

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

CARRERA DE FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIBACTERIAL FRENTE A (*KLEBSIELLA
PNEUMONIAE, SALMONELLA TYPHI, ESCHERICHIA
COLI, STAPHYLOCOCCUS AUREUS*) DE LA PLANTA
ARVENSES COSTARRICENSE *URTICA DIOICA*
(ORTIGA DE COSTA RICA)**

ALEJANDRA CHAVES CRUZ

**TUTOR: LIC. JAVIER RODRIGO ALPÍZAR
CORDERO**

SAN JOSÉ, COSTA RICA, DICIEMBRE 2020

Tabla de contenido

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	15
Planteamiento del problema	15
Hipótesis de la investigación	17
OBJETIVOS.....	18
Objetivo General	18
Objetivos Específicos	18
JUSTIFICACIÓN.....	19
ANTECEDENTES	21
Antecedentes Históricos	21
Antecedentes Internacionales	22
Antecedentes Nacionales.....	25
PROYECCIONES.....	27
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	28
Historia y evolución de las bacterias	28
Generalidades de las bacterias.....	32
Tipos de Bacterias Gramnegativas para estudio.....	37
Familia <i>Enterobacteriaceae</i>	37
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	39
Aspectos patogénicos	40
Resistencia antimicrobiana por <i>Klebsiella pneumoniae</i>	42
Infecciones asociadas a <i>klebsiella pneumoniae</i>	43
<i>Escherichia coli</i>	44
Aspectos patogénicos	45
<i>Escherichia coli enterotoxigénica (ECET)</i>	47

<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (ECEH)	48
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	49
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena (ECEP)	50
<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (ECEA)	52
<i>Escherichia coli</i> de adherencia difusa (ECAD).....	53
Resistencia antimicrobiana por <i>Escherichia coli</i>	54
Infecciones asociadas a <i>Escherichia coli</i>	57
<i>Salmonella typhi</i>	58
Aspectos patogénicos	59
Resistencia antimicrobiana por <i>Salmonella typhi</i>	60
Infecciones asociadas a <i>Salmonella typhi</i>	61
Tipo de Bacteria Grampositiva para estudio	62
<i>Staphylococcus aureus</i>	62
Aspectos patogénicos	64
Resistencia antimicrobiana por <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Infecciones asociadas a <i>Staphylococcus aureus</i>	67
Pruebas y Análisis microbiológicos para el diagnóstico de las infecciones.....	68
Frotis y cultivos	68
Agar Baird-Parker	69
Agar Manitol-Sal	70
Agar MacConkey	70
Agar sangre.....	71
Plantas Medicinales.....	72
Generalidades de la planta <i>Urtica dioica</i>	73
Fitoquímica de la planta	76
Actividad Farmacológica.....	78

Tamizaje Fitoquímico.....	80
Metabolitos secundarios	80
Alcaloides	81
Flavonoides	82
Taninos	83
Saponinas.....	84
Fenoles.....	84
Terpenos	86
Cumarinas.....	87
Métodos de extracción.....	88
Destilación a presión reducida (Rota vapor)	88
Extracción líquido-líquido mediante embudo separador.....	89
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	90
Enfoque de la investigación.....	90
Diseño de la investigación.....	90
Variables de la investigación.....	92
Instrumentos, materiales y equipos usados para la realización de los extractos de <i>Urtica dioica</i>	93
Fraccionamiento de la planta <i>Urtica dioica</i>	93
Materiales y Equipos	93
Reactivos	94
Procedimientos y recursos.....	95
Concentración del extracto por destilación con presión reducida.....	97
Fraccionamiento de los componentes de la planta <i>Urtica dioica</i>	97
Extracción con Hexano, diclorometano y acetato de etilo.	97
Extracción con éter etílico.	98

Extracto Acuoso	99
Extracto Etéreo	99
Pruebas de identificación para el tamizaje fitoquímico.....	101
Prueba de Dragendorff (identificación de alcaloides).....	102
Prueba de identificación de cumarinas (KOH).....	102
Prueba de identificación de flavonoides (Shinoda).....	103
Prueba de Liberman Burchard (Identificación de triperpenos y esteroides)	103
Prueba de Taninos (Identificación de Taninos).....	104
Prueba de Borntrager-Kraus (Identificación de antraquinonas).....	104
Prueba de Cromatografía de capa fina TLC (Determinación de Terpenos)	105
Prueba de Lugol (Determinación de Almidón).	106
Prueba de Benedict (Determinación de azúcares reductores)	106
Prueba de Espuma (Determinación de saponinas)	107
Pruebas microbiológicas para la evaluación de la capacidad antibacteriana de los diferentes extractos de <i>Urtica dioica</i>	107
Materiales y Equipo.....	107
Reactivos.	107
Concentración y dilución de los extractos de la planta <i>Urtica dioica</i>	108
Cultivo de cepas Bacterianas en Laboratorio Microlabs.....	109
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS	113
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	143
Conclusiones	143
Recomendaciones	146
REFERENCIAS	148

Tabla de figuras

Figura 1. Formas bacterianas más comunes.....	33
Figura 2. Comparación entre célula Procariota y Eucariota.....	34
Figura 3. Célula Procariota.....	35
Figura 4. Célula Eucariota.....	36
Figura 5. Bacteria <i>Klebsiella pneumoniae</i> , cápsula bacteriana que rodea a <i>Klebsiella pneumoniae</i> teñida de rojo	40
Figura 6. <i>Escherichia coli</i> vista por medio de Tinción de Gram.	44
Figura 7. <i>Salmonella typhi</i> con flagelos visibles.....	59
Figura 8. Tinción de Gram mostrando <i>Staphylococcus aureus</i> en tétradas o racimos.....	63
Figura 9. Ejemplo de medio selectivo Agar Manitol sal, lado derecho de la placa muestra la reacción de <i>S. aureus</i> patógeno que usa manitol amarillo.....	70
Figura 10. Fotografía de la planta <i>Urtica dioica</i>	74
Figura 11. Partes de la planta de <i>Urtica dioica</i>	75
Figura 12. Estructura química del fenol.	85
Figura 13. Propiedades organolépticas atribuidas a los compuestos fenólicos.....	85
Figura 14. Estructura química del isopreno.....	87
Figura 15. Estructura química general de las cumarinas.....	87
Figura 16. Equipo de destilación a presión reducida (rotavapor).....	89
Figura 17. <i>Urtica dioica</i> para la realización del extracto.....	95
Figura 18. Recipiente con el material en maceración y equipo para filtración al vacío del material macerado de la planta <i>Urtica dioica</i> (Ortiga).....	96
Figura 19. Extractos obtenidos del fraccionamiento, en recipientes y rotulados.	98
Figura 20. Extractos obtenidos, rotulados y en sus respectivos recipientes.....	100
Figura 21. Pruebas para realizar por cada extracto obtenido, para llevar a cabo el tamizaje fitoquímico	101
Figura 22. Dimensiones de una placa cromatográfica para TLC y Sistema cromatográfico.....	106
Figura 23. Muestras de los extractos listos, a las diversas concentraciones (100%, 50% y 25%) y su blanco respectivo.....	109

Figura 24. Preparación de las placas para la realización del ensayo microbiológico.....	110
Figura 25. Cepas bacterianas utilizadas para el ensayo microbiológico.	111
Figura 26. Incubadora utilizada para el ensayo microbiológico, a 37 °C.	111
Figura 27. Planta de <i>Urtica dioica</i> , lavada, secada y cortada, lista para la obtención del extracto.	114
Figura 28. Extractos de hexano, diclorometano, acetato de etilo y acuoso, obtenidos en el fraccionamiento del extracto crudo la planta de <i>Urtica dioica</i>	115
Figura 29. Aplicación de pruebas de identificación de Alcaloides con reactivo Dragendorff, extractos: Etéreo, AQ1 y AQ2E.	121
Figura 30. Aplicación de pruebas de identificación de flavonoides con reactivo.	122
Figura 31. Aplicación de pruebas de identificación de Cumarinas con reactivo KOH, extractos: AQ2E y Etéreo.	123
Figura 32. Aplicación de pruebas de identificación de Triterpenos y Esteroles con reactivo de Liberman Burchard, extractos: Etéreo y AQ2E.	124
Figura 33. Aplicación de pruebas de identificación de Antraquinonas con reactivo de Borntrager- Kraus, extractos: Etéreo, AQ2E y AQ2.	125
Figura 34. Aplicación de pruebas de identificación de Taninos, extractos: AQ1 y Etéreo	125
Figura 35. Aplicación de prueba de identificación de terpenos por medio de cromatografía de capa fina, reveladas con vainillina.	126
Figura 36. Aplicación de prueba de identificación de almidón con reactivo de Lugol, extracto: AQ1.	127
Figura 37. Aplicación de prueba de identificación de Saponinas (Espuma), extracto: AQ1.	128
Figura 38. Aplicación de prueba de identificación de azúcares reductores con reactivo de Benedict, extracto: AQ1.	129
Figura 39. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i>	131
Figura 40. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	133
Figura 41. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de <i>Salmonella typhi</i>	136
Figura 42. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i>	139

Cuadro de tablas

Tabla 1. Cuadro de Clasificación de la Familia Enterobacteriaceae	38
Tabla 2. Factores de virulencia especializados asociados a <i>Escherichia coli</i>	46
Tabla 3. Resumen de los tipos de <i>E. coli</i> enteropatógenos	54
Tabla 4. Principales mecanismos de resistencia antibiótica estudiados en <i>E. coli</i>	56
Tabla 5. Diferencias entre cepas de <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina hospitalarias (HA-MRSA) y cepas de <i>S. aureus</i> resistente a meticilina adquiridas en comunidad (CA-MRSA)	66
Tabla 6. Tipos de medios de cultivo.....	72
Tabla 7. Taxonomía de la planta <i>Urtica dioica</i>	73
Tabla 8. Componentes de la planta <i>Urtica dioica</i> en forma generalizada.....	76
Tabla 9. Composición química de <i>Urtica dioica</i>	77
Tabla 10. Flavonoides, estructura básica y tipos	82
Tabla 11. Operacionalización de variables de la investigación.....	92
Tabla 12. Características organolépticas y cantidad obtenida de los extractos obtenidos a partir del fraccionamiento de la planta <i>Urtica dioica</i> (Ortiga).....	116
Tabla 13. Masas de las variables por cada extracto y obtención de la concentración de los extractos preparados	117
Tabla 14. Resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico realizados a los diversos extractos de la planta <i>Urtica dioica</i>	118
Tabla 15. Tipos de metabolitos detectados mediante el tamizaje fitoquímico en la planta de <i>Urtica dioica</i>	120
Tabla 16. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de <i>Urtica dioica</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	132
Tabla 17. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de <i>Urtica dioica</i> frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i>	134
Tabla 18. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de <i>Urtica dioica</i> frente a <i>Salmonella typhi</i>	137
Tabla 19. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de <i>Urtica dioica</i> frente a <i>Escherichia coli</i>	139

Tabla 20. Resumen de resultados antibacteriales positivos, frente a las bacterias estudiadas con respecto a los extractos utilizados en la investigación.	140
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a Dios y la Virgen, que sin ellos no hubiera llegado hasta donde estoy el día de hoy, por levantarme cada vez que caí en este camino, y por darme la fortaleza que necesitaba siempre para seguir luchando ante todas las dificultades que se presentaban; solo Dios sabe lo que se pasa en tantos años de sacrificio.

A mi papá, Walter Chaves, por ser mi súper papá, mi ejemplo a seguir y mi pilar, por darme la bendición del estudio y de todas las implicaciones que conllevan estudiar lejos de casa, por enseñarme que, si se acepta un reto, sea el que sea, se debe terminar a como dé lugar, que nunca se debe dejar botado nada. ¡Te amo, pa!

A mis papis, Manuel Cruz y Emilce Solano, que desde el día que empecé a vivir con ellos aceptaron todos los retos que he tomado como si fueran de ellos; por estar siempre ahí a pesar de todo, y que siempre confiaron en mí, y que sabían que de una u otra forma lo iba a lograr. Para ellos es un orgullo saber que lo logré, ¡los amo!

Le agradezco a mi prima Laura Chaves que, aunque a veces ni entendía de qué hablaba ella siempre estaba para darme ánimo; ha sido incondicional en el camino, desde las fiestas, enfermedades, estudio y, en resumen, es una hermana y un ángel que Dios me ha dado en San José.

Quiero agradecer a un ángel que tengo en el cielo, doña Maru; ella sabía que lo iba a lograr y anhelaba verme en este momento, pero los planes de Dios son perfectos y decidió llevársela antes; desde el cielo me ve, eso lo sé, y fue la abuela que Dios me dio aquí en San José.

A mi prima Tatiana Vásquez, gracias por aguantarme en mis momentos de ansiedad, y darme siempre buenos consejos; desde niñas juntas viviendo cada etapa, eso nunca se olvidará.

Tengo buenos amigos, como lo son Paulo Calvo y Josué Serracín, mi Susan quien ha sido mi compañero fiel desde el día uno de la U, ha sido como un hermano. Estos dos han sido mis compañeros desde el primer cuatrimestre de la universidad, los que estuvieron en toda la aventura

y con los que inicié y estoy terminando; ellos saben todo lo que hemos pasado y cómo hemos dudado, ¡gracias, chiquillos!

Le agradezco a mi tutor, Javier Alpízar, por la paciencia y el acompañamiento en esta última etapa tan importante.

La universidad me dejó muchísimos momentos que no voy a olvidar y amistades que han estado y que se han ido; desde las sufridas por los estudios hasta el montón de fiestas y recuerdos hermosos con personas que de una u otra forma fueron especiales. Gracias por hacer de esta experiencia menos agotadora, y que todo tuviera un sentido. También solo diré gracias a Noely y Anita, que en cinco años se vivió tanto.

Dedicatoria

Este trabajo de graduación se lo dedico a Dios y la Virgen, por no abandonarme y darme la fortaleza.

Se lo dedico a mi papá, primeramente, que su chiquita lo logró, aunque no era lo que él planeaba que estudiara, pero aun así lo hago orgulloso graduándome. Gracias por trabajar tan duro día a día para darme todo durante estos 23 años; eres mi gran ejemplo de humildad y de esfuerzo.

A mis papis, gracias por los valores inculcados, y que ahora orgullosos pueden decir que tienen una farmacéutica como nieta.

Y también me lo dedico, porque dudé muchas veces de mis capacidades; fui contra corriente en muchos momentos; caí muchas veces; cada vez que estaba lejos de casa y de lo que yo más quiero y me gusta; dudaba en seguir, así que es un logro y mi primer meta cumplida, de la cual me siento orgullosa.

Resumen

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la actividad antibacterial frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* de la planta arvenses costarricense *Urtica dioica* (Ortiga de Costa Rica).

Para llevar a cabo esta investigación, se realizaron los procedimientos de la extracción e identificación de la planta *Urtica dioica* en los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas (UIA), y las pruebas microbiológicas se llevaron a cabo en el Laboratorio Microbiológico Microlabs, ubicado en Guadalupe, San José.

Por medio de esta investigación, se alcanza a resolver y seguir resolviendo la problemática relacionada con la resistencia a los antibióticos mostrada por las bacterias, generando una nueva alternativa farmacológica a base de plantas medicinales.

Para la obtención del extracto se realizó por medio de maceración de la planta, y para eliminar el exceso de etanol se llevó a rotación por vapor; además, se realizaron pruebas de caracterización química para la determinación de metabolitos secundarios presentes en el extracto, grupos como taninos, alcaloides, fenoles, terpenos, esteroides, flavonoides, saponinas, cumarinas y otros. Se realizaron los extractos de acetato de etilo (300 mL), hexano (200 mL), diclorometano (190 mL) y acuoso (90 mL), y se obtuvo la concentración de cada uno.

Se evaluó la actividad antibacterial de los cuatro extractos frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*, mediante el método de difusión radial o método de pocillo, obteniéndose la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada extracto frente a cada bacteria.

Para la bacteria *Staphylococcus aureus* se obtuvo una actividad negativa ante los extractos diclorometano, acetato de etilo, hexano y acuoso. Por otra parte, los halos de inhibición de los extractos diclorometano y acetato de etilo frente a *Klebsiella pneumoniae* fueron de 1 mm y 8 mm respectivamente. El extracto de acetato de etilo mostró halo de inhibición de 7 mm, mientras que

los extracto hexano, acuoso y diclorometano no mostraron actividad, frente a *Salmonella typhi*. Por último, para la bacteria *Escherichia coli*, se obtuvieron resultados positivos de inhibición de los extractos acetato de etilo halo de inhibición 11 mm, y para el acuoso halo de inhibición de 12 mm.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

Los patógenos, tales como bacterias y hongos, producen diversos problemas para la salud de las personas, lo cual hoy en día es preocupante, por la cantidad creciente de estos casos. Esta investigación se basa en específico en cuatro tipos de bacterias y el cómo el extracto de las plantas naturales, en este caso *Urtica dioica*, sería una buena alternativa frente a estos patógenos, por lo cual se hablará sobre algunas problemáticas que presentan los patógenos para las personas, y cómo buscar una alternativa en las plantas medicinales. (Echevarría, 2010).

Según Echevarría, (2010) en el artículo "El problema del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina", publicado en la revista Scielo, la bacteria *Staphylococcus aureus* surge en los ambientes hospitalarios y genera infecciones en las personas, para lo cual cabe recalcar que una de la problemática de esta bacteria es su resistencia a la penicilina; dicho problema se trató de atenuar con la creación de nuevos antibióticos (meticilina); al pasar el tiempo se describe que esta también presentó resistencia, lo cual se demostró cuando la cepa evidenció concentraciones inhibitorias mínimas de $>16\mu\text{g/mL}$, por lo que el manejo de estas infecciones se da con antibióticos más fuertes como lo son: glicopéptidos, daptomicina, cefalosporina y estreptomina.

En los últimos años lo que son las infecciones fúngicas han mostrado un comportamiento no deseado; han aumentado y generado una alta mortalidad, más que todo por infecciones de especies de *Candida* en un 20% al 50%, y por el género *Aspergillus* 40% al 80%. La mortalidad por estas infecciones puede ir más allá del 90%, por lo cual es importante describir cuáles especies del género *Candida* son las que causan la resistencia fúngica a las drogas existentes. El género más importante es el *albicans*, que posee baja sensibilidad, del 40% al 75% y una mortalidad de alrededor del 50% ante estos valores aún existe un problema mayor, el cual es la dificultad de diagnóstico y el uso masivo de los antifúngicos, ya sea de manera terapéutica o preventiva. (Zurita, 2018).

