la planta en estudio se dice que además de su uso como condimento, su aceite esencial así como sus hojas en cocimiento son carminativas y mejoran el funcionamiento gastrointestinal, además de propiedades antiespasmódicas y contra las náuseas, se utiliza como sedantes, tónicos nerviosos, contra resfríos y asma. Así mismo tiene efecto diurético, desinfectante y se usa contra la psoriasis. El extracto de sus hojas contienen proporciones de carvacrol y timol, en menor proporción también poseen sesquiterpenos. (Celis, 2012).

Bases Teóricas

Plantas Medicinales

Se caracterizan por aportar a los organismos múltiples principios activos que al tratarse de moléculas orgánicas se absorben en general más fácilmente y su efecto depende de la acción conjunta de varias sustancias que se potencian y equilibran mutuamente pudiendo beneficiar a diferentes órganos o funciones del organismo. Si bien su acción es más lenta seguramente será más persistente en el tiempo; no es frecuente la aparición de efectos de rebote, resistencia, provocar adicciones o efectos tóxicos. (Cruz, 2007).

Familia Verbenaceae

La familia Verbenaceae incluye 2600 especies agrupadas en 100 géneros con distribución pantropical. El número más significativo de especies se encuentra en América Latina, donde se encuentra en una amplia gama de ecosistemas. Esta familia involucra hierbas, arbustos y algunos árboles. Son un elemento importante en la flora de América del sur. (Pérez *et al*, 2018).

Dentro de esta familia se encuentran diferentes géneros tales como: *Verbena*, *Glandularia*, *Lantana*, *Lippia* y *Priva Adans*, entre otros. Las plantas de esta familia se conocen como especies aromáticas, para uso ornamental o en medicina popular desde la antigüedad.

Así mismo la familia Verbenaceae tiene usos medicinales estrechamente relacionados con infecciones bacterianas, sus propiedades antisépticas pueden usarse para el tratamiento de fiebre, heridas, diarrea, bronquitis, sinusitis y tétanos. Además, los principales compuestos químicos presentes

en estas plantas son reconocidos por su acción antimicrobiana. (Pérez *et al.*, 2018).

Género *Lippia*

El género *Lippia* Houtt pertenece a la familia Verbenaceae, y comprende alrededor de 200 especies, entre hierbas arbustos y pequeños árboles. La palabra *Lippia* se derivó del nombre de Auguste Lippi, botánico italiano nacido en París en 1678. La mayoría de las especies de *Lippia* son plantas aromáticas, con un olor penetrante; muchas de ellas por esta propiedad se emplean en culinaria y por sus propiedades curativas en medicina popular. (Stashenko *et al.*, 2014).

Debido a su distribución existen más de 60 especies de plantas conocidas frecuentemente como “Orégano”, esta planta es utilizada como condimento o especia. Se conocen dos grandes grupos de orégano, el europeo y el mexicano, el primero pertenece a la especie *Origanum vulgare* de la familia Lamiaceae y el segundo proviene de dos especies de la familia Verbenaceae: *Lippia palmari*, *Lippia graveolens*. La especie *Lippia origanoides* puede ser encontrada tanto en plantaciones comerciales como en forma silvestre en Colombia y Venezuela, cabe destacar que estas plantas son de origen neo tropical (Vásquez, 2012).

La mayoría de las especies de orégano presentan propiedades medicinales y terapéuticas que se explican por la compleja composición química que tienen estas plantas. Algunas especies tienen como componentes principales terpenos como el carvacrol, el timol, α -pineno, *p*-cimeno. Glucósidos iridoides, fenilpropanoides, naftoquinonas y flavonoides son los cuatro tipos de metabolitos secundarios no volátiles reportados en *Lippia*. (Vásquez, 2012).

Uso Medicinal del Genero *Lippia*

Varias especies de este género se utilizan contra afecciones respiratorias y gastrointestinales, además para condimentos, entre ellas se destacan *Lippia alba* conocida también como “pronto-alivio”. Se utiliza como infusión, antidiarreico, antiespasmódico, diaforético, diurético, expectorante, laxante y sedante. (Delgado, 2016).

Estas propiedades pueden relacionarse con el hecho de que estas plantas exhiben propiedades antifúngicas, antimicrobianas y antioxidantes. Estos beneficios y propiedades bioactivas están directamente relacionadas con la composición de los aceites esenciales y extractos presentes en la planta. Por su parte, la especie *Lippia origanoides* presenta usos terapéuticos y medicinales entre los que destaca la actividad bacteriostática frente a diferentes microorganismos. (Delgado *et al.*, 2016).

Generalidades de la especie *Lippia oreganoides*

Es un arbusto silvestre que se distribuye en el nordeste de Suramérica y algunos países de Centro América y las Antillas. Esta especie alcanza 3 m de longitud, posee hojas verdes ovadas muy aromáticas e inflorescencias en racimo, axilares y blancas. Generalmente esta planta se conoce como “Orégano de monte”, las infusiones de sus flores y hojas, son consumidas para tratar afecciones respiratorias e intestinales, diarreas y disentería y tiene un gran interés Fitoterapéutico, pues tradicionalmente se ha utilizado como antiséptico. (Henao *et al.*, 2009).

Taxonomía de *Lippia oreganoides* (Andrade, 2015)

Division: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Verbenaceae
Género: *Lippia*
Especies *Lippia oreganoides* Kunth

Antecedentes Fitoquímicos de la especie *Lippia oreganoides*

Estudios relacionados a la especie reportan la presencia de diversos compuestos como lo es el carvacrol, *p*-cimeno, γ -terpineno, timol, y α -terpineno, *trans*- β -cariofileno, α -felandreno, (+) δ -3-careno, limoneno. (Castañeda *et al.*, 2007). (Figura 1).

En investigaciones relacionadas con la actividad antibacteriana de la especie *L. oreganoides* observaron que los aceites y extractos presentan mayor porcentaje de carvacrol que timol, mostrando halos de inhibición frente a microorganismos como *P. aeruginosa*, también se reveló que esta bacteria gram negativa es más resistente a la acción del timol y el carvacrol que *S. aureus*. (Ramírez *et al.*, 2009).

A su vez se mostró la importancia de los grupos hidroxilos en la estructura fenólica que puede variar la efectividad del carvacrol y el timol como agentes antimicrobianos. Además de revelar algún grado de actividad inhibitoria frente a microorganismos como *Salmonella* y *E.coli*.

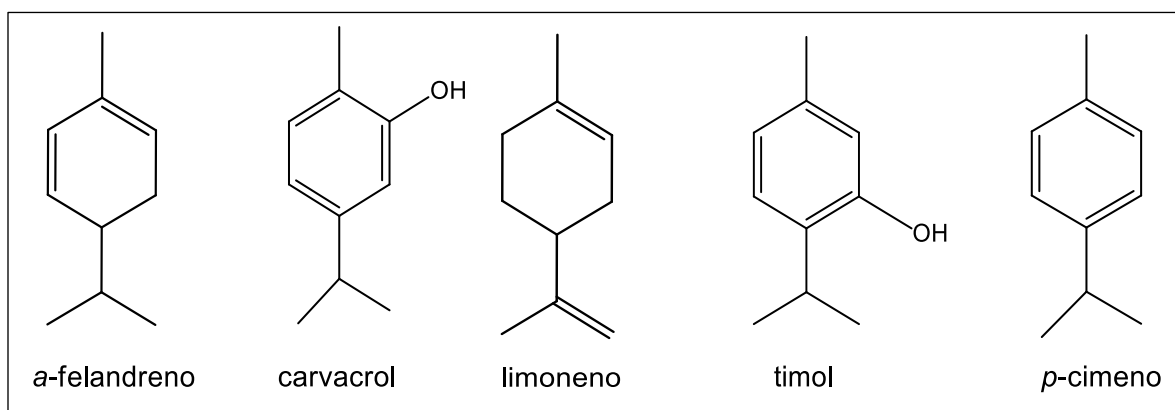


Figura 1. Monoterpenos aislados de especies del género *Lippia* (Ramírez *et al.*, 2009).

Usos de la Especie *Lippia organides*

Es utilizada como especie culinaria, en cocimiento pero además posee múltiples usos terapéuticos y medicinales. Presenta actividad bacteriostática contra tres especies de *Nocardia* sp y actividad antimicrobiana contra algunas especies de *Cándida*, *Staphylococcus aureus*, entre otros. También presenta actividad inhibitoria de *Trichophyton rubrum*. (Delgado *et al.*, 2016).

Extracto Vegetal

María Ocares en 2012 cita las autoras Lizcano y Vergara 2008 quienes definen un extracto como un concentrado obtenido por el tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca.

Cuando la materia vegetal seca se pone en contacto con el solvente se inicia un proceso opuesto al del secado, es decir, se reconstituye el estado original de la célula. El proceso extractivo empieza cuando el solvente penetra en la célula, logrando sacar el aire contenido en el citoplasma. Para

el aislamiento de metabolitos secundarios, los solventes más empleados son: agua, alcohol etílico, glicerina, propilenglicol y sus mezclas (Sulca, 2010).

Un extracto vegetal puede ser líquido, semisólido o en polvo y se puede obtener por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos, a partir de una fuente vegetal y puede ser utilizado en cualquier campo de la tecnología. (Ocares, 2012).

Los extractos vegetales se pueden obtener de diferentes partes de las plantas como:

- Las hojas (ajenjo, albahaca, eucalipto, hierbabuena, menta, romero, salvia, toronjil, entre otros).
- Las raíces (ásaro, azafrán, cúrcuma, jengibre, sándalo, valeriana).
- Pericarpio del fruto (limón, mandarina, naranja).
- El tallo (canela).
- Las flores (Lavanda, manzanilla, tomillo, clavo de olor, entre otros.)

Los principios activos contenidos en las plantas pueden ser extraídos mediante diversas técnicas o pueden ser administrados tal y como se encuentra en las plantas frescas.

El método de extracción utilizado depende del tipo de planta que se va a emplear, concentración de principios activos y de sus propiedades farmacológicas. Cuando se utiliza el agua como vehículo extractivo recibe el nombre genérico de Tisana: es una preparación acuosa en la que se aprovecha el poder de extracción que el agua posee. (Guerra, 2005).

Manteniendo el agua en contacto con la planta ésta cede parte de sus principios activos a la misma, principalmente sustancias que son solubles en agua. Ocurre un fenómeno de difusión celular. La extracción de principios activos durará mientras no se alcance un equilibrio osmótico entre el protoplasma celular y el líquido extractivo, en este caso agua. (Guerra, 2005).

Extracción

Para la elaboración de medicamentos a base de material vegetal se debe tomar en cuenta que existen diferentes métodos para extraer los principios activos contenidos en dicha planta, los cuales necesitan de un líquido extractivo que va a depender del procedimiento técnico y de la naturaleza química del principio activo. (Carrión y Garcia, 2010)

Según la textura o los componentes de la planta, existen varios procedimientos extractivos tales como:

Maceración

Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la planta con el solvente constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el disolvente actúa simultáneamente sobre todas las partes de la planta, circulando en todas las direcciones y sentidos, disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular. (Carrión y Garcia, 2010).

Es el procedimiento de extracción más simple, la mezcla de plantas más solventes se protege de la luz, para evitar posibles reacciones y debe agitarse continuamente (tres veces por día, aproximadamente); el tiempo de maceración es diverso, las distintas Farmacopeas prescriben tiempos que oscilan entre cuatro y diez días. “Cuanto mayor sea la relación entre el

líquido extractivo y la droga, tanto más favorable será el rendimiento”. (Carrión y García, 2010).

Infusión

Las infusiones son productos líquidos que se obtienen introduciendo una sustancia orgánica, por lo general, de origen herbal, en agua caliente para que queden en ésta sus partes solubles. (Vera, 2003).

El procedimiento para elaborar una infusión se describe a continuación:

1. Calentar el agua hasta que llegue al punto de ebullición, luego se aparta del calor
2. Verter el agua en un recipiente y añadir el material vegetal
3. Tapar la infusión. Es importante taparla para que no se evapore los productos activos de la planta.
4. Dejar en reposo, las infusiones de plantas medicinales precisan generalmente entre 8 y 12 minutos de reposo, para permitir que las sustancias polares presentes en la planta sean extraídas por el agua
5. Retirar la bolsa de filtro que contiene las plantas o colar.

Decocción

Consiste en colocar la planta en agua hirviendo y dejarla hervir durante 5 a 20 minutos, hasta alcanzar el punto de ebullición, en un recipiente cerrado para evitar la evaporación. Se utiliza para raíces, tallos fuertes y cortezas. (Guerra, 2005).

Digestión

Es una maceración realizada a una temperatura suave que oscila alrededor de los 50 o 60° C. Al aumentar medianamente la temperatura se

consigue un mayor rendimiento de la extracción, puesto que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace que éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así extraer los principios activos. (Carrión y García, 2010).

Extracción con equipo Soxleth

El extractor Soxleth es un equipo de vidrio que se utiliza para la extracción de compuestos contenidos en un sólido, a través de un solvente afín. Su funcionamiento consiste en hacer hervir en el matraz el disolvente con el cual se va a extraer la materia sólida deseada que se encuentra en la muestra depositada en el cartucho del equipo. Los vapores del disolvente ascienden por el extractor y se condensan en el refrigerante cayendo gota a gota sobre el cartucho. (Pérez y Veloz, 2016).

Percolación

También conocido como lixiviación, es uno de los procesos más difundidos pues se puede realizar con disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener el material. Consiste en colocar el material fragmentado en un embudo o recipiente cónico y hacer pasar un disolvente adecuado a través del mismo. (González, 2004).

Antibióticos

Durante el último siglo, los antibióticos constituyen una de las estrategias que han tenido una amplia aplicación en el tratamiento de enfermedades bacterianas. La estimación correcta del potencial bactericida de estos agentes, un parámetro importante en farmacología, es un punto crítico para su uso apropiado y seguro. Existen diversos compuestos de antibióticos que pertenecen a grupos como los aminoglucósidos, las cefalosporinas, las

penicilinas, los glicopeptidos, los β -lactámicos, macrólidos, fluoriquinolonas, entre otros. (Garcia, 2006).

Algunos de los mecanismos de acción son: en el caso de los β -lactámicos, la inhibición de la síntesis de mureína que es un constituyente importante en la pared bacteriana dando como resultado la lisis de la célula; los amino glucósidos interfieren en la síntesis de proteínas; los macrólidos inhiben la síntesis de proteínas al bloquear las uniones de los azúcares. (Garcia, 2006).

Existe otro grupo de penicilinas penicilinasa-resistentes también llamado anti estafilocócicas que no son hidrolizadas por la penicilinasa estafilocócica, cuyo espectro antimicrobiano queda restringido a su uso en contra de infecciones cuya causa conocida o sospechada sean los estafilococos productores de penicilinasas. También se encuentra la meticilina que es una penicilina semi sistémica que se prepara con ácido 6-aminopenicilánico. La meticilina es bactericida frente a la mayoría de las cepas de *S. aureus*, no tiene efecto en bacterias Gram negativas. (Garcia, 2006).