Se conoce que del género de *Aspergillus* existen 20 tipos que se han reportado como patógenos en las personas, entre las cuales *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus*

flavus son los que con mayor frecuencia causan la enfermedad; todos se pueden encontrar en el medio ambiente, suspendidos en el aire, y llegan a las vías respiratorias; es más frecuente en personas que presentan factores de riesgo, como individuos con cáncer o que estén próximos a un trasplante. (Díaz et al., 2010).

La resistencia microbiana, ya sea a bacterias u hongos, genera cambios, que producen que los medicamentos usados para la cura de las infecciones, causados por estos patógenos, no realicen el efecto deseado, y no se vea cura o mejoría en los pacientes. La resistencia se produce cuando se dan mutaciones en medicamentos que se usan de forma seguida; cabe recalcar que los que adquieren la resistencia son los gérmenes y nunca los fármacos o las personas; cuando se genera una resistencia, sea la que sea en la parte médica, se denota un aumento en los costos del abordaje del tratamiento. Se debe tomar en cuenta la magnitud del problema que se está generando a nivel mundial, porque cada día aparecen y se propagan nuevos mecanismos de resistencia, lo cual amenaza el no poder después tratar las enfermedades infecciosas. (Serra, 2017).

Cierto tipo de plantas posee diferentes propiedades, las cuales las designan como plantas medicinales; el tipo de planta medicinal es una fuente importante y de gran utilidad como agente antimicrobiano; también son utilizadas como tratamiento de enfermedades humanas. Un ejemplo claro de este tipo de planta es la *Urtica dioica*, a la cual, en un estudio, se le examinó el potencial antibacteriano in vitro metanólico y etanólico de los extractos de la *Urtica dioica*, para cepas bacterianas (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Proteus mirabilis*). Posteriormente de realizar el análisis correspondiente, se destacan los resultados positivos ante la inhibición del crecimiento de: *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, pero las investigaciones continúan. (Bakhtiari, Mansour, Motamedi & Vafaei, 2014).

La resistencia ante los organismos antimicrobianos ha generado un problema de salud en los últimos años, por lo cual se ha incrementado el estudio de las plantas que posean características y compuestos antimicrobianos. Según el artículo, existe un 80% de productos farmacéuticos derivados de plantas, pero no todos son usados como antimicrobianos. Por esta razón es que se está profundizando en estudios de estos compuestos naturales; es el caso de la planta de *Urtica dioica*

que se sometió a análisis para evaluar la actividad antibacteriana, antifúngica, antidermatofítica y antioxidante. Los resultados obtenidos fueron muy positivos, y se denota una inhibición bacteriana y fúngica, por lo cual las plantas son una importante fuente de investigación de descubrimiento de nuevos fármacos. (Deliorman, Hošbaš, Özçelik & Vural, 2012).

Por lo anteriormente mencionado, se plantea la siguiente pregunta problema: ¿Tendrá la planta arvense costarricense *Urtica dioica* (Ortiga de Costa Rica) actividad antibacterial para poder combatir los patógenos *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*?

Hipótesis de la investigación

La planta *Urtica Dioica* sí presenta actividad antibacterial frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la actividad antibacterial frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* de la planta arvenses costarricense *Urtica dioica* (Ortiga de Costa Rica).

Objetivos Específicos

Desarrollar la extracción de los componentes que posee la planta *Urtica dioica* (Ortiga), mediante diferentes métodos de extracción y diversos disolventes.

Identificar los metabolitos secundarios que posee la planta *Urtica dioica* (Ortiga), mediante un tamizaje fitoquímico.

Determinar la eficacia de la actividad de los extractos obtenidos de la planta *Urtica dioica* (Ortiga), contra las bacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, para comprobar cuánta sensibilidad presenta.

JUSTIFICACIÓN

La resistencia bacteriana se trata de cómo se adaptan los microorganismos, ya que estos pueden desarrollar diversos mecanismos de protección hacia agentes dañinos, y transmitirse a otros patógenos; se puede generar por un método de transmisión horizontal, la cual pasa los genes de una bacteria a otra que ha presentado resistencia, y el otro tipo sería el vertical, que en este caso los genes son adquiridos por generaciones que van pasando. Este tipo de genes aparecen cada día más por un mal uso de los antibióticos; el administrar este tipo de fármacos de manera subterapéutica generan que se dé la aparición de la resistencia de las cepas, por lo cual se trata de buscar nuevas alternativas en medicina de origen natural, las cuales atenúen este problema que afecta tanto a la población a nivel mundial. (Cárdenas, Castillo, De Cámara & González, 2018).

Según Vázquez (2017), el desinterés de las industrias farmacéuticas en lo que se refiere a la antibioticoterapia, ha contribuido a que en la actualidad se cuente con alternativas limitadas en esta forma terapéutica para las infecciones bacterianas o bacterias multirresistentes; esto ha desencadenado un alto interés en investigar, desarrollar y efectuar compuestos antimicrobianos fitoquímicos; de estos compuestos con características fitoquímicas antimicrobianos hoy en día va creciendo su desarrollo, tanto a nivel microbiológico como en el campo de la industria farmacéutica; los compuestos en desarrollo y en estudio van compitiendo dentro del campo de la farmacología y de las terapias farmacológicas actuales, estos como la nueva terapia antibacterial y que no presentan una resistencia demostrada.

Según Turker & Usta (2014), cabe recalcar que desde hace algunos años se ha demostrado y dado a conocer que las plantas son una fuente valiosa e importante de medicina para la salud de las personas; se destaca que ya han identificado hasta 122 compuestos, los cuales poseen propiedades biológicas activas; de estos un 15% ha sido evaluado ya fitoquímicamente; entre las plantas que ya han dado resultados positivos, y que es un gran aporte a la medicina natural, se destaca la planta de *Urtica dioica*, la cual ha mostrado resultados muy positivos ante la actividad inhibitoria contra lo que son las bacterias de *Sthaphylococcus aureus* y *Sthaphylococcus pyogenes*, con lo cual se genera un aporte muy significativo a la medicina.

El aumento exponencial de la resistencia antimicrobiana (RAM), llega a comprometer la salud, la seguridad alimentaria, el desarrollo y la economía a nivel mundial, por lo cual se busca fomentar el uso racional de los antibióticos; es el caso de los entes a nivel internacional, que se han coordinado y comprometido para obtener nuevas alternativas para erradicar o sobrellevar esta problemática. Se menciona que para poder combatir las RAM se tiene que llevar de la mano con la población concientizando, educando y explorando nuevas alternativas, como las naturales, que existen para inhibir o combatir las RAM; entre estas alternativas naturales se encuentran los extractos de las plantas, frutos de plantas o toda la planta en sí, los cuales poseen componentes que tienen la función de atenuar las bacterias; por ende, las RAM. (Camou, Hortal & Zunino, 2017).

Se reconoce que la Medicina Natural y Tradicional (MNT) presenta una gran importancia, y cabe recalcar que se orienta en la realización de los estudios, para la profundización e implementación de las diversas formas de tratamiento. En el caso de un país como Cuba, presenta un déficit de medicamentos y recursos terapéuticos, por lo cual esa nación traza un lineamiento a nivel país para emplear y desarrollar las MNT. Entre los MNT que más se resaltan están homeopatía, termalismo, floral, acupuntura, fitoterapia, entre muchas otras MNT; comúnmente son utilizados en la área del tratamiento infecciones por bacterias, protozoos, helmintos, hongos y virus. (Abín et al., 2013).

Las plantas lo que poseen son los fitofármacos, que gozan de acción terapéutica y que presentan diversos usos en la práctica clínica, para poder tratar infecciones, y también es muy importante como coadyuvante de la antibióticoterapia, con el fin de obtener una disminución de la resistencia a dichos fármacos, y poder garantizar mejores resultados de los tratamientos que se usan actualmente. Cabe recalcar que en las plantas el valor medicinal o, mejor dicho, los componentes que se usan para la realización de los fitofármacos, se encuentran en toda la planta, solo que en alguna parte en específico se encuentra en mayor proporción su valor terapéutico con el principio activo de interés. (Abín et al., 2013).

Las bases científicas recalcan que las especies medicinales constituyen un tipo de medicina, y el que sean de origen natural no quiere decir que sean inocuas, ya que su composición química actúa sobre los mecanismos tanto fisiológicos como patológicos del organismo del cuerpo humano, realizando un efecto farmacológico, ya sea efectuando un resultado terapéutico o hasta provocando algún tipo de reacción adversa no esperada. No se puede dejar de lado que se debe tener un poco

de cuidado por si acaso se da una interacción con otro fármaco que se utilice, o hasta con los mismos alimentos. Con lo mencionado anteriormente, se recalca la importancia y los efectos beneficiosos que se tienen con el uso de plantas, que posean características y propiedades que se utilicen en el área de la medicina, como una alternativa más para abordar problemas de salud. (Soria, 2018).

ANTECEDENTES

Antecedentes Históricos

Según Akerele (1993), los medicamentos que se obtiene de las plantas naturales tienen un importante auge en la medicina tradicional, pero el recurso de las plantas se está amenazando debido a la extinción, y esto es un problema que se debe ligar con la conservación de la naturaleza; se dice que un 80% de la población mundial utiliza los medicamentos tradicionales para satisfacer sus necesidades primarias en salud, y estos medicamentos medicinales son obtenidos de los extractos de las plantas o de sus principios activos. En los países en desarrollo, el uso de este tipo de plantas tiene un beneficio muy marcado, ya que ayuda a la reducción de la importación de los medicamentos.

En Costa Rica, el autor Akerele (1993) expone que se tiene un 25% del territorio nacional como reserva forestal, y al poseer esa riqueza tiene la capacidad de suministrar plantas o materiales a compañías farmacéuticas, para que realicen una evaluación de la aplicación en la industria farmacéutica o agrícola. Lo que se pretendía con esta información era fomentar a la población costarricense para que protegiera adecuadamente esa fuente de riqueza, con el fin de que las compañías hicieran las inversiones en la realización de estudios en las plantas naturales, para obtener nuevas alternativas farmacológicas.

Huerta (2007) refiere que la *Urtica dioica* (Ortiga) es una planta medicinal abundante, la cual crece en zonas de montaña, así como cerca de donde habita el hombre, la cual, a lo largo de los años, no ha sido estudiada de la mejor manera, pero con lo poco que se sabe de la *Urtica dioica* se puede mencionar que posee diversos usos en la rama de la medicina, como lo son: diuréticos, rubefacientes, hipoglucemiantes, reconstituyentes, entre muchos que se pueden mencionar y que

siguen en estudio. Este autor menciona que la planta no presenta toxicidad, siempre y cuando se use en las dosis recomendadas o ya establecidas en la literatura o artículos, pero todo lo mencionado anteriormente se seguirá estudiando.

Pérez (1998) menciona que la utilización de los antibióticos a partir de los años cuarenta se ha ido incrementando y es de suma importancia; desde esos años se han obtenido y también comercializado los antimicrobianos, pero cuando se dio el inicio de la era antibiótica, existía una falsa expectativa de que las enfermedades por microbios se desaparecieran; posterior a esto, las bacterias tenían la capacidad de desarrollar los mecanismos de resistencia y, de esta forma para los años cincuenta, ya se conocía la cepa de la bacteria de *Staphylococcus aureus*, la cual ya mostraba una resistencia a la penicilina. Por esto, se dice que la bacteria ya es sensible al antibiótico cuando ya presenta eficacia, y se puede dar la curación de la infección que se genera por la bacteria de *Staphylococcus aureus*.

Zepeda (1998) menciona que desde el año de 1945 se previeron los riesgos que se podrían dar por la utilización de los antibióticos. Cuando se empleaban estos en gran escala, las bacterias resistentes se podían seleccionar; desde esa época se empezó a detectar la resistencia a los antibióticos, tales como: penicilina y estreptomycin. Ya para los años ochenta se dio a conocer que los enterococos podían adquirir una resistencia a los aminoglucósidos, y así sucesivamente, al pasar los años se han demostrado el aumento de más resistencias a diversos medicamentos, y cada vez agarran más fuerza los microorganismos, para no dejar que los antibióticos actúen inhibiendo su actividad.

Antecedentes Internacionales

En el artículo "Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L." (2012) de la revista Chinese Medicine, los autores Khare et al. realizaron un estudio de la planta de *Urtica dioica*, en el cual incluyeron evaluación farmacognóstica, actividad antioxidante y un análisis de HPTLC. Primeramente, realizaron la extracción del material vegetal *in vitro* de la actividad antioxidante, seguida de la actividad de eliminación de radicales libres de DPPH, estudios de HPTLC, detección y cuantificación de ácido ferúlico; al realizar todos estos procesos, llevaron

a cabo los resultados con una evaluación macroscópica y microscópica, estudios fisicoquímicos, actividad antioxidante del estudio *in vitro* midiendo la cantidad de ácido ascórbico estándar.

Estos estudios, y los parámetros obtenidos, ayudan a obtener la evaluación de la pureza de las drogas; esto es útil para su uso en remedios naturales, así como a los fabricantes, para la cuantificación y selección de la materia prima de la droga en producción. Los autores llegan a concluir que, los resultados farmacognósticos obtenidos, se consideran lo suficientemente claros para poder identificar la autenticidad de la planta, para la utilización de la misma en la industria herbal, al igual que se dio a conocer que la actividad antioxidante es a causa del contenido de ácido ferúlico. Cabe recalcar que esta actividad requiere de mucha más investigación y análisis, pero este estudio denotó un antioxidante natural, que podría llegar a reemplazar los sintéticos existentes ya en el mercado. (Khare et al., 2012).

Balkhi, Bhat, Dar, Ganai, Yousuf & Sharma (2013), en el artículo "Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*" en la revista *Pharmaceutical Biology*, dieron a conocer un estudio sobre la actividad antidiabética, antiinflamatoria, antibacteriana y toxicológica de la *Urtica dioica*; esto lo llevaron a cabo realizando la extracción de las hojas de la planta, utilizando como medio de disolvente el hexano, cloroformo, acetato de etilo, metanol y acuoso; llevaron a cabo estudios *in vivo* en animales (ratas), para medir la actividad de la hipoglucemia por prueba de tolerancia a la glucosa utilizando doce ratas. Por otra parte, para el ensayo antiinflamatorio, de igual forma se llevó a cabo con ayuda de las ratas, midiendo este parámetro en las patas de las que presentaron edema; para la medición de la toxicidad se realizó una prueba aguda en las ratas Wistar, usando diferentes dosis del extracto, y se observó por 24 horas.

Por otra parte, para la medición del parámetro de función antimicrobiana, se puso en práctica un estudio *in vitro* con material biológico; los extractos se seleccionaron para siete cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *Shigella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*); esto lo realizaron de acuerdo con un ensayo de difusión de agar; los resultados que obtuvieron mostraron los siguientes comportamientos: primeramente, para la actividad hipoglucemiante, solo el extracto acuoso mostró la caída significativa de la glicemia; para el ensayo antiinflamatorio solo el extracto de hexano no mostró el comportamiento esperado de la

disminución del edema, para la prueba de toxicidad aguda; no se observó mortalidad durante el período comprendido en las 24 horas en las dosis probadas, y por último, en los resultados de la actividad antibacterial, todos los extractos utilizados mostraron un resultado positivo de inhibición ante estas bacterias. Por esto, los autores recalcan que esos resultados refuerzan la importancia de tener un enfoque etnobotánico como fuente de sustancias bioactivas.

Según los autores Asadpour, Houshmand, Naeemi & Salehzadeh (2014), en su artículo "Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Sambucus ebulus* and *Urtica dioica* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*", de la revista *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, ellos realizaron un estudio, dado al aumento que se ha evidenciado de los agentes patógenos resistentes a fármacos, por lo cual desarrollaron las pruebas utilizando antimicrobianos naturales; en este estudio se utilizaron 16 aislados de infecciones de piel con *Staphylococcus aureus* y heridas que presentaban meticilina presente.

Al obtener el extracto de las plantas, se midió la actividad antibacteriana que estos poseen por un método de difusión en agar; se midió el MIC de *Sambucus ebulus* y *Urtica dioica* contra la cepa estándar de *staphylococcus aureus*; se denotó que todas las bacterias a prueba fueron sensibles al extracto de *Sambucus ebulus*, y solo una a *Urtica dioica*, la cual fue *staphylococcus aureus*, *pyogenes* y *epidermidis*; con estos resultados, los autores llegaron a la conclusión de que ambas plantas poseen potencial antibacteriano contra los aislados de MRSA, y se pueden usar como producto natural, con una garantía ya estudiada y aceptada como antiséptico y antimicrobiano. (Asadpour, Houshmand, Naeemi & Salehzadeh, 2014).

En la revista *International Journal of Green Pharmacy*, los autores Joshi, Kalia & Mukhija (2014), publicaron "Pharmacognostical review of *Urtica dioica L.*", donde hablan específicamente del origen, beneficios, componentes, usos, actividad farmacológica, que tiene en específico la planta *Urtica dioica* (ortiga), dando a conocer que esa planta elabora diferentes clases de compuestos orgánicos de suma importancia en el ámbito medicinal, tales como: saponinas, flavonoides, taninos, esteroides, ácidos grasos, carotenoides, clorofilas, proteínas, aminoácidos y vitaminas.

Cabe recalcar que los autores mencionan su actividad antimicrobiana, tanto de bacterias gram positivas como gram negativas, y se han mostrado resultados en la concentración mínima inhibitoria (MIC), y concentración bactericida mínima (MBC) de los extractos, mostrando resultados positivos. Estos autores realizaron este artículo, con el fin de dar a conocer una información sobre la planta ya anteriormente mencionada, y que con esto muchas más personas opten por el uso de esta. (Joshi, Kalia & Mukhija, 2014).

Benmoussa, Derfoufi, Otmani & Said (2015) mencionan, en su artículo "Highlights on nutritional and therapeutic value of stinging nettle (*Urtica dioica*)", en la revista International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, que demuestran, en ese estudio, los valores nutricionales tan altos, así como los usos terapéuticos de la planta de *Urtica dioica*; ellos destacan lo siguiente: alrededor del siglo XX se empezó a estudiar y a determinar la estructura de la misma, así como sus propiedades farmacológicas y su valor nutricional; tiene una composición vitamínica tanto de solubles en agua como de vitaminas A,D,E,K e hidrosolubles C y B (B1,B2,B3,B9), entre muchos otros compuestos, por lo cual, estos autores exponen a la *Urtica dioica* rica en vitaminas, minerales y propiedades para formar medicamentos; ellos concluyen en que los beneficios en potencia aún no están completamente definidos, y los estudios toxicológicos demostraron que la planta se puede considerar segura, siempre y cuando se administre en la dosis específicas.