Uso de los extractos vegetales como agentes antimicrobianos

Las sustancias naturales se han utilizado desde épocas antiguas, como sustancias aromáticas y como perseverantes. Sin embargo, estas cubren un amplio espectro de actividades tales como efectos farmacológicos, antiinflamatorios, antioxidantes, anticancerígenos y biocidas contra una amplia gama de organismos como: bacterias, hongos, virus, protozoos e insectos. (Ocares, 2012).

Los autores Ismaiel y Pierson (1990), han reportado que más de 1340 plantas poseen actividad antimicrobiana. Entre las plantas con potencial uso antimicrobiano se encuentran algunos que comúnmente se utilizan como

alimentos tales como: clavo de olor, ajo, cebolla, sábila, romero, cilantro, perejil, orégano, mostaza y vainilla, entre otros.

Mecanismo de acción

Los mecanismos por los cuales los principios activos de las plantas pueden causar la destrucción o inhibición de los microorganismos se señalan a continuación: degradación de la pared celular, daño a la membrana citoplasmática, daño en las proteínas de la membrana, filtración del contenido celular, coagulación del citoplasma y el agotamiento de la fuerza motriz de protones. (Ocares, 2012).

Microorganismos patógenos

Las infecciones bacterianas son una de las causas de enfermedades que afectan a un gran número de personas, estas infecciones pueden darse cuando una bacteria llega a un sitio en el cual normalmente no habita, como es el caso de la infección urinaria que en un gran porcentaje afecta a las mujeres (Pachay, 2018).

En casi todos los casos proviene de su microbiota gastrointestinal, debido a situaciones como un incorrecto aseo de sus genitales y la consecuencia de una colonización y ascenso de las enterobacterias principalmente hasta la vejiga o el aparato urinario superior. (Pachay, 2018).

Pueden citarse además, otras infecciones en las vías respiratorias, causadas por *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* como agentes más comunes, también se tienen las infecciones a consecuencia de contaminaciones de heridas que permiten que microorganismos como *Staphylococcus aureus* un miembro habitual de la piel pueda invadir y causar infección. (Pachay, 2018).

Tinción Gram

Es un método para poder clasificar las bacterias en Gram negativas y Gram positivas y permite determinar la morfología de las mismas. Esta técnica fue nombrada por el bacteriólogo Christian Gram en 1844, en ella se utilizan reactivos que generarán una coloración para distinguirlas: cristal violeta, lugol, alcohol acetona, agua y safranina. Las bacterias se tiñen de forma diferente debido a diferencias estructurales que conforman sus paredes celulares; en las primeras la alta cantidad de peptidoglicano (hasta 90 %) mientras que en las segundas solo podría alcanzar al 20% (Bastidas y Vaca, 2018)

Klebsiella pneumoniae

Es un bacilo Gram negativo, no móvil de la familia Enterobacteriaceae. Es la especie de mayor importancia clínica y más estudiada dentro del género *Klebsiella*. Usualmente desarrolla una cápsula que actúa como factor determinante en la virulencia de la bacteria, la cápsula protege el microorganismo de la fagocitosis por parte de los polimorfos nucleares y de los factores bactericidas séricos, inhibiendo la activación del complemento. (López y Echeverri, 2010).

La primera etapa en el proceso infeccioso es la adherencia del agente a las células del hospedero, función que en el caso de las enterobacterias es desempeñada por unas proyecciones filamentosas de la superficie bacteriana llamadas *pilis*. *K.pneumoniae* causa infecciones del tracto urinario y neumonía en personas sin enfermedades de base, pero la mayoría de las infecciones son adquiridas en el hospital. Es causa además de bacteriemia, infecciones del sitio quirúrgico, infecciones del tracto biliar, peritonitis y meningitis. (López y Echeverri, 2010).

Escherichia coli

Es una bacteria anaerobia facultativa, Gram negativa en forma de bastón. Este microorganismo fue descrito por primera vez por Theodor Escherich en 1885. La mayoría de las cepas de *E. coli* colonizan inofensivamente el tracto gastrointestinal de humanos y animales como una flora normal. (Lim *et al.*, 2013).

Esta bacteria puede llegar a medir de 1 hasta 2 micras y posee capacidad de movimiento a través de flagelos, también tiene fimbrias que son estructuras más pequeñas, que a diferencia de los flagelos no cuenta con movilidad, pero por ser de naturaleza proteica, posee una pared celular que está compuesta por lipopolisacáridos, esta pared es altamente antigénica y con capacidad de excretar endotoxinas. (Benvenuto, 2017).

Finalmente *E. coli* posee una cápsula que le otorga protección contra la fagocitosis y la acción inmunitaria primaria. *Escherichia coli* entero patógena fue la primera variedad de *E. coli* entero virulenta que se identificó serológicamente, esta bacteria no produce ninguna toxina, su principal factor de patogenicidad es la adherencia. Esta variedad provoca una diarrea acuosa, con vómito y fiebre. (Benvenuto, 2017).

Este grupo afecta principalmente a niños entre los seis meses y dos años de edad. También puede aislarse en adultos enfermos y sanos. La transmisión es fecal-oral y los reservorios de *Escherichia coli* enteropatógena pueden ser niños y adultos con o sin síntomas. (Benvenuto, 2017).

Pseudomonas aeruginosa

Es un patógeno oportunista de gran importancia clínica en el ambiente hospitalario. Así mismo es el primer causante de neumonía asociada a la

ventilación mecánica en las unidades de cuidados intensivos (UCI) causando elevadas tasas de mortalidad. (Salvador *et al.*, 2018). *P. aeruginosa* es un microorganismo relacionado con las infecciones nosocomiales mundiales como infecciones urinarias, infecciones del sitio quirúrgico y sepsis. (Paz *et al.*, 2019).

Pseudomonas aeruginosa tiene forma de bastón aproximadamente de 0.5-1µm de largo. Se considera una bacteria aerobia facultativa. (Paz *et al.*, 2019). Es un bacilo Gram negativo, se multiplica fácilmente, produciendo en ocasiones un olor dulce o parecido al de las uvas. Algunas cepas producen hemólisis. (Brooks y Carroll, 2013).

Esta bacteria tiene la capacidad de producir una serie de enzimas capaces de degradar múltiples proteínas inmunoreguladoras, incluyendo las proteínas surfactantes A y D, el complemento, inmunoglobulinas y péptidos antibacterianos. Cabe mencionar que los efectos patogénicos de *P. aeruginosa* son ampliamente estudiados en el tracto respiratorio; sin embargo, también causa infecciones corneales y queratitis. (Paz *et al.*, 2019).

Además, posee el flagelo que le otorga motilidad a la célula, contiene además una proteína flagelar, que le confiere la capacidad de adherirse a la mucosa de las vías respiratorias y también tiene pilis del tipo IV que le da la capacidad de adherirse y tener otro tipo de movilidad denominado “*Swarming*”. Forma biopelículas que son secretadas por la bacteria como mecanismo de evasión para los anticuerpos y la fagocitosis de las células inmunológicas. (Paz *et al.*, 2019).

Enterococcus faecalis

Los *Enterococci* se consideran entre los principales agentes causales de infecciones nosocomiales entre los que destacan, *E. faecalis* y *E. faecium*. Son responsables de infecciones graves como septicemia, infecciones en el sistema nervioso central, en la piel y tejidos blandos, endocarditis, neumonía y sepsis intra-abdominal. (Arredondo *et al.*, 2018).

Son bacterias Gram positivas, pueden observarse en cadenas o parejas cortas, no tienen cápsula ni forma esporas y son anaerobios facultativos. Forman parte de la microbiota gastrointestinal del ser humano, esencialmente en yeyuno e íleon. Tiene la capacidad de causar infecciones dentro y fuera de sitios hospitalarios. (Arredondo *et al.*, 2018).

E. faecalis puede adaptarse a condiciones adversas después de la exposición previa a condiciones de estrés sub-letal. Los factores de virulencia pueden relacionarse con la colonización del huésped, la competencia con otras bacterias, la resistencia contra los mecanismos de defensa del huésped y la producción de cambios patológicos directamente a través de la producción de toxinas o indirectamente a través de la inducción de inflamación. (Güven, y Dag, 2004).

Muchos estudios muestran que la transmisión de *E. faecalis* entre pacientes puede ser ocasionada por las manos del personal de salud, la inoculación directa en dispositivos médicos como el uso de catéteres intravenosos y urinarios, la hospitalización prolongada especialmente en la unidad de cuidados intensivos. (Arredondo *et al.*, 2018).

Además, una de las manifestaciones más frecuentes y clínicamente importantes corresponde a la bacteriemia, encontrándose resultados

dispare principalmente en cuanto a la mortalidad en los estudios realizados. (Fernández *et al.*, 2004).

Staphylococcus aureus

Desde su descubrimiento por el medico Alexander Ogston en 1880, *Staphylococcus aureus* es considerado un patógeno de gran potencial para causar múltiples infecciones en el humano y en los animales. *S. aureus* es la especie considerada más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida. (Cervantes *et al.*, 2014).

Los estafilococos son células esféricas Gram positivas de aproximadamente 1µm de diámetro dispuestas en racimos irregulares parecidos a las uvas, también se observan cocos individuales, pares y tétradas. Los estafilococos crecen rápidamente en casi todos los medios bacteriológicos bajo condiciones aerobias o microaerofílicas. *S. aureus* produce diversos grados de hemólisis y son coagulasa-positivo. (Brooks y Carroll, 2013).

La pared celular contiene mureína el cual es un peptidoglucano compuesto por sub unidades alternas de polisacaridos y puede tener actividad endotoxica estimulando el sistema inmune con un efecto toxico, posee además proteínas antigénicas y ácidos teicoicos. La mayor parte de cepas de *S.aureus* tienen cápsulas, que inhiben la fagocitosis por los leucocitos polimorfo nucleares a menos que hayan anticuerpos específicos presentes. (Brooks y Carroll, 2013).

Una infección estafilocócica circunscrita aparece como un “grano”, infección del folículo piloso o absceso. Suele haber una reacción inflamatoria intensa, circunscrita y dolorosa que supura del centro y que cicatriza con

rapidez cuando se drena el pus. La infección por *S. aureus* también se debe a la contaminación directa de una herida. Si *S. aureus* se disemina y sobreviene bacteriemia, es posible que se presente endocarditis, osteomielitis hematógena aguda, meningitis o infección pulmonar. (Brooks y Carroll, 2013).

Se han descrito tres mecanismos que explican la resistencia a los β -lactámicos en *S. aureus*: producción de enzimas inactivadoras (penicilinasas o β -lactamasas), modificación de las proteínas de unión a penicilinas (PBPs) y la resistencia intrínseca a meticilina, debida a la presencia del gen *mecA*; siendo este último, el mecanismo más importante desde el punto de vista clínico y el más estudiado. (Castellano y Perozo, 2010).

Resistencia a penicilina

La resistencia a penicilina se debe a la producción de penicilinasas (β -lactamasas) y es conferida por una penicilinasas plasmídica, inducible, que inactiva la penicilina G, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. El mecanismo de inducción consiste en que la penicilina y sus análogos favorecen la producción de una proteína anti represora que al inhibir el gen represor de la betalactamasa aumenta la síntesis de penicilinasas. Esta penicilinasas será inactivada por los inhibidores de β -lactamasas (Ácido Clavulánico®, Sulbactam® y Tazobactam®). (Castellano y Perozo, 2010).

La resistencia a Oxacilina® en *S. aureus* puede deberse a la producción excesiva de β -lactamasas, conociéndose los microorganismos que expresan esta forma de resistencia, como cepas con resistencia borderline o resistencia de bajo nivel. (Castellano y Perozo, 2010).

El mecanismo es una hiperproducción de penicilinasas estafilocócica normal, mediada por plásmidos. Estas cepas producen altas cantidades de

enzima, lo que hace que Oxacilina® y Meticilina®, que fueron desarrolladas para resistir la acción hidrolítica de la penicilinasa sean degradadas. (Castellano y Perozo, 2010).

Esta resistencia se encuentra avalada por la ausencia de Proteínas de unión a Penicilinas de gen *mecA* (PBP2a) en su pared celular y por la observación de que la asociación con Ácido Clavulánico®, Tazobactam® o Sulbactam® disminuye las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) de Oxacilina® y Meticilina® en varias diluciones. (Castellano y Perozo, 2010).

Modificación de las Proteínas de unión a Penicilinas (PBPs)

Corresponde a una modificación mínima de las proteínas de unión de Penicilinas (PBPs) 1,2, y 4 de peso molecular normal; pero con baja afinidad por los antibióticos β -lactámicos. Al igual que el mecanismo anterior, la respuesta es limitada. (Castellano y Perozo, 2010).

Estas cepas no producen β -lactamasas y presentan bajos niveles de resistencia a metililina, ello puede ser debido a la hiperexpresión de alguna de estas PBPs o la consecuencia de mutaciones genéticas que alteren la afinidad de la proteína final por el antibiótico. (Castellano y Perozo, 2010).

Resistencia a metililina

Debido a la resistencia a la Penicilina® de las cepas de *S. aureus* a finales de los años 50, se introdujeron cefalosporinas estables a penicilinasas y penicilinas semi sintéticas. Entre estas estuvo la Meticilina®, como antibiótico de elección en el tratamiento de *S. aureus*. (Castellano y Perozo, 2010).

La resistencia a la metililina se determina utilizando discos de oxacilina por que se ha sugerido que estas cepas se llamen *S. aureus* resistentes a la oxacilina (ORSA), más que *staphylococcus aureus* multiresistente (SAMR)

a la meticilina. En 1963, se reportó el primer brote nosocomial causado por cepas SAMR. Desde entonces se han notificado cepas SAMR en todo el mundo. (Castellano y Perozo, 2010).

La resistencia a meticilina fue denominada “intrínseca” debido a que no se produce destrucción del antibiótico por acción de enzimas β -lactamasas y es conferida por una proteína de unión a penicilina (PBP) adicional denominada PB2' o PBP2a, la cual no está presente en las cepas susceptibles a meticilina. (Castellano y Perozo, 2010).

El gen *mecA*, responsable de la resistencia a meticilina en *S. aureus* se encuentra formando parte del llamado SCC*mec* (es una isla genómica, que comprende un grupo de elementos móviles de ADN) y se encuentra localizado en el cromosoma bacteriano de cepas SAMR. El complejo denominado gen *mec*, una porción de ADN cromosómica adicional, de aproximadamente 30 a 50 Kb, es exclusivo de las cepas meticilino-resistentes. (Castellano y Perozo, 2010).

El complejo *mec* contiene el gen *mecA* (gen estructural para la PBP2a); *mecI* (represor) y *mecR1* (inactivador del *mecI*) que actúan como elementos reguladores que controlan la transcripción del *mecA* y de 20 a 45Kb del ADN asociado al cromosoma. (Castellano y Perozo, 2010).

El gen *mecA* es una región altamente conservada entre especies de estafilococos. Muestra alto nivel de homología en SAMR y estafilococos coagulasa negativos meticilinos resistentes, por lo que se ha descrito como un marcador molecular adecuado en la determinación de resistencia en todos los estafilococos (Castellano y Perozo, 2010).