Antecedentes Nacionales

Para la realización de los antecedentes nacionales, al consultar en las bibliotecas de las universidades Universidad de Iberoamérica (UNIBE), Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED), bases de datos de internet, revistas, biblioteca nacional, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Universidad de Costa Rica (UCR) y Universidad Latina entre otros, no se logró obtener resultados de información o estudios de la planta *Urtica dioica* (Ortiga) en Costa Rica, y en el caso de la Universidad Internacional de las Américas (UIA), presenta un trabajo de graduación relacionado con este tema, pero no la poseen en físico u digital, y el CD se encuentra dañado, según le informaron en la biblioteca a la autora de la presente investigación.

Con respecto a las plantas medicinales y su relevancia histórica en Costa Rica, se denota el aporte que ha brindado la Universidad de Costa Rica por medio de la Vicerrectoría de Investigación, quien crea el Centro de Investigación en Productos Naturales (CIPRONA) en el año 1979; dicho centro investigativo e interdisciplinario trabaja en colaboración con otros centros de investigación e Instituciones Públicas, para la creación de información científica sobre las plantas con usos medicinales, sus metabolitos y otros. (Hernández, 2018).

Es importante destacar que Costa Rica es un país que, a pesar de contar con excelentes servicios de atención en salud pública, no se escapa de los problemas que desencadenan el no poder combatir de forma adecuada la resistencia bacteriana; por esta razón es que en los últimos años se ha despertado el interés por el desarrollo de diferentes investigaciones a nivel nacional, con la finalidad de buscar nuevas opciones a nivel de fitofármacos para el tratamiento de estas enfermedades. A continuación, se detallan algunas investigaciones que hacen referencia a lo mencionado:

El 4 de enero de 2019 se da la oficialización y declaratoria de interés público y nacional del “Plan de acción nacional de lucha contra la resistencia a los antimicrobianos. Costa Rica 2018-2025”, en el cual se tiene, como objetivo general, el vigilar, contener y controlar de forma integrada la resistencia a los antimicrobianos, que abarque salud humana, salud animal y salud vegetal, para asegurar ,en la medida de lo posible, la capacidad de tratar y prevenir enfermedades infecciosas, a través del uso responsable y racional de medicamentos eficaces, seguros, accesibles y asequibles, que sean de calidad, proporcionando los lineamientos para la contención y la disminución del impacto de la resistencia a los antimicrobianos.

Se asegura, en la medida de lo posible, la continuación del tratamiento y prevención de las enfermedades infecciosas con medicamentos seguros y efectivos, con garantía de calidad, empleados de manera responsable y accesibles a quienes los necesitan. Además, menciona que la resistencia a los antimicrobianos se ha distribuido a lo largo y ancho del territorio nacional, donde se han reportado casos de microorganismos resistentes en hospitales y en la comunidad. En el país se han realizado aislamientos de bacterias como: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitis*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

PROYECCIONES

Se pretende obtener exitosamente los diversos extractos de la planta de *Urtica dioica* (Ortiga), con los cuales se realizará la parte experimental de la investigación.

Conocer cuáles son los metabolitos secundarios presentes en la planta *Urtica dioica* (Ortiga), con ayuda del tamizaje fitoquímico.

Comprobar el efecto antibacteriano de la planta *Urtica dioica* (Ortiga), aportando información a la ciencia costarricense, que sirva de apoyo a las futuras investigaciones.

Desarrollar más experiencia con respecto al aporte que puedan generar las plantas naturales, para atenuar problemas; por ejemplo, la resistencia bacteriana como una alternativa de tratamiento.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

Historia y evolución de las bacterias

Se conoce que las bacterias habitan en el mundo o en el planeta Tierra desde antes que habitaran los seres humanos; estos microorganismos están descritos en el origen de la Tierra, según se menciona en la literatura. Las bacterias no son precisamente dañinas, y se necesita de algunas para poder vivir; por ejemplo, el cuerpo humano en su piel y mucosas presenta bacterias, las cuales cumplen una función protectora en él, así como en sus diversas partes, que se encuentran realizando funciones específicas. Claramente no todo es bueno, y estos microorganismos pueden provocarle variadas enfermedades al hombre; por ende, aunque para muchos pasen por inadvertidas estos microorganismos "bacterias", tienen un papel importante en la historia. (Serrano & Hernández, 2016).

En la historia, cuando se dio el descubrimiento de las bacterias, o de dichos microorganismos, se hizo por medio del microscopista danés Otto Federico Müller, quien fue el primero en clasificar los microorganismos de una forma exitosa; alrededor de los años 1730-1784 les denominaron infusorios o animalículos; él descubrió y describió el primer microorganismo llamado "Monas", el cual pertenece al género de las hoy conocidas pseudomonas, y posterior mente descubrió los "Vibro"; por tales descubrimientos, en esos años la literatura mencionaba que se considera a Müller como el primer investigador que avanzó con éxito en el descubrimiento de estos microorganismos. Se recalca que los géneros mencionados, descubiertos por Müller, posiblemente no solo incluían las bacterias, sino también algunos posibles eucariontes, ya que en esa época los equipos utilizados y las técnicas microscópicas no eran avanzados, para definir de qué tipo de microorganismo se trataba. (Osorio, 2017).

El científico y microscopista alemán Christian Ehrenber siguió con la investigación que llevaba Müller. Ehrenber reconoció varias familias de interés bacteriológico, las cuales ya presentaron características que las distinguían de las demás; entre los géneros encontrado se descubrió el Bacterium, denominación de origen latino, y tiene como significado "forma neutra o singular". La palabra bacteria, la más utilizada actualmente, fue introducida por este mismo microscopista, y esto se dio alrededor de 1825. (Osorio, 2017).

Se recalca que la senda que siguieron los descubrimientos anteriormente descritos, entre esto la palabra bacteria, que pasó de ser un simple género microbiano a una denominación de todo un grupo de seres vivos, que hoy en día es el más alto rango taxonómico llamado “dominio”. Este ascenso fue gracias al alemán Maximilian Perty, quien en 1852 incorporó dicha clasificación, pero para seguir la continuidad de este gran aporte científico, el botánico alemán Ferdinand Cohn, en 1854, establece designaciones en las familias ya descubiertas, así como la clasificación entre el reino animalia y vegetal, basándose en estudios acuciosos. Por todas las razones anteriormente mencionadas, Cohn denomina como especial el grupo de seres vivos como bacterias. (Osorio, 2017).

Se dice que la forma en que se comporta el ser humano, es algo que lo caracteriza a lo largo de los años en la Tierra; esta forma de ser ha ayudado a que se adapte de una mejor manera, al igual que pueda sobrevivir y hasta ha provocado una modificación en el medio ambiente en el que se desarrolla; esto ha traído como consecuencia, también, el ahondar en temas de formas de vida microscópicas como las bacterias, de las cuales no se sabía nada, y con ayuda de instrumentos muy rudimentarios, que en los años ya descritos anteriormente, los avances y los descubrimientos fueron importantes, porque gracias a eso se obtuvieron las bases de la microbiología, y se empezaron a estudiar por completo los microorganismos. (Castillo, 2016).

Para poder darles un orden a los microorganismos (bacterias) que se han descubierto y estudiado por años, se generó la idea de darles un lugar a la clasificación de los seres vivos, pero esto no fue del todo resistente. Esta necesidad de poder categorizarlos, el ser humano lo ha empezado a poner en práctica. Posteriormente a la clasificación de los reinos animal y vegetal, se denota la necesidad de generar una nueva clasificación de cinco reinos; dicha clasificación se genera con el fin de practicidad y de tener una forma didáctica. (Castillo, 2016).

Se continúa con la clasificación de los reinos, que se dividen en: monera, que son las tan habladas bacterias, protista, plantae, fungi (hongos) y animalia. Al pasar los años, y con el avance que se tiene con lo que son la ciencia y la tecnología en pleno siglo XX, y con apoyo de la rama de la biotecnología y diversas técnicas que se adquirieron tras la cantidad de años que llevan de

estudios, el microbiólogo Carl Richard Woese aplicó un método de genes y, codificando el ARN, generó el sistema de tres dominios, los cuales son: Eukarya, Bacteria y Archaea, con lo cual aún se clasifican más los seres vivos, y se pudo seguir con más estudios de los microorganismos ya mencionados. (Castillo, 2016).

El término “bacteria”, como se menciona tradicionalmente, fue aplicado en general a todos los microorganismos, pero se logró demostrar que los organismos procariontes se iban a dividir en dos tipos, Eubacteria y Archaeobacteria, los cuales, a través del tiempo, fueron evolucionando; ambos dominios descritos evolucionaron con el dominio Eukarya, que genera en conjunto una gran base para formar el sistema de clasificación usado a nivel bacteriológico. Los procariontes fueron los primeros organismos (bacterias y arqueas) en someterse a estudios; todas las bacterias se han visto vinculadas con la divergencia evolutiva. (Serrano & Hernández, 2016).

A lo largo de la historia de la ciencia, y de todas las clasificaciones que se han dado para los seres vivos, los microorganismos bacteriales siempre han estado y están presentes, manteniendo un mismo lugar y una clasificación ya descrita a través de tiempo, exclusiva. En la actualidad y en el siglo que se está, a pesar de los grandes avances tecnológicos y científicos, se observa que falta mucho por estudiar y analizar las bacterias, y que día a día están tomando un mayor auge y hasta han evolucionado de una forma sorprendente, a tal punto que han demostrado en ciertos tipos de bacterias una resistencia al ser humano. (Castillo, 2016).

Se considera a las bacterias como el grupo de microorganismos más primitivo de todos los organismos vivos, y el cual ha desencadenado la aparición de los otros tipos de microorganismos, ya que la acumulación de los mismos, y la cantidad de estudios e investigaciones realizadas a estos, es lo que ayudó a la aparición de los demás; otro gran avance, que se dio en la misma línea, fue el desarrollo de la fotosíntesis primitiva anaerobia, con el origen de la clorofila; por ende, las bacterias anaerobias se dice que también son de los ancestros de todos los organismos, que necesitan o son fotosintéticos y eucariontes. (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, 2016).

Las bacterias poseen la capacidad de utilizar diversas fuentes o tipos de energía; desde sus inicios de descubrimiento hasta la actualidad, tanto las bacterias como algunos otros

microorganismos tienen la capacidad de crecer y de sobrevivir en ambientes diversos, lo cual permitió que estos colonizaran tanto la tierra, el aire, como el agua; en otras palabras, todas las áreas de la tierra. El éxito evolutivo de las mismas se debió a que su forma de vida puede ser individual, o ya sea en asociaciones con otros microorganismos. (Camargo, Montaña, Sánchez & Sandoval, 2010).

En la investigación, las bacterias poseen un papel fundamental y esencial; la utilidad de estas se da desde los años ya mencionados anteriormente hasta la actualidad, lo cual ya es conocido por los microbiólogos, bacteriólogos y otros científicos. Las investigaciones han desencadenado el descubrimiento de causas de bacterias, como lo es la neumonía, para dar un pequeño ejemplo, por medio del *Pneumococcus*, el cual aportó una evidencia en este ámbito; con esto se revela lo útiles que son los microorganismos a lo largo de la historia, y hasta la actualidad. (Camargo et al., 2010).

La evolución significativa de los microorganismos mantiene un predominio en los sistemas biológicos, y también en los biotecnológicos; la diversidad microbiana es una herramienta para poder llevar a cabo nuevas tecnologías, que puedan generar aportes a los países del mundo; un ejemplo claro de esto es usar todos los microorganismos en tecnologías, tanto ecológicas como ambientales, para fomentar una recuperación de las áreas que presentan biodiversidad. La existencia de vida en el mundo, o mejor dicho, en el planeta Tierra, según la literatura, dice que se debe a los microorganismos como tal; esto lleva a la conclusión de que se debe obtener un mayor conocimiento de estos. (Camargo et al. 2010).

Al seguir con la evolución bacteriana, las bacterias se sometieron a numerosos cambios y adaptaciones, que demandaban todos los cambios que iba presentando el medio a través de los años; entre las adaptaciones a las cuales se debieron someter, fue la aparición de una doble membrana en la estructura de las mismas; con la existencia de esta característica se logró realizar, de una forma más detallada y más precisa, lo que es la clasificación de las bacterias; este cambio fue predominante y significativo, y marcó una pauta en la evolución constante que han mostrado los microorganismos. (Castillo, 2016).

Generalidades de las bacterias

Las bacterias son organismos procariontes, los cuales no poseen en su conformación estructuras tales como: membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi, ni mucho menos retículo endoplasmático. De igual forma, la pared celular, la cual es la que rodea a las bacterias, es muy complicada, ya que esta se divide en dos tipos. En primer lugar, se tienen la de pared celular grampositiva y los gramnegativos, las cuales se diferencian por el grosor de las capas. En algunos casos ciertos tipos de bacterias no poseen la pared celular, por lo cual la forma que presentan estas, para poder sobrevivir o adaptarse, es viviendo en el interior de la célula de un huésped, con presencia de un ambiente hipertónico. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

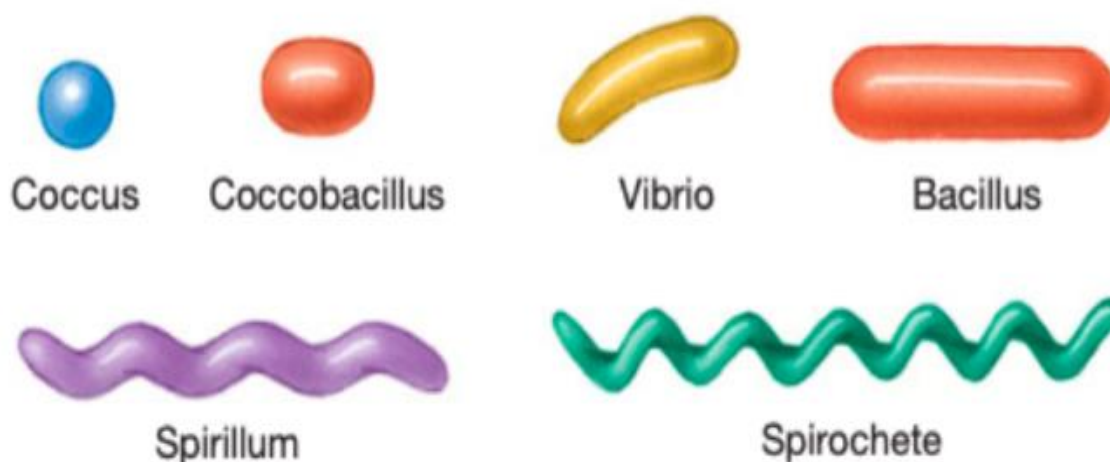
Una de las herramientas fundamentales utilizadas para la identificación y la adecuada clasificación de las bacterias, es por medio de la tinción de Gram, con lo cual se hace posible la diferenciación de los grupos bacterianos en dos grandes divisiones: gram positivos y gram negativos. Entre las diferencias más notables, que se observaron con ayuda de la tinción de gram, es que la clasificación de las gram positivas se denotan, ya que estas cuentan con solo una membrana, la cual está rodeada por una capa gruesa de peptidoglicano, no siendo así el caso de las gramnegativas, que poseen dos membranas separadas por un espacio, al cual se le designa como espacio periplásmico, donde lo que se encuentra dentro de este es una capa de peptidoglicano; esta área es de suma importancia, ya que ahí se llevan a cabo procesos de las bacterias, como lo es el desarrollo adecuado de las mismas. (Castillo, 2016).

Cabe recalcar que los tipos de bacterias procariontes presentan una estructura flagelar y fotosintética en el interior de su propia membrana; en el caso de las bacterias gram negativas (doble membrana), presentan características que las hacen distintas a las demás, como, por ejemplo, en su estructura estas presentan fosfolípidos, proteínas integrales de membrana y lipopolisacáridos. En el caso de las bacterias eucariotas, las cuales en su conformación no poseen rigidez, espacios vacíos, sino que están completamente ocupadas por lo que se designan orgánulos membranosos, cuya función principal es brindarle protección a la célula de los subproductos perjudiciales, y optimizar las reacciones enzimáticas. (Castillo, 2016).

Las bacterias, pertenecientes al reino de los procariontes, poseen la particularidad de poder reproducirse realizando una replicación de su propio ADN; por lo tanto, al darse la reproducción de esta manera, presentan la particularidad de tener estructuras similares a las de los eucariontes. Se detalla que las medidas de las bacterias se encuentran en un rango de 0,4-3m, no siendo así en todas, ya que hay casos en los cuales una bacteria ha podido llegar a medir hasta los 10m; no obstante, estas medidas no exoneran el tener que visualizarlas con la ayuda de un microscopio. (Kuno & Vargas, 2014).

Por lo general, las bacterias presentan formas básicas y ya descritas, las cuales se clasifican de acuerdo con sus formas estructurales, tales como lo son: bacterias esféricas (cocos), bacterias alargadas (bacilos), bacterias curvas, bacterias con forma de espiral (espirilos, espiroquetas, comas, vibriones); entre las mencionadas, estas presentarán características diferentes, tanto en su estructura como en su conformación; de igual forma, poseen una subclasificación en su clase, como por ejemplo, los Cocos, que en su agrupación ,aunque sean pequeñas, tienen cinco subtipos. (Kuno & Vargas, 2014).