La aparición de *Staphylococcus aureus* multiresistente (SAMR) se ha convertido en un problema de salud pública, en especial en pacientes

hospitalizados y con infecciones graves, lo que hace necesario un tratamiento antibiótico agresivo con vancomicina u otros fármacos. Se genera por la adquisición de nuevas PBP que no tienen afinidad por cloxacilina o cefalosporinas. En algunos países se han observado infecciones comunitarias por SAMR (SAMR-AC). (Alvo *et al.*, 2016).

www.bdigital.ula.ve

Operacionalización de las Variables

Tabla 1. Operacionalización de la variable independiente.

Variable	Extracto etanólico de las hojas y tallos de la especie <i>L. origanoides</i> (Verbenaceae).
Tipo de variable	Variable independiente
Definición conceptual	Concentrado obtenido por el tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados. (Ocares, 2012)
Definición operacional	La diferenciación e identificación de un extracto, se logra a través de los métodos de extracción utilizados para su obtención
Dimensiones	Elementos: Grado de concentración
Indicador	Actividad biológica de elementos concentrados

Fuente: (Rojas y Aguilar 2020).

Tabla 2. Operacionalización de la variable dependiente.

Variable	Actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Lippia origanoides</i> (Verbenaceae)
Tipo de variable	Variable dependiente discreta
Definición conceptual	Un elemento que posee actividad antibacteriana es cualquier compuesto de origen químico, natural o sintético, que inhibe el crecimiento o evita la reproducción de las bacterias (Usano <i>et al.</i> , 2014)
Definición operacional	Los resultados de actividad antibacteriana del extracto serán arrojados por la interpretación de la lectura que se realice a los halos formados en el método de difusión en agar con discos papel filtro.
Dimensiones	Sensible, intermedio y resistente
Indicador	Diámetro de halo de inhibición formado en la placa donde se aplicó el método de difusión en agar.

Fuente: (Rojas y Aguilar 2020).

Hipótesis

La hipótesis verifica el estatus de teoría o conocimiento científico. Siendo así, sistemático, objetivo y metódico el proceso de verificación, comprobación o constatación, la hipótesis se constituye en un núcleo esencial de la investigación. (Núñez, 2007).

“En su mayor parte, los enunciados que constituyen las teorías científicas son hipótesis y, en tal sentido, tiene un carácter provisional por cuanto pueden resultar a la postre verificadas o refutadas” (Núñez, 2007).

De acuerdo a lo antes explicado se fórmula la siguiente hipótesis.

H_0 : No existe actividad antibacteriana del extracto de hojas y tallos de *L. origanoides* (Verbenaceae) en cepas de referencia internacional (ATCC) que será estudiada en el Laboratorio C de Productos Naturales “Antonio Morales” ubicado en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes desde Julio 2019 hasta Febrero 2020.

H_1 : Si existe actividad antibacteriana del extracto de hojas y tallos de *L. origanoides* (Verbenaceae) en cepas de referencia internacional (ATCC) que será estudiada en el Laboratorio C de Productos Naturales “Antonio Morales” ubicado en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes desde Julio 2019 hasta Febrero 2020.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Según Hurtado (2000) el tipo de investigación está dado por el objetivo general y se han conceptualizado diez categorías generales o tipos de investigación: Exploratoria, descriptiva, comparativa, analítica, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa.

En este sentido el escrito se fundamenta en los objetivos ya planteados y con base a las teorías anteriores se indica que la investigación es de tipo confirmatoria, donde se busca ratificar la acción antibacteriana del extracto metanólico de hojas y tallos de la especie *Lippia origanoides* (Verbenaceae).

Diseño de la investigación

Los diseños representan modalidades más específicas dentro de cada tipo de investigación, cuya clasificación atiende, ya no al objetivo, si no a los procedimientos utilizados por el investigador. El diseño de investigación indica que observaciones se deben hacer, dónde hacerlas, como registrarlas, cuántas observaciones se deben hacer, que tipo de análisis debe aplicarse y qué conclusiones podrán obtenerse a partir del análisis de los resultados. (Hurtado, 2000).

Enfocándose en la teoría anterior se llega a la conclusión de que esta investigación adoptó un diseño mixto de modo que, primero fue un estudio

de campo ya que se recolectaron los datos directamente de los sujetos involucrados y luego se realizó una investigación experimental en el Laboratorio C de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

Población y muestra

La población de una investigación está constituida por el conjunto de seres en los cuales se va a estudiar el evento, y que además comparten, como características comunes los criterios de inclusión; es la población a quien estará referida las conclusiones del estudio. (Hurtado, 2000).

De acuerdo a lo antes explicado la población en este estudio fue la especie *Lippia organoides* perteneciente a la familia Verbenaceae.

De igual manera Hurtado (2000) afirma que: “La muestra es una porción de la población que se toma para realizar el estudio, la cual se considera representativa” (p.154). La muestra en investigación se obtuvo con el extracto etanólico de la planta *Lippia organoides* en donde se ratificó su propiedad antibacteriana.

Procedimiento de la investigación

Material botánico

Especie: *Lippia origanoides* Kunt.

Recolección

El material botánico fue recolectado en el mes de abril en el año 2018, en el sector la Huerta San Juan de Lagunillas, parroquia San Juan en el Municipio Sucre del estado Mérida, Venezuela a 1059 m s.n.m; el material fue determinado por el Dr. Pablo Meléndez, en el herbario MERF en la facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes. Una muestra testigo fue depositada bajo el código 611.

Preparación del material botánico

El material botánico fresco (3 kg) recolectado se dejó secar en estufa a 40°C, luego se molió y se pesó obteniéndose un total de 200 gramos de hojas y 650 gramos de tallos, de material molido y seco.

Métodos

Extracción por maceración a temperatura ambiente

El material molido y seco se sometió a extracción por maceración a temperatura ambiente usando etanol como solvente extractor. Se dejó por 4 días en un lugar protegido de la luz, luego se cambió el solvente contentivo del extracto por solvente nuevo y se prosiguió con la maceración por 4 días más hasta lograr el agotamiento del material botánico.

Obtención del extracto concentrado

El extracto etanólico se sometió a concentración en un rotavapor a presión reducida a una temperatura de aproximada de 55 °C hasta sequedad. Se obtuvo un extracto concentrado de 30 gramos para las hojas y 50 gramos de los tallos; los extractos fueron trasvasados a envases color ámbar previamente pesados y rotulados. Se guardaron en la nevera a 4°C hasta la realización de las pruebas de actividad antibacteriana. Se obtuvo una concentración inicial para el ensayo de: hojas 266 mg/mL y tallos 500 mg/mL.

Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto

La actividad antibacteriana del extracto se realizó por medio del método de difusión en agar con disco de papel filtro. Dicho procedimiento se ejecutó en el Laboratorio de síndromes gastrointestinales y urinarios “Dra Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la asesoría de la Dra Judith Velasco.

Microorganismos usados en el ensayo

Las cepas bacterianas en estudio y controles correspondientes fueron proporcionadas y debidamente caracterizadas, en el Laboratorio de síndromes gastrointestinales y urinarios “Dra Luisa Vizcaya” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, del Estado Mérida. Las especies bacterianas utilizadas están reflejadas en la Tabla 3.

Tabla 3. Especies bacterianas sometidas a la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y tallos de *Lippia origanoides*.

Cepas utilizadas	Código
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 23357
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC29212
<i>Eschericha coli</i>	ATCC 25922

Preparación de los medios de cultivo

Se agregó 20 mL aproximadamente del preparado Agar Müeller Hilton en las placas de Petri esto se dejó solidificar a temperatura ambiente, seguidamente se hizo el control respectivo de esterilidad y se llevó el material preparado a la estufa con una temperatura de 37°C para luego ser refrigerados a una temperatura de 4°C hasta su uso.