Figura 1. Formas bacterianas más comunes



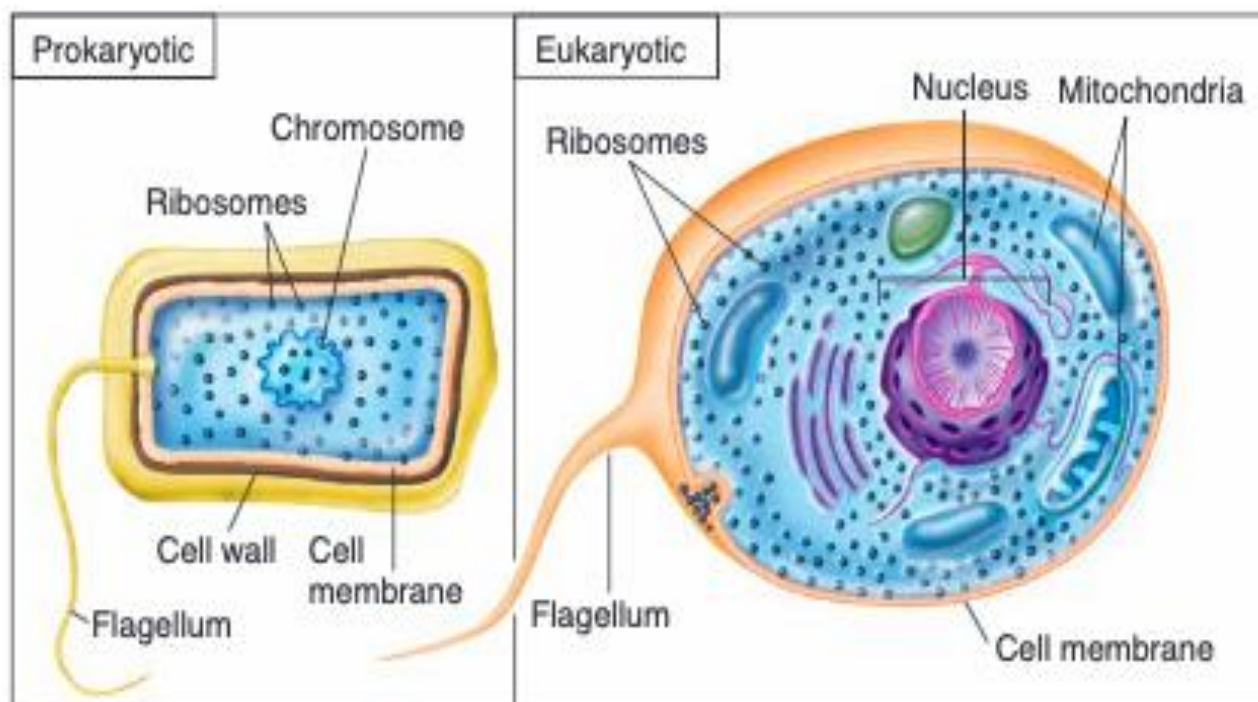
Nota: Microbiology Principles and Explorations (2012).

Clasificación de las bacterias

Bacterias Procariontes y Eucariontes

Las células presentan características, las cuales ayudan a que estas sean clasificadas tanto en células procariotas como eucariotas; las células procariotas poseen, en su mayoría, una sola unidad de lo que se conoce como ADN genómico, en el cual se resguarda la información que se necesita para que la especie siga al pasar de los años, y el material que se encuentra se ubica flotando en el citoplasma; esto se da porque en su estructura estas carecen de lo que se denomina núcleo; entre algunos aspectos, cabe recalcar que las células procariotas no presentan las mitocondrias en su conformación, lo cual es una característica que ayuda a diferir entre las células eucariotas y las procariotas. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

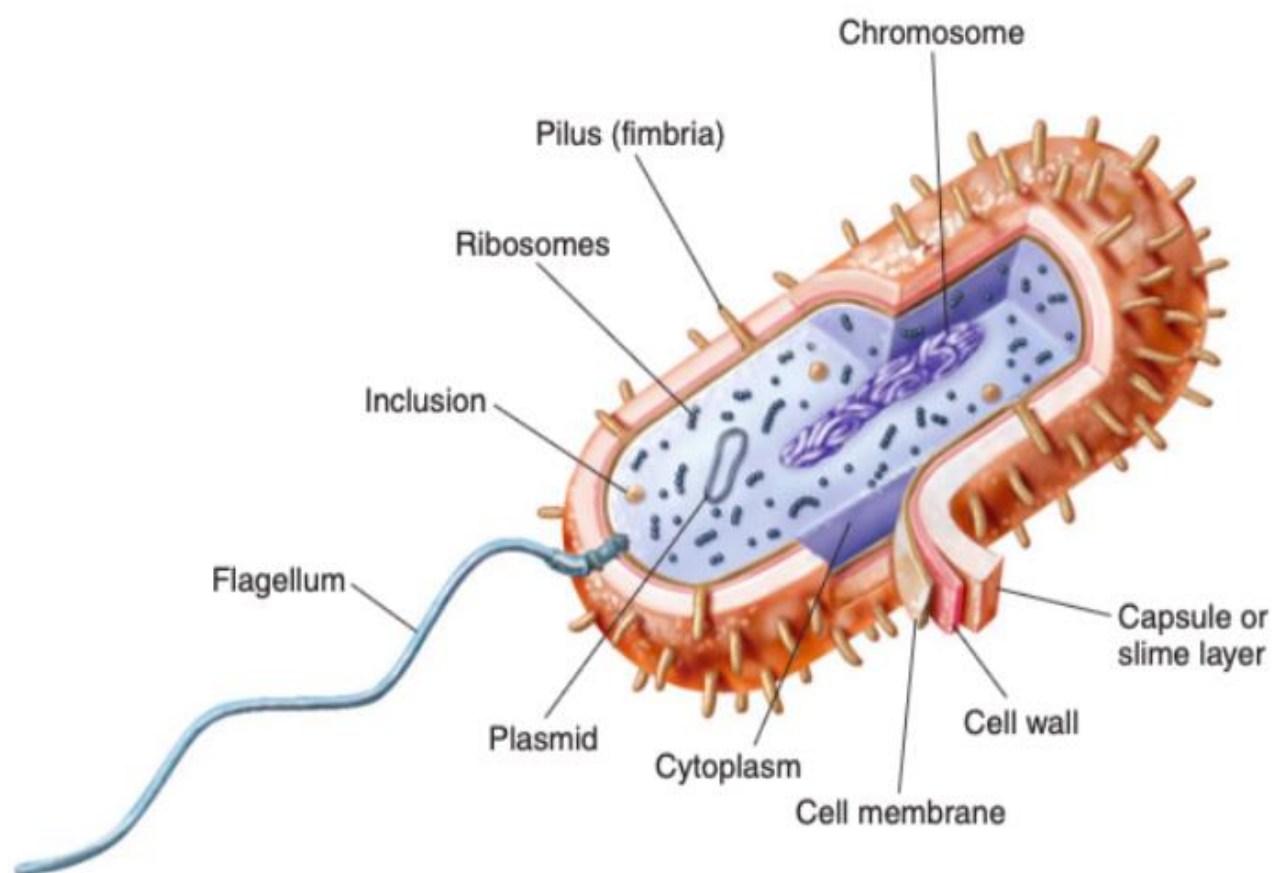
Figura 2. Comparación entre célula Procariota y Eucariota



Nota: Microbiology Systems Approach (2012).

Lo que son las bacterias que presentan en su conformación células procariontes, no presentan en su conformación las membranas internas y citoplasma, el cual es de suma importancia, porque en este se alberga todo el material genético que poseen ellas; tiene en su estructura su membrana plasmática, y no menos importante, la pared celular, en la cual se contienen los péptidoglicanos. Estos péptidoglicanos realizan la función de facultar a la bacteria para que se genere resistencia a la presión intracelular, así como brindar una protección ante agentes o sustancias tóxicas; en este sitio ya descrito es donde los antibióticos deben llegar a ejercer la acción deseada. (Lizarbe, 2009).

Figura 3. Célula Procarionta



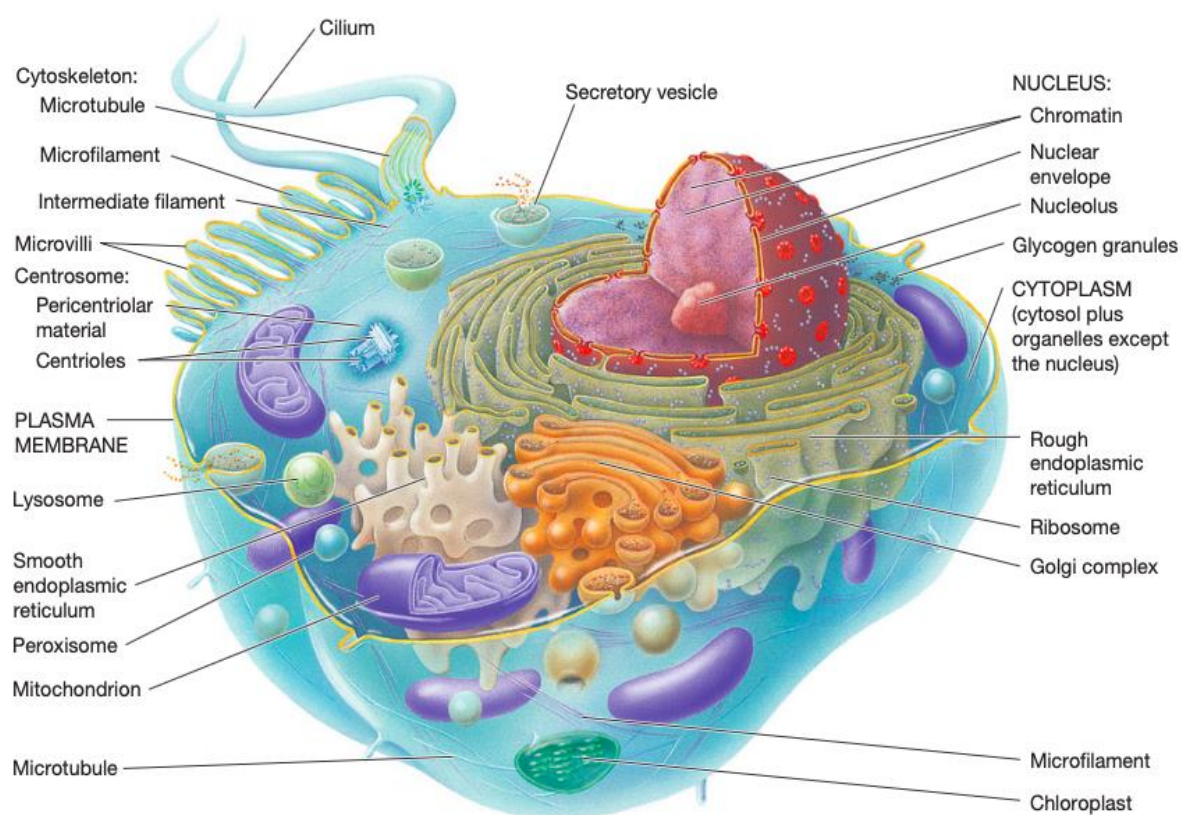
Nota: Black (2012).

Las células eucariotas presentan una mayor complejidad, en comparación con las células procariontes; entre las diferencias más marcadas, se observa que las eucariotas presentan un

diámetro de más de 10mm; las eucariotas son la unidad básica estructural de los organismos en general, de los reinos protista, plantae, fungi y animalia. También los eucariontes son diferentes, en el sentido de que presentan una mayor cantidad de lípidos y, de igual forma, una mayor variedad; presentan una menor superficie; por ende, poseen un menor volumen, en comparación con las procariotas. (Black, 2012).

En el caso de la estructura interna, se demuestra que las bacterias con presencia de células eucariontes tienen una complejidad mayor y muy marcada, esto siempre en el contexto de la comparación con las procariontes, siendo así una célula con una estructura y conformación muy ordenadas, y con la presencia de muchos orgánulos en su conformación. Una de las diferencias de más importancia, y más notoria en ella, es la presencia del núcleo en los eucariontes, en el cual se alberga el ARN, y en una proporción de material genético muy significativo. (Black, 2012).

Figura 4.Célula Eucariota



Nota: Black (2012).

En su gran mayoría, las bacterias se clasifican en dos grandes grupos, los cuales son los Gram-positivos y los Gram-negativos; esta clasificación se lleva a cabo gracias a lo que se le denomina la tinción de Gram, o mejor dicho, tinción con el reactivo de Gram; en lo que se difieren las gram-negativas de las gram-positivas es en su estructura química, ya que la pared celular de las gram-negativas tiene un alto grado de complejidad por su capa de peptidoglicano rodeando la estructura de la membrana plasmática; mientras que las gram-positivas solo poseen una capa de peptidoglicanos, la cual está separada por la membrana externa. (Lizarbe, 2009).

Tipos de Bacterias Gramnegativas para estudio

Familia Enterobacteriaceae

Las especies que pertenecen a esta familia, por lo general, tienen una característica en común, la cual es que todos son Gram-negativos; cabe recalcar que este tipo de especies se puede encontrar en general en todos los sitios, tales como: plantas, suelo, aguas y en los intestinos, tanto de los animales como de las personas. En general, los microorganismos de dicha familia son los causantes de problemas a nivel clínico en los seres humanos, como por mencionar algunos ejemplos: infecciones urinarias, infecciones a nivel intestinal, meningitis, neumonía, entre otros. (Chaves, García & Rojas, 2006).

Algunas de las especies de estas familias, por ejemplo, la *Salmonella typhi* solo se encuentran en los humanos, y en el caso de *Klebsiella pneumoniae*, la cual sí esta diseminada a nivel del ambiente, y no solo en específico en humanos. Esta familia se subdivide en ocho géneros, en las cuales se clasifican los tipos de bacteria en cada género; esto se hace de acuerdo con las características morfológicas, bioquímicas, genéticas, entre otras, de cada cepa bacteriana; también se recalca la existencia de diversos métodos a nivel de laboratorio, los cuales tiene como objetivo realizar la clasificación de estas cepas. (Alcaráz, Aliendro, Centorbi, Echenique, Mattana & Satorres, 2017).

Tabla 1. Cuadro de Clasificación de la Familia *Enterobacteriaceae*

GÉNERO	ESPECIE		
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>		
<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae</i> <i>flexneri</i> <i>boydii</i> <i>sonnei</i>		
<i>Salmonella</i>	<i>enterica</i>	Subespecies <i>enterica</i> <i>otras</i>	Serovars (2400) Typhi Paratyphi A Paratyphi B Cholerasuis Enteritidis
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i> <i>koseri</i> <i>amalonaticus</i> otros		
<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i> <i>agglomerans</i> <i>aerogenes</i> otros		
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i> <i>ozaenae</i> <i>rhinoscleromatis</i> <i>oxytoca</i> <i>terrigena</i> <i>planticola</i>		
<i>Erwinia</i>	17 especies		
<i>Serratia</i>	<i>marscencens</i> <i>liquefaciens</i> otras		
<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>		
<i>Edwardsiella</i>	<i>tarda</i>		
<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i> <i>mirabilis</i> <i>penneri</i> otros		
<i>Providencia</i>	<i>alcalifaciens</i> <i>stuartii</i> <i>rettgeri</i>		
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>		
<i>Yersinia</i>	<i>pestis</i> <i>pseudotuberculosis</i> <i>enterocolitica</i> <i>intermedia</i> otras		
Existen otros géneros			

Nota: Guía de Trabajos Prácticos: Bacteriología y Virología (2017).

Klebsiella pneumoniae

La *Klebsiella pneumoniae* pertenece al grupo de bacilos Gram negativos, y en específico a la familia de las *Enterobacteriaceae*. Dentro del género de los *Klebsiella* existen muchos tipos, pero en este caso el que se menciona es el *pneumoniae*, el cual, según lo menciona la literatura, es uno de los más importantes en la rama clínica y de los más estudiados. Una de las características claves de este microorganismo es que, por lo general, desarrolla un tipo de cápsula, la cual tiene una gran función en la virulencia de esta, y de acuerdo con los antígenos, se clasifica en 77 diversos serotipos. (Echeverri & López, 2010).

La forma de este microorganismo *Klebsiella pneumoniae* es bacilar, anaerobia facultativa e inmóvil; por lo general este microorganismo se encuentra en el ambiente, pero también se localiza en las superficies mucosas, en específico en los humanos en el área de la nasofaringe y en el tracto gastrointestinal. Se describe que la forma de detección de este microorganismo es en materia fecal (heces), por lo cual la incidencia en adultos es de un 5-38% y en nasofaringe es de un 1-6%, no siendo así en el caso de los niños, que en ellos se describe que el porcentaje de incidencia ronda un 100% en materia fecal. (Cataño & Echeverri, 2010).

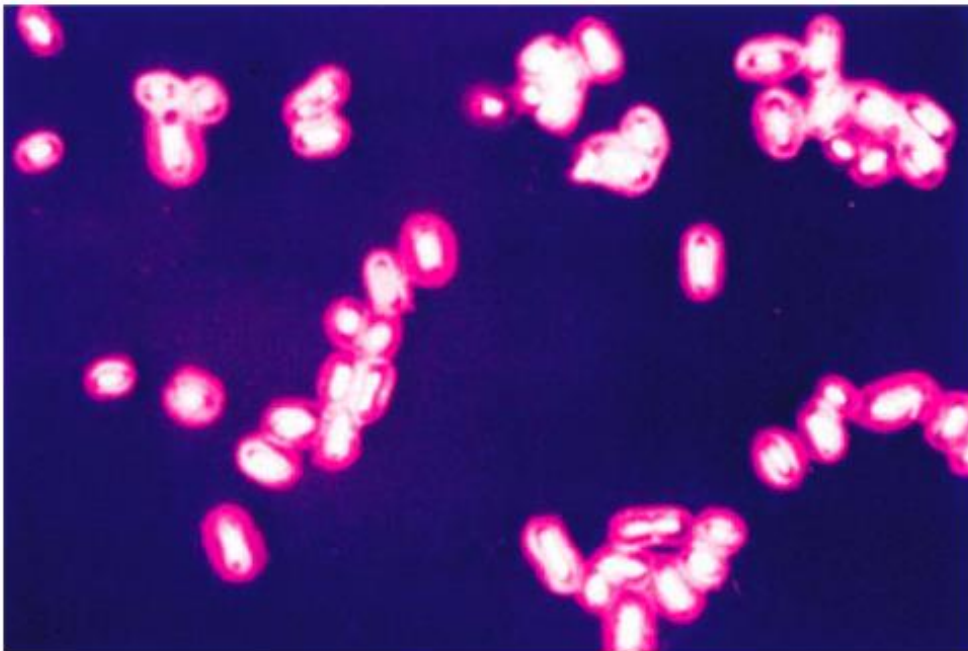
Cataño & Echeverri (2010) mencionan las tasas de colonización de *Klebsiella pneumoniae* en el ambiente hospitalario de la siguiente manera:

La tasa de colonización se incrementa hasta tres veces en el ambiente hospitalario, en forma directamente proporcional a la duración de la estancia y especialmente a la presión selectiva que ejercen los antibióticos sobre la flora comensal. Es así como se han informado los siguientes porcentajes de colonización en pacientes hospitalizados: en materia fecal: 77%; en la faringe: 19% y en las manos: 42%. Esta alta frecuencia de colonización intrahospitalaria está definitivamente asociada con el uso de antibióticos de amplio espectro más con factores asociados al cuidado de la salud. (p. 241).

Aspectos patogénicos

La *Klebsiella pneumoniae* es la especie que tiene una mayor cantidad de estudios realizados. Para poder conocer todas sus características y particularidades con respecto a ella, la forma de actuar que posee es la formación de una cápsula, la cual tiene la función de factor de virulencia de la bacteria. La *Klebsiella pneumoniae* se puede clasificar en 77 serogrupos diferentes, y se recalca que la cápsula sirve de barrera de protección ante la fagocitosis, la cual es generada por los polimorfonucleares y los factores bactericidas séricos. (Echeverri & López, 2010).

Figura 5. Bacteria *Klebsiella pneumoniae*, cápsula bacteriana que rodea a *Klebsiella pneumoniae* teñida de rojo



Nota: Ray & Ryan (2011).

En el caso de la *Klebsiella*, se han logrado describir, entre sus tipos, algunos que presentan características capsulares con mayor potencial de virulencia; algunos de estos pueden ser: K1, K2, K4 y K5. En general, cuando se desencadena un proceso de infección por motivo de la *Klebsiella*, es por la adherencia de las células, en el caso de la *Klebsiella pneumoniae*, esta adherencia se da

por su parte estructural llamada pilis; estas pilis son proyecciones de filamentos. (Echeverri & López, 2010).

Se conoce que todas las personas pueden ser potenciales portadores de la bacteria *Klebsiella pneumoniae*, por lapsos de tiempo muy grandes, y sin darse cuenta de que se tiene esta bacteria en el cuerpo, pero en el caso de que una persona, esta sí puede diseminarla, no solo a nivel de hospital sino también a nivel comunitario; se recalca que las personas que tienen *klebsiella pneumoniae* tienden a estar más propensas a contraer otras infecciones. (Echeverri & Cataño, 2010).

La *klebsiella pneumoniae* es un microorganismo, el cual está adaptado y muy presente a nivel de hospital, por lo que es una de las principales causas de infecciones. Se sabe que la bacteria *Klebsiella pneumoniae* puede sobrevivir mucho tiempo en el personal de salud, específicamente en sus manos, por lo que este es el punto clave, pues es muy fácil su diseminación en el centro médico. El que la bacteria viva tanto tiempo en las manos del personal médico se debe a las propiedades y características propias de la misma. (Echeverri & Cataño, 2010).

Las características del microorganismo *Klebsiella pneumoniae*, que hacen que sea tan fácil su diseminación, son: la capacidad de resistencia a la desecación del medio, el poder sobrevivir en la piel de las personas, en específico, en el personal de salud. Este comportamiento se da gracias a la cápsula hidrófila que recubre en su totalidad a la bacteria; esta cápsula genera protección ante la fagocitosis de polimorfos nucleares, macrófagos y factores bactericidas del hospedero. (Echeverri & Cataño, 2010).

Se denomina a *Klebsiella pneumoniae* por su comportamiento como un patógeno oportunista, el cual coloniza tanto la piel como las mucosas de los pacientes que se encuentran internados en un centro de salud (hospital); se pueden llegar a presentar infecciones, y ejemplos de estas son las septicemias y bacteriemias. Como se recalca, la diseminación de esta es por medio de la contaminación de las manos del personal médico; este tipo de infecciones y problemas provocados por la bacteria causan una tasa de mortalidad y morbilidades muy altas, y que son señal de preocupación. (Andrade & Silva, 2004).

Resistencia antimicrobiana por *Klebsiella pneumoniae*

Se menciona que la resistencia, la cual presentan las bacterias gramnegativas, en este caso la *Klebsiella pneumoniae*, se da por la combinación de los mecanismos de acción de las bacterias. La *Klebsiella pneumoniae* tiene una alta resistencia ante los antibióticos betalactámicos; esto es de importancia y de cuidado, ya que este grupo de antibióticos es de los más utilizados en el mundo. Las betalactamasas son un grupo compuesto de enzimas con grados de resistencias distintas; las de mayor importancia son el espectro extendido (BLEE) y las carbapenemasas. (Echeverri & Cataño, 2010).

Se recalca que en los últimos años las bacterias, productoras de betalactamasas, han presentado un alto índice de resistencia a los betalactámicos, y que estos son de amplio espectro; los cuales presentan un mecanismo de acción con la capacidad de hidrolizar y generar la resistencia a nuevos betalactámicos, como cefalosporinas de tercera generación y de amplio espectro (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima), a los monobactámicos (aztreonam), cefamicinas, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas y trietroprim sulfametoxazol (TMP/SMX). (Ramírez & Villalobos, 2016).

Loa autores Echeverri & Cataño (2010) mencionan, en su artículo, una serie de estudios realizados con respecto a la *Klebsiella pneumoniae*, los cuales arrojan resultados tales como:

Un estudio llevado a cabo en un hospital de Nueva York demostró que tener *K. pneumoniae* resistente a carbapenems es un factor independiente de mortalidad: es tres veces más probable morir durante la hospitalización si los pacientes se infectan con este germen que si lo hacen con cepas susceptibles de este mismo microorganismo. Un estudio hecho en Israel con adultos hospitalizados, entre 2003 y 2006, demostró que los factores que predicen la adquisición de *K. pneumoniae* resistente fueron la estancia prolongada, la edad por encima de 60 años, la presencia de enfermedad pulmonar crónica y de enfermedades neurológicas, los procedimientos invasivos no quirúrgicos y, principalmente, el mal estado funcional, la estancia en UCI y el consumo previo de antibióticos, sobre todo quinolonas, aminoglicósidos y carbapenems. (p. 245).

Se reporta que la *K. pneumoniae* es la causante principal de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC); se dice que la presencia de esta enzima en particular es la principal causa contra el amplio espectro de los llamados antimicrobianos, como lo son el grupo de los betalactámicos; en este grupo se encuentran antibióticos, tales como: penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, aztreonam y el grupo de los carbapenémicos. (Aguayo, Barría, Bello, Carrasco, Domínguez, González, Lima & Vera, 2017).

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) tienen una gran incidencia de mostrar resistencia de antibióticos: aminoglucósidos, cloranfenicol, TMP/SMX, quinolonas; al tener este rango de resistencia a estos grupos de antibióticos, esto genera una disminución de alternativas terapéuticas para los pacientes con infecciones. Es de suma importancia conocer a tiempo las BLEE y las carbapenemasas realizando los aislamientos de *K. pneumoniae*, para realizar el tratamiento adecuado y poder atenuar la infección. (Echeverri & Cataño, 2010).

Infecciones asociadas a *klebsiella pneumoniae*

La *Klebsiella pneumoniae*, entre las afectaciones que causa, están las infecciones en el tracto urinario (ITU), y además de eso pueden provocar también neumonía; dicho problema se puede dar en las personas que no han presentado o tienen una enfermedad adicional, la cual se pueda asociar a esta. Cabe recalcar que tanto las infecciones del tracto urinario, como la neumonía, se adquieren a nivel intrahospitalario en pacientes que tengan el sistema inmunológico bajo. Por otra parte, otra de las afecciones que se pueden desencadenar por esta bacteria son: bacteriemia, infecciones en el sitio quirúrgico, infecciones a nivel del tracto biliar, peritonitis y meningitis. (Echeverri & López, 2010).

En general, algunas de las infecciones, donde su causa se debe a la bacteria de *Klebsiella pneumoniae*, son adquiridas en su mayoría de manera nosocomial, y en otros casos son adquiridas por los pacientes, quienes están con su salud débil y su sistema inmunológico bajo. Por lo general son infecciones a nivel: respiratorio, urinario, intrabdominal, bacteriemias e infecciones en heridas, en dispositivos intravasculares, en el conducto biliar, accesos hepáticos, peritonitis, meningitis,

entre otras, las cuales se contraen a nivel intrahospitalario, o ya sea por brotes de casos esporádicos. (Ramírez & Villalobos, 2016).

Escherichia coli

La *Escherichia* es un microorganismo que se compone de cinco subespecies, las cuales son: *blattae*, *fergusonii*, *hermannii* y *vulneris*, y la que presenta mayor estudio y es primordial, es el género *coli*; este microorganismo es un bacilo perteneciente a los gram-negativo, anaerobio y facultativo; por lo general, se encuentra en la flora normal intestinal de los seres humanos, y en animales, pero de sangre caliente; esta bacteria tiene una gran asociación con múltiples enfermedades, en especial a nivel gastrointestinal. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

A nivel morfológico la *Escherichia coli* (*E. coli*) presenta características tales como: son bacilos rectos con medidas que rondan entre 1,1-1,5 μ m de ancho y 2-6 μ m de largo; al pertenecer al grupo de las bacterias gram-negativas, pueden tener o no en su conformación la cápsula; la motilidad de este microorganismo es por medio de los flagelos; no obstante, pueden ser inmóviles; como son fuente primordial de carbono pueden hacer uso del acetato y se recalca que la *Escherichia coli* es un anaerobio facultativo. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

La bacteria de *Escherichia coli* se coloniza, en específico, en el área del intestino de los seres humanos; esta bacteria se coloniza inmediatamente se da el nacimiento del ser humano, por lo cual se designa, a nivel microbiológico, como parte de la flora normal del organismo; no obstante, hay ciertos tipos de cepas de *E. coli* que no son patógenos, y más bien lo que generan es un daño en el organismo, produciendo una serie de enfermedades y síntomas, como puede ser una diarrea fuerte, la cual desestabilice a la persona. (Rodríguez, 2002).

Figura 6. *Escherichia coli* vista por medio de Tinción de Gram



Nota: Brooks, et al. (2013).

Existe un esquema de serotipificación, el cual tiene como objetivo el determinar a qué grupo patógeno pertenece la *Escherichia*; se conoce que tiene 176 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 60 capsulares (K); el antígeno designado como “O” es el que tiene como responsable el serogrupo. Para realizar la determinación del serotipo, es por medio del antígeno somático y flagelar “O:H”, este en específico tiene sociedad con un cuadro clínico. Para que se pueda realizar esta serotipificación, se necesita la utilización de antisueros. (Rodríguez, 2002).

Aspectos patogénicos

En la actualidad, se conoce de la existencia de varios tipos de *Escherichia coli*, los cuales, a lo largo del tiempo, han adquirido ciertas características para poder adaptarse, y que también les ha permitido el poder causar un amplio espectro de diversas enfermedades; esta actividad de virulencia de la *E. coli* se debe a elementos genéticos, los cuales se codifican y se pueden movilizar en diversas cepas, con lo que se genera una recombinación, y aumentan los factores de virulencia;

con esto los diversos tipos existentes de la *E. coli* presentan la capacidad de causar enfermedades. (Kaper, Moley & Nataro, 2004).

Los tipos de patógenos de *Escherichia coli* son: *E. coli* enteropatógenos (ECEP), *E. coli* enterohemorrágico (ECEH), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), *E. coli* enteroinvasor (ECEI), y por último, y no menos importante, la *E. coli* de adherencia difusa (DAEC); estos tipos suelen ser grupos, los cuales comparten los antígenos “O” somáticos y los “H” flagelares. Por lo general, estas cepas colonizan un sitio en específico de la mucosa, evadiendo las defensas de huésped (ser humano) y, por ende, generan la multiplicación en el organismo y el daño del huésped. (Kaper, Moley & Nataro, 2004).

La bacteria *Escherichia coli* posee muchos factores de virulencia, los cuales han recibido mucha atención tanto a nivel de expresión como de especificidad; los factores de virulencia son específicos para la misma *E. coli*, que se pueden clasificar en dos categorías: adhesivas y exotoxinas, presentando funciones distintas de acuerdo con el factor que sea; por lo general, las que son adhesinas tienen un mayor grado de especificidad con el sustrato, en comparación con las exotoxinas. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

Tabla 2. Factores de virulencia especializados asociados a *Escherichia coli*

Bacteria	Adhesinas	Exotoxinas
ECET	Antígenos del factor de colonización (CFA/I, CFA/II, CFA/III)	Toxina termolábil (LT-1); toxina termoestable (STa)
ECEP	<i>Pili</i> formadores de haces (BFP); intimina	
ECEA	Fimbrias adherentes agregantes (AAF/I, AAF/II, AAF/III)	Toxina termoestable enteroagregante; toxina codificada por plásmidos
ECEH	BFP; intimina	Toxinas de Shiga (Stx-1, Stx-2)
ECEI	Antígeno del plásmido invasivo	Hemolisina (HlyA)
Patógenos urológicos	<i>Pili</i> P; fimbrias Dr	

Nota: Microbiología médica (2013).

***Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)**

Por lo general, este tipo de *E. coli* son transmitidas por materia fecal, que se puede dar por agua y alimentos contaminados. Cabe recalcar que, según la literatura, el grupo poblacional más afectado por este tipo de ECET es el de los niños menores de los 24 meses de edad; también cabe destacar que es uno de los tipos causantes de la llamada diarrea del viajero, en los países que presentan un mayor crecimiento poblacional y económico a nivel mundial. La enfermedad que la ECET produce genera los síntomas de una diarrea moderada hasta ir cada vez elevando más sus deposiciones, deshidrataciones, y esto a nivel clínico tiene una semejanza a lo que se conoce como cólera con deshidratación. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

El índice de inóculo de esta enfermedad causada por la ECET es muy alto; cabe recalcar que la forma de contagio de personas a personas no se da; la diarrea se genera tras 1-2 días de incubación y se puede mantener por alrededor 3-5 días; algunos de los síntomas de este tipo de diarrea causada por la ECET son: diarrea acuosa, dolores abdominales, cólicos abdominales, náuseas, vómitos y otros; a nivel de la mucosa intestinal, esta no desencadena ningún tipo de alteración histológica. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

Según Castro, Dávila, Peña & Tresierra, (2014), mencionan que la *Escherichia coli* enterotoxigénica tiene una tasa de mortalidad a nivel mundial de alrededor de 42 000 muertes; con esta cifra se cataloga que genera la mitad de las muertes por diarrea a nivel mundial de menores de cinco años; después de que se ingiere la ECET, esta tiene la forma de actuar colonizando el intestino delgado, y en ese lugar se ancla en los enterocitos, por medio de los factores de colonización de estas; por otro lado, se tiene una adhesiva, la cual se ubica en el extremo del flagelo.

En su artículo, Rodríguez (2002) menciona la forma en que se colonizan las ECET de la siguiente manera:

Las ETEC colonizan la mucosa del intestino delgado por medio de pilis o fimbrias que tienen diversas formas, denominadas CFA (Colonization Factor Antigens), siendo su

principal mecanismo de patogenicidad la síntesis de alguna o ambas enterotoxinas llamadas toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST). Sus genes están en un plásmido que también puede tener información genética para los CFA, aunque algunos genes de ST se han encontrado en transposones. (pp. 465-466).

***Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH)**

Se menciona que en 1982 se generó una alerta, debida a la aparición de un brote de muchos casos, de lo que se conocía como colitis hemorrágica; a causa de este brote espontáneo, los científicos e investigadores centraron la atención en un síndrome poco común, el cual presentaba entre sus manifestaciones diarrea sanguinolenta, sin presencia de leucocitos y sin presencia de temperatura; al realizar el estudio de esta, se enteraron de que se trataba de la *E. coli* enterohemorrágica o *E. coli* O157 H7; desde ese momento se avanzó en la investigación a profundidad de este tipo de *E. coli*. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

La forma más común de contagio es por medio de consumo de alimentos, como lo son las carnes contaminadas, que estén mal cocidas; también por medio de agua, leche, a la cual no se le realiza el debido proceso de pasteurización y, además, se adquieren por medio del sumo de frutas cítricas, verduras y frutas, las cuales no tuvieron el proceso de lavado, con lo cual se eliminará todo tipo de microorganismos. Según la literatura, se describe que no se necesita un excesivo consumo de estas bacterias para poder contraer la enfermedad, que con solo alrededor de 100 bacterias de ECEH sería suficiente; es de importancia destacar que este tipo de *E. coli* si se puede transmitir de persona a persona. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

Este tipo de *E. coli* (ECEH), tiene como consecuencia que puede generar diarrea y colitis hemorrágica en los seres humanos. En muchos de los casos, estas afectaciones desencadenan un síndrome urémico hemolítico; este síndrome lo que puede llegar a ocasionar es una insuficiencia renal en los niños y una tasa de mortalidad significativa en los adultos. Cabe destacar que en la población de adultos mayores, el síndrome urémico hemolítico presenta hasta un 50% de letalidad; por todos estos datos anteriormente mencionado,s se destaca que la ECEH es la principal causa del síndrome. (The Center for Food Security & Public Health, 2010).

En un inicio la ECEH, cuando es contraída por una persona, tarda en presentar los síntomas habituales en un rango de 3-4 días; este es el tiempo de incubación; en el caso de los vómitos aparecen no en todos los pacientes, por lo general, se dice que solo en la mitad de los afectados; la aparición de la diarrea sanguinolenta solo se presenta en un 30-65% de los pacientes enfermos, generalmente, pero estos síntomas suelen cesar y desaparecer en un lapso de 4-10 días; estos datos se refieren, en la gran mayoría, a los casos que no se tratan de la forma debida. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

Las cepas de ECEH son las causales de la enfermedad de países desarrollados; se estima que esta bacteria puede llegar a generar un número de hasta 73 000 infecciones anuales y 60 muertes por la misma causa; estas tasas se han demostrado en países como Estados Unidos de América; se recalca que la enfermedad que produce ECEH tiene una mayor incidencia en ciertos meses del año específicos los meses de invierno o en los ambientes con características templadas ,y en el caso de la población con mayor probabilidad de contraer esta enfermedad, están los menores de alrededor de cinco años. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

***Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI)**

La *Escherichia coli* enteroinvasiva actúa generando un cierto tipo de invasión, como bien lo designa su nombre, ya que posee un plásmido con el fin de generar la intrusión, y con este se forma la disentería; esta manera de actuar del microorganismo, y sus características en general, causan la gran similitud que existe entre la ECEI y la *Shigella spp*; el mecanismo de acción de ambas es introducirse dentro de una célula específica, y cuando ya se encuentran en esta, generar una proliferación dentro de la célula epitelial. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

En este tipo de *Escherichia coli* hay una serie de síntomas, los cuales son característicos; algunos de estos síntomas son: diarrea acuosa, presencia de sangre y de moco en las heces, además el dolor abdominal recurrente; no obstante, no a todas las personas, a quienes les da ECEI, presentan la sintomatología completa; existe la probabilidad de que en la mayoría de los casos solo

se presente diarrea; este comportamiento es lo que genera la dificultad de diferenciación entre las *E. coli* ECEI y la ECET. (Ariza, Farfán, Vargas & Vargas, 2016).