Preparación de los inóculos bacterianos

Los inóculos bacterianos fueron preparados a partir de un medio de cultivo básico en su fase exponencial. Para ello se usó un asa de aro donde se capturaron cantidades pequeñas de colonias las cuales fueron suspendidas en solución salina fisiológica estéril, hasta lograr la turbidez semejante al patrón 0,5 de McFarland.

Disposición de los discos

Se utilizaron discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, los cuales fueron esterilizados antes de la preparación del inóculo bacteriano, a través

de su exposición a la UV durante una hora. Seguidamente fueron impregnados con 10 µL del extracto de *Lippia origanoides*. Como control se usaron discos de antibióticos OXA: Oxacilina® (10 µg; BBL™); VA: Vancomicina® (30 µg HIMEDIA); AMX: Amoxicilina® (30 µg HIMEDIA); CFM: Cefixima® (5 µg; BBL™); PIP: Piperacilina® (100 µg; BBL™) correspondiente a los establecidos para cada tipo microorganismo ensayado.

Incubación

El proceso de pre-incubación del agar inició por 30 minutos a temperatura ambiente y luego se procedió a incubar a 37°C por 18 horas.

Lecturas de las pruebas de susceptibilidad

Después del proceso de incubación, se realizó la medición de los halos de inhibición, se comenzó con los controles que corresponden a los antibióticos comerciales, estos representan los controles positivos y los resultados se cotejan con los valores establecidos por el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, por sus siglas en inglés).

Una vez que se confirmaron los resultados el siguiente paso fue medir los halos de inhibición de los discos impregnados con el extracto para determinar si las bacterias con las que se trabajó eran sensibles o resistentes al mismo.

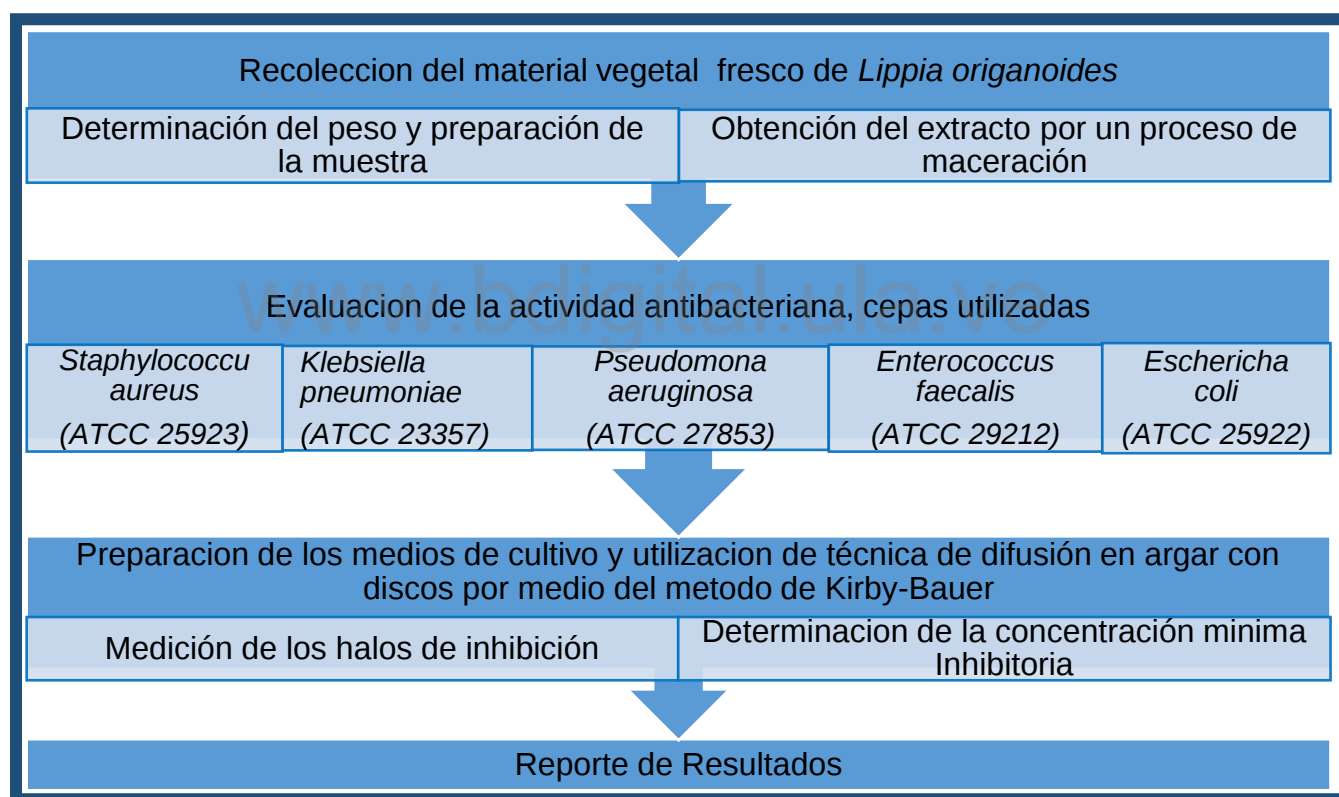
Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

La determinación de la CIM se hizo en las cepas bacterianas que mostraron un halo de inhibición con la técnica de barrido por el método de difusión en agar. Se realizaron disoluciones del extracto con DMSO y se impregnaron los discos con 10 µL de estas preparaciones. Los inóculos

bacterianos y la preparación de los medios de cultivo se realizaron con la metodología anteriormente descrita.

Procedimientos y Metodología

Procedimientos de la investigación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y tallos de la especie *Lippia origanoides* (Verbenaceae) en cepas de referencia ATCC.



Esquema 1. Diseño Experimental.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez llevados a cabo todos los procedimientos anteriormente descritos se obtuvieron los resultados referentes a la investigación con respecto al rendimiento del extracto etanólico de hojas y tallos de la especie *Lippia origanoides* y su capacidad antibacteriana, siendo los datos y cálculos los siguientes:

Tabla 4. Pesos de las hojas, tallos y del extracto etanólico de la especie *Lippia origanoides*.

Peso seco de hojas	200g
Peso seco de tallos	650g
Peso del extracto concentrado de hojas	30g
Peso del extracto concentrado de tallos	50g

Cálculos:

Fórmula para hallar el rendimiento del extracto

$$\frac{\text{Extracto concentrado} \times 100\%}{\text{Peso seco}}$$

Rendimiento del extracto etanólico de hojas de *Lippia origanoides*

$$\frac{30\text{g} \times 100\%}{200\text{g}} = 15\%$$

Rendimiento del extracto etanólico de tallos de *Lippia origanoides*

$$\frac{50\text{g} \times 100\%}{650\text{g}} = 7,69\%$$

De acuerdo a los cálculos formulados, el rendimiento del extracto etanólico hecho a partir de las hojas de la especie *Lippia origanoides* fue de 15% cifra que es mayor en comparación a los tallos cuyo rendimiento fue 7,69%.

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana del extracto fue ensayada por medio de la técnica de difusión en agar con disco de papel filtro cuyo diámetro fue de 6 mm. El extracto de *Lippia origanoides* fue probado en este estudio frente a cepas control ATCC. (Tablas 5 y 6)

Tabla 5. Actividad antibacteriana del extracto de *Lippia origanoides*.