Por lo general, cuando se evidencia la aparición de los casos de ECEI, estos se desarrollan más por brotes que por casos aislados generados entre personas; la forma de transmisión de esta es por medio de la ingesta de alimentos ya contaminados, y también por aguas contaminadas; esta forma de contagio es lo que genera que la población más afectada sea la infantil. En la actualidad existen pocos estudios que a nivel epidemiológico puedan demostrar el peso que a nivel mundial genera la diarrea que ocasiona la *E. coli* enteroinvasiva; esta escasez de información se genera, ya que, en la mayoría de los casos, este tipo de diarrea, y la sintomatología ya mencionada, están relacionadas con la bacteria de *Shigella spp.* (Ariza, Farfán, Vargas & Vargas, 2016).

En su libro, los autores Murray, Pfaller & Rosenthal (2014) hacen una mención de gran importancia con respecto a las cepas de la ECEI, lo cual se indica a continuación:

Las cepas patógenas se asocian fundamentalmente a un número limitado de serotipos O: O124, O143 y O164. Las cepas presentan una estrecha relación con las propiedades fenotípicas y patógenas de *Shigella*. Las bacterias son capaces de invadir y destruir el epitelio del colon para producir una enfermedad que se caracteriza inicialmente por diarrea acuosa. Una minoría de pacientes evoluciona a la forma disentérica de la enfermedad, la cual se inicia con fiebre, espasmos abdominales y presencia de sangre y leucocitos en las heces. (p. 264).

***Escherichia coli* enteropatógena (ECEP)**

La *E. coli* enteropatógena, en la actualidad, se puede definir de acuerdo con sus características patógenas; se recalca que el descubrimiento de este tipo de ECEP se dio con el surgimiento de un brote de diarrea desconocida; esto fue alrededor de los años cuarenta, y se encontraba particularmente en la población pediátrica, con un porcentaje del 92%; este número representó una tasa muy alta, y el 8% restante se designó como grupo de control. El punto clave de infección de la ECEP es la histopatología de adhesión, y el borrado de las microvellosidades a

nivel intestinal de las personas infectadas. Al ser este tipo de infección, ocasiona una fuerte adherencia entre la bacteria y la membrana de las células epiteliales. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

Las células de este tipo de *E. coli* enteropatógena se clasifican en dos: las típicas y las atípicas; esta clasificación se genera gracias al plásmido de virulencia, el cual se nombra factor de adherencia; este tipo de ECEP lo que genera es una clase de infección intestinal, la cual forma cambios en las células del intestino (enterocitos), en su función y actividad. Dichos cambios lo que causan es un aumento generalizado de la secreción de electrolitos, y estos se dirigen hacia el espacio extracelular; también producen el aumento de la permeabilidad de las uniones intra e intercelulares, y por último se genera un cambio en la estructura. (Barrera, Díaz & Marquez, 2019).

El cuadro diarreico que esta produce es debido a una alteración ocasionada en el enterocito; esto se da después de que se genera la lesión en el mecanismo de adhesión y del borrado (A/E), y aparte de esto se genera la creación de pedestales con un tamaño reducido; la característica fundamental de estas partes es que están dotadas de una cantidad significativa de actina, y esta tiene como sitios de formación los lugares donde ocurre la adhesión de la bacteria ECEP. (Barrera, Díaz & Marquez, 2019).

Según los estudios realizados, se dice que la ECEP es la principal causa de diarrea en la población infantil, pero en los países pobres o no desarrollados; la única manifestación que se ha conocido en países que presentan un desarrollo muy avanzado ha sido en los establecimientos de guarderías y que, en el caso de los adultos o los niños mayores no se han documentado casos, la poca probabilidad de afectar la bacteria a estas poblaciones ya más adultas se debe a que su organismo ya ha desarrollado un tipo de inmunidad, lo cual los protege ante ECEP. Este tipo de *E. coli* es fácil de diferenciar de la clase de *E. coli* enterotoxigénica, ya que la forma de contagio de esta si puede ser de persona a persona. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

Con respecto a factores de virulencia o formas de contagio con las cuales se asocia la ECEP, los autores Álvarez, Baroni, Carbonari, Deza, Miliwebsky, Pereyra, Rivas, Silveyra & Villagran (2015), en su artículo mencionan lo siguiente:

Se ha descrito el aislamiento de cepas a EPEC en diferentes especies animales con diarrea o sin esta, como vacas, ovejas, cabras, cerdos, aves de corral, venados y monos tití. Aunque no hay evidencia de transmisión directa del animal al humano, algunas cepas aEPEC de origen animal pertenecen a serogrupos implicados en enfermedad humana. Esto sugiere que algunos animales podrían constituir un reservorio importante de aEPEC desde donde estas cepas podrían transmitirse al humano. (p. 318).

***Escherichia coli* enteroagregativa (ECEA)**

Este tipo de microorganismo de *E. coli* enteroagregativa se caracteriza por la aparición de brotes de diarrea acuosa persistentes, y por lo general provocan deshidratación en la población infantil, la cual se da solo en los países en vía de desarrollo muy importantes, o ya sea en personas que han realizado un viaje a este tipo de países y la contrajeron ahí; se ha demostrado que a causa de la ECEA se puede desencadenar una gastroenteritis, pero de la misma forma esto solo se ha dado en países desarrollados. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

La bacteria ECEA se logra identificar por la forma de actuar, porque genera una aglutinación en forma de pilas; este proceso de aglutinación es mediado por las fimbrias de adherencia agregantes I (AAFI); las fimbrias son adhesinas, y se mencionan algunos tipos, tales como: AAF/II, AAF/III. Cuando estas fimbrias se logran adherir a nivel del intestino, realizan una estimulación en este órgano, y se genera la producción de moco; tras generar el moco, este proporciona un grosor importante y ayuda a la protección ante el uso de los antibióticos o las células fagocíticas. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

En la actualidad, la ECEA solo se ha logrado identificar en humanos; este microorganismo se dio a conocer en un caso en Perú, en el cual un niño presentó un tipo de diarrea acuosa y se sometió a todos los análisis correspondientes. La ECEA se clasifica en los tipos: los típicos (ECEAt) y los atípicos (ECEAa). Cabe recalcar que, aparte de la diarrea acuosa, también se ha logrado dar a conocer que puede presentar inflamación intestinal, desnutrición, disminución en el crecimiento y disminución en la función cognoscitiva, por lo cual, dadas las manifestaciones

presentadas en el momento de adquirir la ECEA, muchos de los casos necesitan hospitalización. (Cerna, Estrada, Meza, Morán & Ríos, 2019).

La patogénesis de la *E. coli* enteroagregativa tiene como diferencia de los demás tipos de *E. coli*, que esta se divide en tres etapas, las cuales son: la adhesión a la mucosa intestinal, por medio de las fimbrias de adherencia; por una liberación de las enterotoxinas y de las citotoxinas, y por último se genera una inducción de la inflamación de la mucosa. Esta bacteria está recubierta con una proteína, que circula por el moco, hasta poderse adherir finalmente en el enterocito. (Cerna, Estrada, Meza, Morán & Ríos, 2019).

***Escherichia coli* de adherencia difusa (ECAD)**

El microorganismo de *E. coli* adherente difusa es el culpable de generar procesos diarreicos de tipo agudos, este tipo de ECAD se ve expresados en adhesinas afimbriales (Afa), y en las adhesinas fimbriales. El lugar donde se pueden encontrar las adhesinas es en específico en la membrana externa de la bacteria, que es el mecanismo de patogenicidad principal de este microorganismo. El daño que causa la ECAD, es una elongación de las membranas celulares, daño en las microvellosidades y un reordenamiento de las proteínas en el citoesqueleto; estos daños generan un aumento significativo en la permeabilidad del enterocito, pérdida de agua y electrolitos. (Barrera, Díaz & Marquez, 2019).

Se recalca que este tipo de *E. coli* de adherencia difusa es el menos estudiado y caracterizado hasta el momento, pero se sabe que es el más heterogéneo; lo que se menciona en la literatura que ocasiona la ECAD es un tipo de diarrea líquida (acuosa), en específico en la población infantil, pero en específico, los casos se han demostrado en los países que no están en vía de desarrollo ni son industrializados, y sus factores de virulencia se asocian con el fenotipo de la adherencia difusa. (Gómez, 2014).

Las cepas de ECDA se ven más asociadas a procesos de carácter agudo, que presenta su incidencia en niños, y también se denota casos en la población adulta; en el caso de la población adulta esta puede ser portadora de ECDA y no presentar ningún tipo de síntomas. De acuerdo con

la *E. coli* de adherencia difusa, se conocen poco los mecanismos de acción, y no se ha profundizado de forma tan exhausta el actuar de la bacteria. (Ariza, Farfán, Vargas & Vargas, 2016).

Tabla 3. Resumen de los tipos de *E. coli* enteropatógenos

Tabla. Tipos de <i>E. coli</i> enteropatógenas			
Patotipos ¹	Genotipo	Patogenicidad	Clínica
ECET	Lth, sth, stp,	Aumento del AMPc y GMPc y apertura del CFTRA	Diarrea secretora
ECEP "clásica" típica atípica	LEE BFP LEE	Adherencia íntima y destrucción de microvellosidades (lesión A/D) Adherencia localizada Adherencia íntima y destrucción de microvellosidades (lesión A/D)	Diarrea líquida prolongada
ECTS	Stx1, stx2 LEE ²	Inhibición de síntesis protéica Microtrombosis intravascular Lesión A/D	Diarrea disintérica Síndrome hemolítico urémico
ECEA	AFF, proteasas sericas, AggR	Adherencia agregativa, citotoxicidad	Diarrea líquida
ECEI	T3SS	Invasión y diseminación celular	Diarrea disintérica
ECAD	DAA	Adherencia difusa	Diarrea líquida

¹*E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteropatógena (ECEP) típica y atípica, *E. coli* productora de toxina Shiga (ECTS), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), *E. coli* enteroinvasora (ECEI), y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD). ²La presencia de LEE en cepas de ECTS se les denomina *E. coli* enterohemorrágicas (ECEH) y se asocian a lesión A/D.

Nota: Revista Chilena de Infectología (2014).

Resistencia antimicrobiana por *Escherichia coli*

La resistencia que genera la bacteria de *Escherichia coli* a los medicamentos, en especial al grupo de los antibióticos, es de suma importancia; esta bacteria, que causa infecciones urinarias, ya ha presentado resistencia a los antibióticos utilizados para tratar estas infecciones, en especial al grupo de las fluoroquinolonas; esto se ha demostrado en varios países del mundo, donde los tratamientos que se utilizan, para atenuar las infecciones del tracto urinario, no ejercen la función deseada, y está constado en más de la mitad de todos los pacientes tratados con esta clase de antibióticos fluoroquinolonas. (Organización Mundial de la Salud, 2020).

Se recalca que las infecciones del tracto urinario (ITU), son un gran problema en el área de salud a nivel mundial y a nivel local, de acuerdo con las condiciones geográficas de los lugares o

países; una de las bacterias causantes de este problema es la *Escherichia coli*, designada como el principal agente etiológico, y ha mostrado un comportamiento no deseado, por la gran resistencia que ha adquirido por medio de la producción de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE). (Calle, Cieza, Colqui & Rivera, 2017).

La resistencia antimicrobiana relacionada con la bacteria de *E. coli*, también se puede clasificar según el tipo que se esté tratando; los casos de diarrea se encuentran asociados a *E. Coli* diarrogénicas, y en estas no se recomienda el uso elevado de antibióticos, para evitar el problema de resistencia. No obstante, si se menciona el caso de la *E. coli* enterotoxigénica (ECET), el uso de los antibioticos sí está avalado y recomendado, por lo cual lo recomendado, a la hora de enfrentarse a un problema ocasionado por cualquier tipo de bacteria de *E. coli*, es estudiar y analizar los mecanismos moleculares, y con esto poder brindar la información a los profesionales en el área de la Salud, microbiólogos, biólogos, médicos, epidemiólogos entre otros, para analizar la antibioticoterapia a utilizar. (Bauer, Mosquito, Ochoa & Ruiz, 2011).

Diversos estudios realizados en hospitales de Túnez, a pacientes menores de edad, dieron como resultado una elevada tasa de resistencia de *E. coli* frente a betalactamasas. De igual forma, continuando con otros estudios realizados, pero en este caso en Suecia, se obtuvo como resultado que existe la resistencia de *E. coli* ante las ampicilinas; de esta misma manera se resalta la incidencia que puede tener una bacteria de *E. coli*, con los resultados mostrados en diversos países (Túnez, Suecia, Perú, Bolivia, México, entre otros) con respecto a las resistencias, ya que se demuestra este comportamiento ante grupos de antibióticos como lo son: quinolonas, betalactamasas, ampicilinas, fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacino), tetraciclinas, etc. (Bauer, Mosquito, Ochoa & Ruiz, 2011).

Tabla 4. Principales mecanismos de resistencia antibiótica estudiados en *E. coli*

Familia de antibióticos	Mecanismo de acción	Mecanismos de resistencia	Genes implicados
Betalactámicos	Interfiere en las últimas fases de la síntesis del peptidoglicano, componente necesario en la formación de la pared bacteriana	Betalactamasas: enzimas que se caracterizan por hidrolizar el enlace amida del núcleo betalactámico, inactivando de esta manera el antibiótico	Genes que codifican betalactamasas: <i>bla</i> TEM, <i>bla</i> SHV, <i>bla</i> CARB, <i>bla</i> OXA, <i>bla</i> CTX-M y <i>bla</i> GES.
Quinolonas	Inhibe la acción de las topoisomerasas y de la ADN girasa bacterianas	Mutaciones puntuales que generan el cambio de aminoácidos en la enzima blanco del antibiótico Sistemas de expulsión Presencia de genes plasmídicos de resistencia antibiótica	Mutaciones a nivel de <i>gyrA</i> (gen que codifica una subunidad de la ADN girasa) y <i>parC</i> (gen que codifica una subunidad de la topoisomerasa IV). AcrAB-like (sistemas presente en diferentes enterobacterias) Familia de genes <i>qnr</i> (A, B, C, D S) que codifican proteínas Qnr que impiden estericamente la unión del antibiótico al blanco. Gen que codifica la variante cr de la acetiltransferasa 6' (AAC (6'')-Ib-cr), capaz de acetilar fluoroquinolonas
Tetraciclinas	Se unen al ribosoma bacteriano, inhibiendo la síntesis de de proteínas	Presencia de bombas de eflujo específicas para tetraciclinas	Genes <i>tetA</i> y <i>tetB</i> que codifican sistemas de eflujo
Cloramfenicol	Inhibidor de la biosíntesis de las proteínas, previene la elongación de la cadena de péptidos al unirse al centro de la peptidiltransferasa del ribosoma 70S	Inactivación enzimática por acetilación Exportadores específicos de cloramfenicol	Gen <i>cat</i> que codifica a la enzima cloramfenicol acetiltransferasa Genes <i>floR</i> y <i>cmlA</i>
Trimetoprim-Sulfametoxazol	Inhibe la síntesis de la enzima dihidropteroato sintasa (sulfametoxazol) y de la enzima dihidrofolato reductasa (trimetoprim), las cuales son enzimas necesarias en la ruta del ácido fólico.	Presencia de genes que codifican formas mutantes de la enzima blanco	Genes <i>sul1</i> y <i>sul2</i> (sulfametoxazol) y genes <i>dfr</i> (trimetoprim)

Nota: Bauer, Mosquito, Ochoa & Ruiz (2011).

Con lo mencionado anteriormente, y según lo que indican los autores Espino, Leyva & Puig, (2011), se da a conocer lo siguiente: “En los últimos años, se observa un aumento de la resistencia de este microorganismo a los principales antibióticos de uso clínico como las ampicilinas, sulfametoxazol/trimetoprima, ciprofloxacina, tetraciclina y estreptomicina, tanto en cepas de origen humano como animal”. (p. 34). Por eso, se recalca el gran crecimiento que ha manifestado la bacteria de *Escherichia coli* con respecto a la resistencia bacteriana, por lo cual es un aspecto de importancia y de cuidado para el manejo de las diversas infecciones causadas por el microorganismo.

Infecciones asociadas a *Escherichia coli*

La *E. coli* es la bacteria culpable de alguna de las infecciones bacterianas más comunes a nivel del tracto urinario; también es la causante de la bacteriemia, meningitis y algunas infecciones. las cuales pueden llegar a causar neumonía; a nivel del del intestino, tanto humano como animal, es donde desarrolla infecciones comunes; por otro lado, como en muchos de los casos producidos por *E. coli*, es por los alimentos; se dice que la bacteria es un importante indicador de la calidad y del aseo a nivel alimentario. (Espino, Leyva & Puig, 2011).

Se generan infecciones en el tracto urinario (ITU) debido a la presencia de *E. coli* en el cuerpo de una persona. Cabe recalcar que existen muchos estudios y pruebas realizadas para decir cuán común es este tipo de ITU; esta enfermedad tiene su relación con los diversos tipos de específicos de *E. coli*; lo que hace que la bacteria tenga una virulencia tan alta es su capacidad de adhesinas, las cuales se adhieren a la pared de la vejiga y del tracto urinario superior; al hacer este proceso, se evita que en el momento en que una persona hace la micción, estas no puedan salir de ahí. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

La meningitis neonatal es otra enfermedad que puede desencadenar la bacteria de *Escherichia coli*; se menciona que la *E. coli* causa una cantidad importante de infecciones a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), en los niños de edades menores al mes. Estas infecciones son generadas por la existencia del antígeno capsular K1, que posee la bacteria de *E. coli*. Se describe que este antígeno o grupo, se encuentra particularmente en el aparato digestivo de las mujeres en

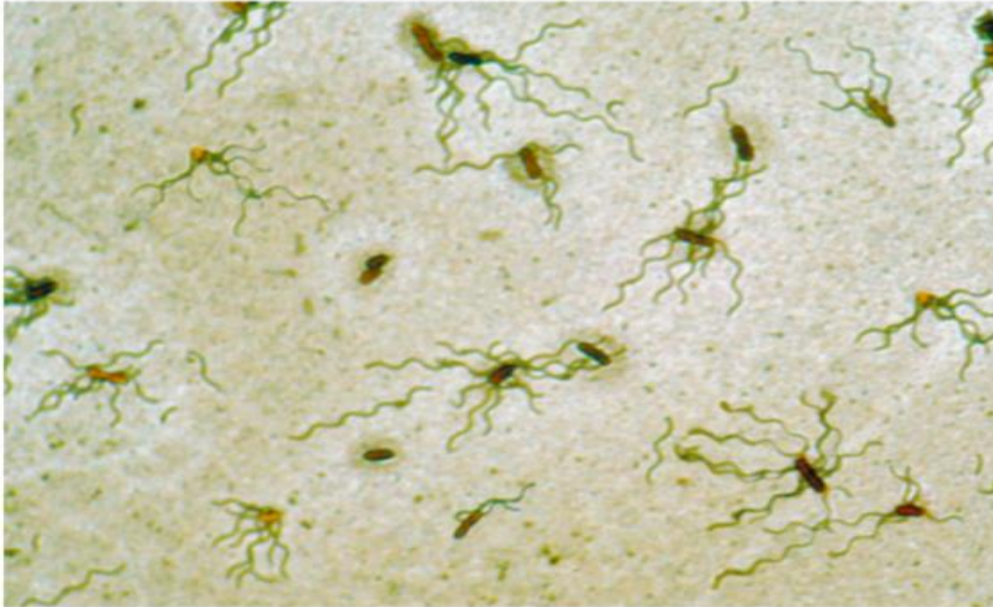
estado de gestación y también de los recién nacidos; pero no se conoce a cabalidad cuál es el mecanismo de acción que genera que se dé una mayor elección de ser grupo por los neonatos. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

Otra de las patologías que se puede llegar a desencadenar por la presencia la bacteria *Escherichia coli* en el cuerpo humano es la septicemia, dada por la presencia de las infecciones que se producen en el tracto urinario (ITU), o también en el área digestiva. Se describe que la incidencia de las septicemias puede ser altas, y que un dato a destacar es que la mortalidad asociada a las septicemias presenta una tasa alta, y alarmante, esto asociado a los pacientes, quienes también presentan un sistema inmunológico alterado, y en los que sus infecciones primarias tienen como sitio de acción el abdomen o el SNC. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

Salmonella typhi

A nivel morfológico, el tipo de bacteria *Salmonella typhi* (*S. typhi*) lo conforman bacilos gram negativos, los cuales miden de 0,7 a 1,5 por 2 a 5 μm por lo general, son móviles y no esporulados; estos, generalmente, no son productores de gas, y en cambio producen SH₂; son ornitina- descarboxilasa negativa. En su estructura poseen una serie de antígenos como lo son “O”, “H” y “K” (Vi); 1 antígeno Vi, el cual está presente específicamente en el serotipo “*typhi*”. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

Figura 7. *Salmonella typhi* con flagelos visibles



Nota: Black (2012).

Aspectos patogénicos

La forma de contraer la bacteria de *Salmonella typhi* es por medio de la ingesta, y esta se dirige directo al estómago, continúa viajando hasta llegar al intestino delgado, donde el microorganismo *Salmonella* lo que genera es una adherencia a la mucosa, y posteriormente esta invade las células M, que son los micropliegues, localizados en los enterocitos. Otra forma de transporte que caracteriza a la *Salmonella typhi* es por medio del citoplasma. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

El serotipo de la *S. typhi* se caracteriza por la supervivencia que presentan los macrófagos a nivel intracelular; se da porque la bacteria tiene la capacidad de inhibir el estallido metabólico de oxidación y se sigue multiplicando; de acuerdo con esto, sucede que es transportado por medio de la circulación linfática a los ganglios linfáticos, bazo, hígado y médula ósea. La *Salmonella typhi* reacciona generando una respuesta mononuclear y una irritación, la cual no tiene la capacidad de desencadenar una diarrea. (Ray & Ryan, 2011).

Se recalca que el tipo de *Salmonella typhi* es el único y principal hospedero es el ser humano; cuando este microorganismo se introduce en el ser humano, se puede albergar en el área de la vesícula biliar y se puede establecer como en estado de portador, en específico de portador crónico. La mayor parte de estas infecciones son por medio de la ingestión de alimentos, los cuales estén contaminados, y en los niños por vía de contagio fecal-oral. Por lo general, el índice de prevalencia y de contagio de la *S. typhi* es más en los niños con edades menores a los 5 años, y en adultos mayores de los 60 años. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

La *S. typhi* lo que genera es un tipo de enfermedad febril llamada fiebre tifoidea, la cual tiene un periodo de incubación de 7-14 días. Los síntomas relacionados con esta enfermedad son: fiebre, decaimiento, constipación y durante el período de días ya mencionado, el microorganismo actúa penetrando en el intestino delgado, y posteriormente se dirige a los ganglios linfáticos, infectándolos. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

Resistencia antimicrobiana por *Salmonella typhi*

Para combatir el microorganismo *Salmonella typhi*, que genera la fiebre tifoidea, a lo largo de los años los tratamientos de excelencia han sido los antimicrobianos, en específico, los antibióticos como el cloranfenicol y la ampicilina, en sus inicios estas antibioticoterapias ejercían el efecto deseado y mostraban tasas de mortalidad desde 20-2%, pero en la actualidad su uso y su eficacia se han disminuido, debido a la resistencia que han mostrado. Por lo tanto, los nuevos antibióticos a utilizarse son las cefalosporinas (ceftriaxona, cefixima) y la ciprofloxacina, que son hoy en día los tratamientos de primera línea. (Ray & Ryan, 2011).

Se destaca que uno de los antibióticos con mayor uso, a lo largo de los años, para combatir la enfermedad producida por la *Salmonella typhi* fiebre tifoidea fue el cloranfenicol, pero al darse un gran uso de este antibiótico se originó resistencia ante este, por lo cual se ha incursionado en el uso de otras terapias antibióticas como lo son: ampicilina, trimetropin sulfametoxazol (TMP/SMX), amoxicilina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, ofloxacino y ceftriaxona. (Lopes, Mota, Ramos, Santos & Souza, 2010).

Infecciones asociadas a *Salmonella typhi*

La fiebre tifoidea, generada por el microorganismo *S. typhi*, es extraño adquirirla o encontrarla en los lugares en los cuales se practican muy bien los hábitos de higiene y de correcto saneamiento; donde se encuentra con mayor frecuencia es en aguas sucias, alcantarillados, mariscos crudos, fruta cruda, comidas mal cocidas o manipuladas. Por lo general, el tratamiento que se utiliza para erradicar la fiebre tifoidea es el de los antibióticos fluoroquinolonas (ciprofloxacina), cefalosporina de amplio espectro y se utilizaba el cloranfenicol, pero hacia este ya la *S. typhi* presentó resistencia. (Black, 2012).

En los casos donde la fiebre tifoidea no se trate de la manera adecuada, lo que puede suceder es que esta vaya evolucionando conforme transcurre el tiempo; se puede dar por días, semanas y hasta meses. Al no darse un adecuado abordaje de la enfermedad, se puede desencadenar una serie de complicaciones, como, por ejemplo, perforación intestinal, hemorragia y confusiones mentales. Esta enfermedad causada por la *Salmonella typhi* se da a nivel mundial, y por lo general su prevalencia es mayor en los países en vías de desarrollo o los desarrollados. (Lopes, Mota, Ramos, Santos & Souza, 2010).

Los síntomas predominantes de la fiebre tifoidea son: fiebre, malestar, cefalea, estreñimiento, bradicardia y mialgia; por lo general la temperatura febril aumenta, y eso desencadena que el bazo y el hígado expandan su tamaño normal. A nivel de piel, los cambios que se observan es la aparición de manchas rosáceas, tanto en el abdomen como en el pecho. El nivel de los glóbulos blancos se mantiene en el margen normal. Antes de que se utilizaran los antibióticos para amortiguar la fiebre tifoidea, las complicaciones eran aún peores, y se daban hemorragias y perforaciones intestinales, por lo cual se tenía una tasa de mortalidad alrededor del 10.15%. (Brooks, Butel, Carroll, Mietzner & Morse, 2013).

Tipo de Bacteria Grampositiva para estudio

Staphylococcus aureus

El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo descubierto en 1880, por el médico cirujano Alexander Ogston, de nacionalidad escocesa; este nuevo conocimiento de la bacteria se dio por medio del pus que se producía en las heridas de pacientes, lo cual se sometió a estudio. En 1884, el cirujano Anton J. Rosenbach, de nacionalidad alemana, nombró a *Staphylococcus aureus* debido a la coloración rosa que tenía. Se caracteriza por la forma de agrupación en racimos, beta hemolítica, catalasa y coagulasa positiva. (Pasachova, Ramírez & Munoz, 2019).

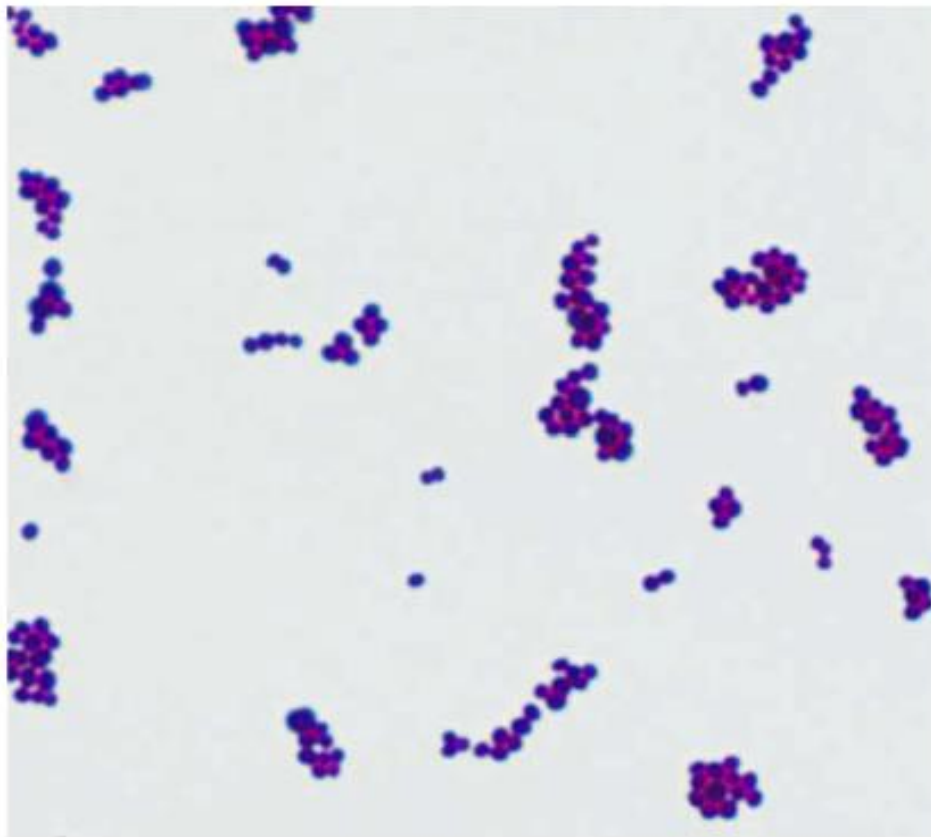
En su artículo, los autores Asensio, Culver, Lagoma & Mirón (2015) describen ciertas características generales del microorganismo *Staphylococcus aureus*; ellos mencionan:

Staphylococcus aureus pertenece a la familia *Staphylococcaceae*. Es Gram positivo, aunque las cepas viejas o los microorganismos fagocitados se tiñen como Gram negativo. Tiene forma de coco y puede aparecer en parejas, en cadenas o en racimos. Su tamaño oscila entre 0,8 a 1,5 micras de diámetro, es inmóvil y algunas cepas producen una cápsula externa mucoide que aumenta su capacidad para producir infección. En relación con su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulasa positiva, catalasa positivo y oxidasa negativo. (p. 1).

La bacteria de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es grampositiva y posee un tamaño regular; por lo general presenta uniones en tétradas o racimos; la pared celular del *S. aureus* es de peptidoglucano y con ciertas cantidades de ácido teicoico. El peptidoglucano, del cual se compone la pared celular de la bacteria, está cubierto por polisacáridos y proteínas de superficie; estas proteínas de superficie tienen un papel de gran importancia y relevancia, porque tienen la característica de factor de aglutinación (Clf) y este se enlaza con el fibrinógeno. (Ray & Ryan, 2011).

El componente básico de la pared celular de *S. aureus* es el peptidoglucano, encargado de aportar forma y estabilidad al microorganismo. Por lo general, la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* tiene una capa de recubrimiento de polisacáridos, los cuales la encapsulan; al poseer este tipo de cápsula, es lo que le aporta que se puedan diferenciar todos los dominios existentes del microorganismo, por lo cual es como se puede interactuar con diversos huéspedes y en diferentes organismos; a nivel de la estructura antigénica del *S. aureus* se sabe que existen alrededor de 30 antígenos diferentes, pero no todos se han sometido a estudios. (Basualdo, Coto & Torres, 2006).

Figura 8. Tinción de Gram mostrando *Staphylococcus aureus* en tétradas o racimos



Nota: Brooks, et al (2013).

Aspectos patogénicos

Se recalca que la capacidad que tiene el *S. aureus* de poder estimular síntomas a nivel gastrointestinal, en especial los vómitos, tanto en animales como en los humanos, es gracias a la enterotoxina que posee el microorganismo. Uno de los hospederos del *Staphylococcus aureus* es el humano, en este caso el lugar donde este habitualmente se ubica es en las narinas anteriores; aunque se sitúen en ese espacio anatómico, las bacterias se eliminan hacia la piel, que está expuesta y también en la ropa del hospedero, y de los que estén cerca en contacto. La propagación de la bacteria presenta un aumento generalizado cuando las personas se tocan la cara y aún más la nariz. (Ray & Ryan, 2011).

Una de las formas por las cuales se puede atenuar el contagio del *S. aureus* es por medio de un adecuado y constante lavado de manos; otra vía de entrada del microorganismo es por medio de los traumatismos. Se destaca que los brotes descritos por motivo de la bacteria de *Staphylococcus aureus* son por una mala higiene, que aún empeora más su transmisión, ya que la bacteria puede sobrevivir a tiempos de secado o secados con calor. (Ray & Ryan, 2011).

A nivel mundial, el *Staphylococcus aureus* es uno de los microorganismos con mayor importancia y con una serie de estudios realizados; es una bacteria que es parte de la microflora natural del ser humano; esto se dice, ya que a las horas de que se da el nacimiento de un bebé, la bacteria coloniza de inmediato su organismo; los sitios del cuerpo a colonizar son el cordón umbilical, la piel, el área perianal y algunas veces se inserta a nivel gastrointestinal; estos casos de colonización se dan en neonatos pero a nivel general, el lugar de colonización es la mucosa nasal. (Cervantes, García & Salazar, 2014).

Los autores Cervantes, García & Salazar (2014) describen, en su artículo, factores de patogenia sobre *S. aureus* importantes; ellos mencionan:

Entre 20 y 50% de la población mundial es portadora de *S. aureus* en fosas nasales y 30% de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal. Cuando las barreras mecánicas se rompen, esta bacteria puede alcanzar los tejidos más profundos y producir enfermedad. Los pacientes con infecciones por *S. aureus* suelen infectarse con la misma cepa que coloniza

sus fosas nasales, la colonización también permite la transmisión entre individuos del hospital como en la comunidad. Para una adecuada supervivencia e invasión del huésped todo este sistema de factores de virulencia deben de estar dentro de un sistema de comunicación célula-célula conocido como *quorum sensing* (QS). (p. 36).

El *S. aureus* no solo es importante por todas las infecciones que pueda generar o desencadenar; sino que aparte de ser una bacteria presente en la flora normal del organismo, también es un microorganismo que se puede transmitir por alimentos (ETA); esto se debe en gran medida a las toxinas que produce la bacteria; estas toxinas se pueden encontrar en: aire, leche, agua tanto potable como residual, comida, equipo en el cual se prepara la comida; esto explica el aumento exponencial de infecciones por *S. aureus* tanto en hospitales como en las comunidades. (Avalos, Soto & Zendejas, 2014).

Resistencia antimicrobiana por *Staphylococcus aureus*

Se describe que el microorganismo *Staphylococcus aureus* ha ido desarrollando a través del tiempo resistencia a los antibióticos; se conoce que el primer antibiótico en el cual se demostró la resistencia fue a la Meticilina (MRSA), alrededor de 1961. Posterior al descubrimiento de la MRSA se da la resistencia ante el antibiótico Vancomicina (VRSA) y así, al pasar del tiempo, se denota que las infecciones causadas por *S. aureus* resistente a los antibióticos han ido en aumento; debido a esto, se han generado tasas más altas de infecciones, difíciles de atenuar. (Álvarez & Ponce, 2012).

Los *Staphylococcus* que presentan resistencia a la metilina también son resistentes a los betalactámicos; en la actualidad se ha evidenciado también resistencia a los glicopéptidos, y con estudios *in vitro* se han demostrado cepas resistentes ante el grupo de antibióticos Macrólidos lincosamidas y estreptograminas B (MLSB), por lo cual es de importancia, antes de tratar una infección producida por *S. aureus*, realizar un perfil de susceptibilidad antimicrobiana; según estudios *in vitro*, los antibióticos clindamicina, trimetoprim sulfametoxazol (TMP/SMX), eritromicina, quinolonas y las tetraciclinas han demostrado susceptibilidad ante *S. aureus*. (Alvis, Castro, Rocha & Villafañe, 2018).

Los autores Ray & Ryan (2011) hacen mención, en su libro Sherris, Microbiología Médica, de la resistencia antimicrobiana que genera el *S. aureus*, en el cual manifiestan:

La incidencia de MRSA tiene una enorme variación geográfica. La mayoría de los hospitales estadounidenses informan de frecuencias de MRSA de 5 a 25%, pero están aumentando los brotes y se han informado tasas de resistencia de 50% en otros países. En general, se llevan a cabo pruebas con meticilina u oxacilina bajo condiciones técnicas que facilitan la detección de lo que pueda ser una pequeña subpoblación resistente y los resultados se extrapolan a otros fármacos relevantes. Por ejemplo, la resistencia a la oxacilina se considera prueba de resistencia a la meticilina, nafcilina, dicloxacilina y a todas las cefalosporinas. Se han desarrollado métodos para la detección directa del gen *mecA* pero aún no resultan prácticos para uso generalizado. A menudo se utiliza la vancomicina para tratar infecciones graves con MRSA. (p. 339).