Cepas utilizadas	Extracto concentrado Halo de inhibición (mm)		CIM (mg/mL)	
	Hojas	Tallos	Hojas	Tallos
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	22	20	70	100
<i>E.faecalis</i> ATCC29212	SA	SA	-	-
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 23357	SA	SA	-	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	SA	SA	-	-
<i>E.coli</i> ATCC 25922	SA	SA	-	-

SA: Sin actividad
(-): No se realizó el ensayo

Tabla 6. Antibióticos control usados en el ensayo del extracto de *L. origanoides*. Halos de inhibición (mm)

Cepas Utilizadas	OXA mm	VA mm	AMX mm	CFM mm	PIP mm
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	22	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC29212	-	25	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	46	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	-	-	-	28	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	27

OXA: oxacilina® (10µg; BBL™); VA: Vancomicina® (30µg HIMEDIA); AMX: Amoxicilina® (30µg HIMEDIA); CFM: Cefixima® (5µg; BBL™); PIP: Piperacilina® (100µg; BBL™).

Al observarse los resultados expresados en la Tabla 5 se puede apreciar que las hojas de *Lippia origanoides* mostraron mejor actividad antibacteriana a menor concentración, con una CIM de 70 mg/mL en comparación a los tallos de la misma especie que mostraron una CIM de 100 mg/mL.

Diversos estudios han reportado la actividad antibacteriana de extractos pertenecientes a la especie *Lippia origanoides*, por esta razón se compara la actividad antibacteriana definida en este estudio con especímenes de su mismo género y especie.

La investigación titulada actividad antimicrobiana *In vitro* de los aceites esenciales y diferentes extractos orgánicos extraídos de la planta medicinal *Lippia alba* (2018), describe la capacidad antibacteriana de *L. alba* frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, donde presentó un halo de inhibición de crecimiento bacteriano entre el rango de 6 a 23 mm, similar a la capacidad antibacteriana de la *Lippia origanoides* que mostró un halo de

inhibición de 22 mm para hojas y 20 mm en el caso de tallos, para bacterias Gram-positivas.

En este sentido el autor Rúa *et al.*, (2019) en su investigación “Eficacia antimicrobiana del extracto natural de *Lippia citriodora* contra *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* en el jugo de melón “Piel de sapo.”” mostraron resultados favorecedores en la inhibición de bacterias como *E.coli* con una CIM 4,444 µg / mL (35°C) y para *E. faecalis* de 3,352 µg / mL (35°C) , lo que es contrario al estudio de la especie *Lippia origanoides*, que no presentó ningún tipo de actividad inhibitoria frente a cepas de *E.coli* y *E. faecalis*.

De igual forma la investigación “Actividad antimicrobiana de especies de *Lippia* proveniente de la región semiárida brasileña usada tradicionalmente como antiséptico y agente antiinfeccioso”, realizada por Cristiana da Purificação Pinto *et al.*,(2013), evaluaron las capacidades antimicrobianas de diferentes especies pertenecientes al género *Lippia* observando resultados beneficiosos, pues las hojas de *L. origanoides* exhibieron una acción antimicrobiana de amplio espectro al inhibir el crecimiento de dos bacterias Gram-positivas y dos levaduras.

Esta actividad también fue confirmada debido a que los extractos de plantas con CIM $\leq 2,631$ mg·mL⁻¹ se consideraron agentes antimicrobianos activos. Este estudio concuerda con los resultados de la presente investigación donde se observó la inhibición de cepas de *Staphylococcus aureus*, a partir de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Lippia origanoides*.

En este orden de ideas el estudio titulado Fitoquímica de *Lippia Citriodora* K cultivada en Ecuador y su actividad biológica (2019) expusieron que todos los extractos metanólicos mostraron una acción bactericida alta contra cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, a

excepción del extracto de las flores que exhibió una actividad antibacteriana moderada o mediana contra cepas de *S. aureus*. Las investigaciones concuerdan en la capacidad antibacteriana que poseen las especies pertenecientes al género *Lippia* frente a cepas de *S. aureus*,

En el caso de *L. citriadora* planta en estudio de la investigación de Vélez *et al.*, (2019), el extracto del tallo fue el que mostró mayor actividad antibacteriana contra todas las cepas ensayadas, al presentar halos de inhibición superiores a los 15 mm a una concentración de 20 mg. ml⁻¹, mientras que en la presente investigación se presentaron halos de inhibición entre 20-22mm para los extractos de hojas y tallos a una concentración de 70mg/mL y 100mg/mL, respectivamente, frente a cepas de *S. aureus*.

En el primer caso los porcentajes de rendimiento de extracción de hojas, tallos y flores secas de *L. citriadora*, fue de 11,81% para las flores seguido de las hojas que presentaron un 7,18% y el del tallo mostró el rendimiento más bajo con respecto a todos los extractos obtenidos, con un porcentaje de extracción de 3,78%. En el caso de *L. origanoides* los porcentajes de rendimiento del extracto fueron de 15% para las hojas y 7,69% para los tallos.

La medicina alternativa es importante como segunda opción a la medicina tradicional, se conoce que existen dolencias o enfermedades más graves que no se solucionarían por esta vía ya que requieren intervenciones o cuidados más profundos, sin embargo pueden ser útiles para tratar condiciones no tan graves como resfriados, problemas de digestión, trastornos de ansiedad, entre otros.

Una ventaja del uso de productos naturales es que estos son menos agresivos para el cuerpo humano, promueven el bienestar general, no tiene efectos a largo plazo además de ser económicos.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El extracto etanólico de la especie *L. origanoides* se probó en varias cepas de bacterias ATCC Gram-positivas y Gram-negativas con la intención de demostrar la actividad antibacteriana de la misma, en los resultados obtenidos se evidenció que esta especie posee la capacidad de impedir el crecimiento de cierto tipo de bacterias.

Se obtuvo el extracto de hojas y tallos de la especie *Lippia origanoides* con las características fisicoquímicas y organolépticas como aspecto y color característico, el cual presentó un rendimiento del 15% para las hojas y 7,69% para los tallos. El extracto inhibió el crecimiento bacteriano de cepas Gram positivas específicamente *S. aureus*, a una Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) en hojas de 70mg/mL y tallos 100mg/mL.

Los resultados expresados en esta investigación muestran como una posible alternativa terapéutica para infecciones bacterianas causadas por *S.aureus*, ya que con el paso del tiempo esta bacteria Gram positiva ha puesto en manifiesto la resistencia a antibióticos, desarrollando diversos mecanismos de defensa tanto intrínsecos como adquiridos para conseguir resistencia a múltiples antimicrobianos.

Recomendaciones

Se sugiere realizar ensayos fitoquímicos, para confirmar los posibles compuestos químicos que puede presentar los extractos de hojas y tallos, además de usar diferentes solventes y así determinar cuál es el más óptimo para mejorar el rendimiento del extracto.

De igual manera se recomienda estudiar otras actividades biológicas que pueda presentar el extracto, tales como, antifúngicas, larvicidas, antiparasitarias, entre otras; así mismo se indica realizar pruebas de toxicidad para determinar si es viable la utilización del extracto de *Lippia origanoides* y en que concentraciones.

www.bdigital.ula.ve

Referencias

- Alvo A., Télle V., Sedano C., Finca A. (2016). Conceptos básicos para el uso racional de antibióticos en otorrinolaringología. **Revista de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello**, 76: 136- 147.
- Andrade N. (2015). Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lippia origanoides* y Sinergismo en Combinación con Timol. (Trabajo de Investigación). Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.
- Arredondo, J., Echeguren, A., Arzate, P., & Medina, J. (2018). Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium* en un hospital de tercer nivel. **Revista. Latinoamericana de Infectología Pediátrica**, 31 (2), 56-61.
- Bastidas Y., & Vaca J. (2018). CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA PROVENIENTES DE SUELOS DE LOS CANTONES QUITO Y RUMIÑAHUI (Trabajo de investigación). Universidad Politécnica Salesiana. Quito.
- Benvenuto V. (2017). Determinación de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde. (Trabajo de investigación). Universidad de Ricardo Palma, Perú.
- Brooks G., & Carrol K. (2013). Bacteriología. En T.Mietzner., S. Morse., J. Butel., K. Carroll y G. Brooks. (Eds.), *Microbiología médica* (pp.145 - 371). México: Mc Graw Hill.
- Carrión J., & Garcia C. (2010). “Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica” (Trabajo de investigación). Universidad de Cuenca. Ecuador.

- Castañeda M., Muñoz A., Martínez J., & Stashenko E. (2007). Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. **Scientia Et Technica**, XIII (033), 165-166.
- Castellanos M., & Perozo A., (2010). Mecanismo de resistencia a antibióticos β -lactámicos en *Staphylococcus aureus*. **Kasmera**, 38 (1) 18-35.
- Celis A., Mendoza C., & Pulido M. (2012) Plantas aromáticas silvestres de la región del Sumapaz (Cundinamarca). (Trabajo de investigación). Universidad de Cundinamarca. Colombia.
- Celis C., Escobar P., Hipólito J., Stashenko E., & Martínez J. (2007). Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *Phyla dulcis*, especies de la familia Verbenaceae. **Scientia et Technica**, 1 (33), 103-105.
- Cervantes E., Garcia R., & Salazar P. (2014). Características generales de *Staphylococcus aureus*. **Revista. Latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio**, 61 (1): 28-40.
- Cruz J. (2007). Más de 100 plantas medicinales. (Trabajo de investigación). Las Palmas de Gran Canaria-España.
- Da Purificação C., Rodrigues V., da Purificação F, da Purificação R., Trovatti A, Ribeiro C., Magalhães S., dos Santos T., & Lucchese A. (2013). Antimicrobial Activity of *Lippia* Species from the Brazilian Semiarid Region Traditionally Used as Antiseptic and Anti-Infective Agents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, vol 2013, 1-5. Doi: <https://doi.org/10.1155/2013/614501>

- Delgado J., Sánchez M., & Bonilla C., (2016). Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson y *Lippia organoides* Kunth. **Acta Agronómica**, 65 (2), 1-8. Doi: 10.15446/acag.v65n2.47576
- Fernández F., De la Fuente J., Rubianes M., Pérez S., Álvarez M., Nodar A., Sopeña B., & Martínez C. (2004). Bacteriemia por *Enterococcus faecalis*. **Revista Clínica Española** 204 (5): 244-250. Doi.org/10.1016/S0014-2565 (04)71449-6
- García C. (2006). Actividad Antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. (Tesis). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.
- González A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. (Trabajo de investigación). Universidad Nacional de Colombia. Colombia.
- Guerra E. (2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. (Trabajo de investigación). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Güven K., & Dag Ørstavik. (2004). Virulence Factors of *Enterococcus faecalis* Relationship to Endodotic Disease. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine** 15 (5):308-320.
- Henao J., Muñoz L., Ríos E., Padilla L., & Giraldo G., (2009). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta *Lippia*

origanoides H.B.K cultivada en el departamento de Quindio. **Revista de Investigaciones-Universidad del Quindio** (19) 159-164.

Hurtado J. (2000). Fases predictivas y proyectiva del proceso metodológico: La viabilidad de la investigación y los criterios metodológicos. (Eds), *Metodología de la Investigación Holística* (pp. 137-165). Caracas Venezuela: Fundación Sygal.

Islam M., Amin M., Ahmed M., Khatun S., Rahman M., Siddiqui S., Rahman M., Kudrat-E-Zahan M., & Mannan M.(2018). *In vitro* Antimicrobial Activity of Essential Oils and Different Organic Extracts of *Lippia alba*. **Journal of Phytochemistry & Biochemistry**. 2 (1): 1-5

Ismail, A., & Pierson, M. (1990). Effect of sodium nitrite and origanum oil on growth and toxin production of *Clostridium botulinum* in TYG broth and ground pork. **Journal of Food Protection** 53 (11): 958-960

Lim J., Yoon J., & Hovde C. (2013). A Brief Overview of *Escherichia coli* O157:H7 and Its Plasmid O157. **Journal of Microbiology and Biotechnology** 20 (1): 5-14.

López J., & Echeverri L. (2010). *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismo de resistencia. **IATREIA** 23 (2): 157-165.

Marcén J. (2000). Antimicrobianos naturales. **Medicina Naturista** 2: 104-108

Núñez M. (2007). Las variables: Estructuras y Función en la Hipótesis. **Investigación Educativa**, 11 (20): 163-179.

Ocares M. (2012), Acción antimicrobiana de extractos crudos de especies de plantas nativas sobre *Escherichia coli* y *Salmonella* spp (Trabajo de investigación).Universidad Austral de Chile, Chile.

Pachay S. (2018). Las infecciones bacterianas y su resistencia a los antibióticos. Caso de estudio: Hospital Oncológico “Dr. Julio Villacreses Colmont Solca”, Portoviejo. **Universidad y Sociedad**. 10 (5), 219-223.

Pascual D., Pérez Y., Morales I., Castellanos I., & González E., (2014) Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. **Revista Medica de Santiago de Cuba**. 18(10):1467-1474.

Paz V., Mangwani S., Martinez A., Álvarez D., Gálvez S., & Vázquez R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. **Revista Chilena de Infectología**, 36 (2):180-189.

Pérez C., Torres C., & Núñez M. (2018). Actividad antimicrobiana y composición química de aceites esenciales de especies de Verbenaceae que crecen en América del Sur. **Revista Moléculas**, 23 (3), 544-554.

Pérez R, & Veloz R. (2016). Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de los frutos verdes de *Genipa americana* L. de República Dominicana (Trabajo de investigación). Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña. República Dominicana.

Ramírez L., Isaza J., Veloza L., Stashenko E., & Marín D. (2009). Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Lippia origanoides* de diferentes orígenes de Colombia. **CIENCIA** 17(4), 313-321.

- Rúa J., López I., Sanz J., Fernández P., Garcia M., & Garcial M. (2019). Antimicrobial efficacy of *Lippia citriodora* natural extract against *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* in “Piel de sapo” melon juice. ***Food Science & Nutrition***, (7): 3986-3992.
- Salvador G., Garcia R., & González E. (2018). Caracterización de metalo- β -lactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados de pacientes hospitalizados en el hospital militar central. ***Revista Peruana de Medicina Experimental Salud Pública***, 35 (4): 636-641.
- Stashenko E., Martínez J., Durán D., Córdoba Y., & Caballero D. (2014). Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. ***Revista Académica Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales***, 38 (Supl.), 89-105. Doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.156>
- Sulca T. (2010). Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Acmella repens* (Botoncillo), *Urtica dioica* (Ortiga negra) y *Sonchus oleraceus* (Kana yuyo), plantas registradas en la parroquia La esperanza-Imbabura, sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*, causantes de enfermedades bucofaríngeas. (Trabajo de investigación). Escuela politécnica del ejército Departamento de ciencias de la vida ingeniería en biotecnología. Sangolqui. Ecuador.
- Usano J., Palá J., y Díaz S. (2014). Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. ***Reduca***, 7 (2), 60-70.

- Vásquez D. (2012). El orégano de monte (*Lippia origanoides*) del Alto Patía: Efecto del método de obtención de sus extractos sobre la composición y la actividad antioxidante de los mismos (trabajo de investigación). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Vélez E., D' Armas H., Jaramillo C., Echavarría A., Chinwe I. (2019). Fitoquímica de *Lippia citriadora* K. cultivada en Ecuador y su actividad biológica. **Ciencia UNEMI (Universidad Estatal de Milagro)**, 12 (29) 09-19.
- Vera A. (2003). Infusiones heladas como bebidas alternativas en el mercado nacional (Trabajo de investigación). Universidad de Piura. Perú.

www.bdigital.ula.ve