Tabla 5. Diferencias entre cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina hospitalarias (HA-MRSA) y cepas de *S. aureus* resistente a meticilina adquiridas en comunidad (CA-MRSA)

Cepas MRSA hospitalarias (HA-MRSA)	Cepas MRSA adquiridas en la comunidad (CA-MRSA)
Resistentes a múltiples antibióticos	Resistentes por lo general solo a antibióticos β -lactámicos y ocasionalmente a eritromicina
Contienen SCCmec tipos I, II, III y VIII	Contienen SCCmec tipos IV y V-VII
Presentan una gran cantidad de toxinas	Presentan solo unas pocas toxinas, en especial la Leucocidina Panton-Valentine
Provocan gran cantidad de procesos infecciosos	Provocan principalmente infecciones en la piel y tejidos blandos, neumonía necrotizante y septicemia
Cepas aisladas en pacientes con factores de riesgo nosocomiales	Cepas aisladas en la comunidad en pacientes que no tienen los factores de riesgo de una infección nosocomial
Seis clonas pandémicas: ibérica, brasileña, húngara, Nueva York/Japón, pediátrica y EMRSA-16	Dos clonas principales, la USA 300 y la USA 400

Nota: Álvarez & Ponce (2012).

Infecciones asociadas a *Staphylococcus aureus*

Las enfermedades que se pueden producir o desencadenar por efecto de la bacteria *Staphylococcus aureus* son muchas; se pueden dar infecciones cutáneas, traumáticas, quirúrgicas, las cuales se pueden producir debido a la introducción de la bacteria por medio de la piel hasta los tejidos profundos. Por lo general, el tipo de infección causada por *S. aureus* produce abscesos, los cuales supuran pus. Aparte de este tipo de infecciones, se pueden dar otras más invasivas, como lo son: bacteriemias, infecciones del sistema nervioso central (SNC), osteomielitis, infecciones a nivel de las vías respiratorias, infecciones del tracto urinario (ITU) e infecciones a nivel gastrointestinal. (Cervantes, García & Salazar, 2014).

La foliculitis, el impétigo, la mastitis, celulitis fascitis son algunas de las infecciones a nivel cutáneo producidas por el *Staphylococcus aureus*. Se conoce que a nivel pulmonar la bacteria *S. aureus* tiene poca probabilidad de generar una afección, no siendo el caso a nivel de infecciones de SNC en específico meningitis pirógena estafilocócica, la cual se puede desencadenar por origen hematógeno, o porque se dio la complicación de un absceso. En infecciones del tracto urinario es raro que se deban a *S. aureus* y si se desencadena alguna es de origen hematógeno, esto por si acaso se realiza algún procedimiento que involucre manipulación instrumental. (Cervantes, García & Salazar, 2014).

Las enfermedades estafilocócicas se pueden dividir en dos grandes grupos según su medio de infección; en primer lugar, se tienen las que son mediadas por toxinas: síndrome de piel escaldada, una descamación en el epitelio de los lactantes; intoxicación alimentaria, generada en el lapso de 24 horas postingestión de alimentos y shock tóxico. Por otra parte, están las infecciones supurativas por *S. aureus*: impétigo, foliculitis, forúnculos, ántrax, bacteriemia, neumonía, osteomielitis, artritis séptica. (Murray, Pfaller & Rosenthal, 2014).

Pruebas y Análisis microbiológicos para el diagnóstico de las infecciones

Frotis y cultivos

Los autores Murray, Pfaller & Rosenthal (2014) hacen mención, en su libro, con respecto a la forma de cultivos de los microorganismos pertenecientes a la familia enterobacteriácea, al describir lo siguiente:

Los miembros de la familia Enterobacteriaceae crecen fácilmente en los medios de cultivo. Las muestras de materiales generalmente estériles, como el líquido cefalorraquídeo o un tejido que se obtiene durante la cirugía, se pueden inocular en medios de agar sangre no selectivos. Los medios selectivos (p.ej., agar de MacConkey, agar eosina-azul de metileno [EMB]) se usan para el cultivo de muestras que suelen estar contaminadas por otros microorganismos (p.ej., esputo, heces). El uso de estos medios selectivos diferenciales permite separar las enterobacterias que fermentan la lactosa de las cepas que no la fermentan, con lo que proporcionan información que puede ser valiosa para iniciar el tratamiento antimicrobiano empírico. (p.270).

El diagnóstico microbiológico para la detección de la bacteria *Salmonella*, indistintamente de su subclase, se basa en la utilización de medios de cultivo y caracterización de las colonias por medio de las muestras usadas; se menciona que uno de los métodos más utilizados es el coprocultivo; sin embargo, este es costoso, y por lo general tiene un bajo índice de efectividad. El medio de cultivo MacConkey es otro de los más utilizados, pero de igual modo, presenta una baja sensibilidad; se menciona que estas bajas sensibilidades se pueden deber a que en las muestras utilizadas puedan existir otros microorganismos, que entren en competencia, o también por los cambios químicos y físicos, a los cuales pueden estar expuestos los medios de cultivos usados. (Gonzalez, Hernández, Pereira, Soto & Villareal, 2014).

Con el fin de poder observar y analizar de manera correcta el *Staphylococcus aureus*, se realizan pruebas de identificación y medios de cultivo; la identificación clara y precisa se enfoca

en las toxinas y las enzimas que son generadas por la bacteria *S. aureus*; a lo largo del tiempo se han realizado medios en los cuales todas las bacterias y en este caso *S. aureus* se pueden aislar y que, por sus características, reaccionaran de forma diferente y con coloraciones diferentes. (Avalos, Soto & Zendejas, 2014).

Los autores Brooks, Butel, Carroll, Mietzner & Morse (2013), en su libro, describen las pruebas de identificación más usadas:

Frotis

Los estafilococos característicos aparecen como cocos grampositivos en racimos en frotis de pus o de esputo teñidos con la técnica de Gram. No es posible distinguir microorganismos saprófitos (*S. epidermidis*) de los patógenos (*S. aureus*) en los frotis. (p.189).

Cultivo

Las muestras sembradas en placas de agar sangre originan colonias características en un término de 18 h a una temperatura de 37°C, pero es posible que no haya hemólisis ni producción de pigmentos hasta varios días después y son óptimos a una temperatura ambiente. *S. aureus* fermenta manitol, pero otros estafilococos, no. Las muestras contaminadas con una microflora mixta pueden cultivarse en medios que contienen NaCl al 7.5%; la sal inhibe la mayor parte de la demás microflora normal pero no *S. aureus*. El agar de sal y manitol o los medios cromógenos disponibles en el comercio se utilizan para detectar portadores nasales de *S. aureus* y pacientes con fibrosis quística. (p. 189).

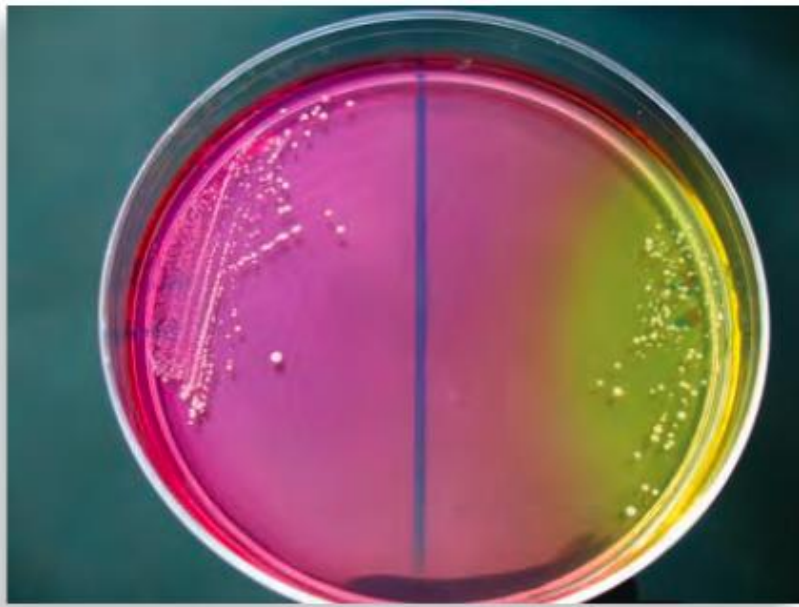
Agar Baird-Parker

Es uno de los medios que más se utiliza para la identificación de *S. aureus*; este medio de agar está conformado por piruvato sódico; la función de este piruvato es recuperar las bacterias que presenten algún tipo de lesión. Este medio tiene un alto poder selectivo, porque en sus componentes posee telurito, cloruro de litio y glicina. Se dice que hay existencia de *S. aureus* positivo cuando este medio denota una coloración y aspecto negro, lo cual se genera por la reducción del telurito. (Avalos, Soto & Zendejas, 2014).

Agar Manitol-Sal

Este tipo de agar es empleado en específico para el aislamiento de la bacteria *S. aureus*; este medio se compone de cloruro de sodio al 7,5%; la función del cloruro es ser el agente activo con el cual se inhiben, ya sea parcial o por completo, los microorganismos. El *S. aureus* es un estafilococo coagulasa positiva, y su forma de reaccionar positivamente es produciendo colonias de color amarillo y un medio circundante amarillo; no es el caso de cuando se tiene una actividad negativa a la coagulasa, la coloración que adquieren las colonias es roja. (Avalos, Soto & Zendejas, 2014).

Figura 9. Ejemplo de medio selectivo Agar Manitol sal, lado derecho de la placa muestra la reacción de *S. aureus* patógeno que usa manitol amarillo



Nota: Park & Chess (2012).

Agar MacConkey

Este tipo de agar es comúnmente usado para identificar las enterobacterias, las cuales, según sus características son gramnegativas; este medio presenta una alta selectividad, y se compone de

sales biliares y cristal violeta. La función de los componentes del medio es inhibir el desarrollo y crecimiento de las bacterias grampositivas y de los hongos en general. Aparte de las sales y el cristal violeta ya mencionados, dentro de sus composiciones se suman la lactosa y el rojo neutro, con la finalidad de indicar el pH. Al respecto, Barrero (2016) menciona: “Las bacterias fermentadoras de lactosa (lactosa+) acidifican el medio y adquieren un color rosado (por ejemplo, *E. coli*), mientras que las no fermentadoras de lactosa (lactosa-) aparecen incoloras (por ejemplo, *Salmonella*)”, (p. 44).

Agar sangre

Este tipo de medio de cultivo como característica propia presenta dos componentes fundamentales: un medio basal, el cual es constituido por soya tripticasa, infusión de cerebro-corazón, entre otros, y el otro componente es la sangre, que puede ser de oveja, caballo o conejo. Este medio, la facilidad que presenta, es que en él pueden crecer la mayoría de las bacterias, si se añaden diversos suplementos, los cuales permiten el cultivo de más microorganismos; este medio permite observar el tipo de bacteria que se tiene, si es hemolítica o no. (Murray, Pfaller, Rosenthal, 2017).

Tabla 6. Tipos de medios de cultivo

Tipo	Medios de cultivo (ejemplos)	Objetivo
No selectivos	Agar sangre	Recuperación de bacterias y hongos
	Agar chocolate	Recuperación de bacterias, incluidas <i>Haemophilus</i> y <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	Agar Mueller-Hinton	Medio para estudio de la susceptibilidad bacteriana
	Caldo tioglicolato	Caldo enriquecido para las bacterias anaerobias
	Agar dextrosa de Sabouraud	Recuperación de hongos
Selectivos, diferenciales	Agar MacConkey	Selectivo para las bacterias gramnegativas; diferencial para las especies que fermentan la lactosa
	Agar sal manitol	Selectivo para los estafilococos; diferencial para <i>Staphylococcus aureus</i>
	Agar xilosa-lisina-desoxicolato	Agar diferencial selectivo para <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> en cultivos entéricos
	Medio de Lowenstein-Jensen	Selectivo para micobacterias
	Agar Middlebrook	Selectivo para micobacterias
	CHROMagar	Selectivo, diferencial para bacterias seleccionadas y levaduras
	Agar inhibidor de hongos filamentosos	Selectivo para los hongos filamentosos
Especializados	Agar extracto de levadura con carbón vegetal tamponado (BCYE)	Recuperación de <i>Legionella</i> y <i>Nocardia</i>
	Agar cistina-telurito	Recuperación de <i>Corynebacterium diphtheriae</i>
	Caldo de cultivo Lim	Recuperación de <i>Streptococcus agalactiae</i>
	Agar sorbitol de MacConkey	Recuperación de <i>Escherichia coli</i> O157
	Agar Regan Lowe	Recuperación de <i>Bordetella pertussis</i>
	Agar sacarosa, sales biliares, tiosulfato y citrato (TCBS)	Recuperación del género <i>Vibrio</i>

Nota: Murray, Pfaller & Rosenthal (2017).

Plantas Medicinales

Se conoce como plantas medicinales a las que tienen el potencial y características de ser usadas como sustitutos de las medicinas farmacéuticas; este tipo de plantas, si se quieren utilizar, es importante destacar que se pueden usar los extractos en las diversas formas de preparación. Este tipo de plantas, también designadas como medicina herbaria, se usa desde tiempos remotos, con el fin de poder curar las diferentes enfermedades que se presentaban en la Antigüedad y hoy en día; la medicina herbaria abarca hierbas, material herbario, las preparaciones que se pueden realizar con dicho material, los cuales tienen principios activos, que son los que ejercen la función de mejorar el estado de salud de las personas. (Gallegos, 2016).

Es de suma importancia conocer el valor que poseen las plantas medicinales, ya que durante muchos años estas fueron el recurso más utilizado en la medicina, debido a que los médicos no

contaban con tantos recursos como los que hay hoy en día. Hernández (2008) menciona “**¿Qué son las plantas medicinales?** Son aquellos vegetales que elaboran sustancias que ejercen una acción farmacológica beneficiosa ó perjudicial para el organismo vivo” (p. 21). Se destaca que las plantas medicinales poseen un gran número de beneficios, y que algunos pueden ser: si se usan como medicamento pueden ser más accesible a nivel de costo, se pueden usar de forma preventiva ante enfermedades; en la farmacología también se pueden usar para elaborar medicamentos y cosméticos. (Hernández, 2008).

Generalidades de la planta *Urtica dioica*

La planta de *Urtica dioica* (*U. dioica*) pertenece a la familia Urticaceae; en esta familia se encuentran dos tipos de *Urtica*, los cuales son los más estudiados, *Urtica dioica* y *Urtica urens*; estos géneros se pueden encontrar con mayor facilidad en las zonas de Europa, África, Asia y América del Norte, aunque actualmente esta planta se ha distribuido por todo el mundo y a diversos hábitats. Este tipo de planta puede llegar a crecer hasta dos metros de altura; por lo general las características de la planta es que sus hojas son peludas y generan prurito. (Antolak, Kregiel & Pawlikowska, 2018).

Tabla 7. Taxonomía de la planta *Urtica dioica*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Urticaceae
Genero	<i>Urtica</i>

Nota: Gordillo (2018).

Los autores Ferraro, Gorzalczany & Marrassini (2010) destacan y mencionan, en su artículo, lo siguiente: “El nombre *Urtica* deriva del término latino *urere* que significa ‘quemante’

debido a la sensación que produce el contacto de la piel con sus pelos.” (p. 22). Los pelos causantes de la sensación ‘quemante’ se ubican en la parte del tallo y hojas de la planta; las propiedades que presenta la planta, por lo cual genera estos efectos a nivel de piel, son histamina, serotonina y acetilcolina en las tricomonas urticantes, que esta posee en su tallo y hojas. (Ferraro, Gorzalczany & Marrassini, 2010).

La *Urtica dioica*, a nivel mundial se le conoce de varias formas tales como: “ortiga mayor”, “ortiga”, “nettle” o “stinging nettle”, “ortie”, “ortica”, “urtiga mayor” o “urtiga” y “grosse brennessel” o “haarnessel”. A la *Urtica dioica* (Ortiga) se le considera planta arvense (mala hierba), ya que la planta se disemina de forma muy rápida en el suelo en hábitats abiertos, con o sin sombra, lugares húmedos, bordes de montañas, ríos, carreteras, entre otros. Esta especie de planta puede crecer en suelos ricos en nitrógeno, nitratos orgánicos y metales pesados; en general, la planta puede crecer en todo tipo de terreno, y con las condiciones ambientales que sean. (Antolak, Kregiel & Pawlikowska, 2018).

Figura 10. Fotografía de la planta *Urtica dioica*



Nota: Elaboración propia (2020).

Al describir la planta desde una perspectiva botánica, se caracteriza por tener un aspecto grotesco, la cual puede llegar a medir hasta los dos metros de altura; las hojas se caracterizan por rugosas y aserradas, en las cuales se les observan a simple vista las tricomonas y su forma puntiaguda, que pueden medir alrededor de 15cm de largo; se caracterizan por presentar un color verde oscuro en las hojas que se encuentren más alejadas de la raíz, y un verde más claro en las hojas más próximas a la raíz. La planta, tanto en tallo como hojas, se caracteriza por la presencia de tricomas (“pelos” o “espinas”); del tallo de la planta crecen las flores, las cuales presentan coloraciones verde-amarillo, en forma de estambres o racimos colgantes del tallo; estas flores pueden llegar a medir alrededor de 10cm, de acuerdo con el tamaño que se encuentre la planta en general. (Gordillo, 2018).

Figura 11. Partes de la planta de *Urtica dioica*



(A) Tallo; (B) Flor y Tricomas; (C) Hoja; (D) Raíz

Nota: Elaboración propia (2020).

Fitoquímica de la planta

La planta de *U. dioica* presenta, en su composición, una amplia gama de compuestos fitoquímicos, lo que la hace muy importante y, por ende, estudiada; entre algunos de los compuestos que se pueden encontrar en su conformación son: flavonoides, taninos, compuestos volátiles, esteroides, vitaminas, y otros. Por otra parte, se destacan los componentes de la planta que son los causales de la alergia, dolor o sensación quemante que la misma genera; estos son la histamina, serotonina, acetilcolina. (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).

Las hojas de la *Urtica dioica* se caracterizan por la presencia de flavonoides, los cuales se encuentran en gran cantidad en esta parte de la planta; también se compone de compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, vitaminas y minerales. En el caso de la raíz de *U. dioica* está enriquecida y compuesta por lectinas, polisacáridos, esteroides y lignanos, por lo que se destaca la cantidad de componentes de los que se componen la planta y, por ende, de lo enriquecida que se encuentra. De los flavonoides que esta planta presenta en su composición, entre los principales y de mayor importancia, se encuentran el kaempferol, la quercetina y rutina. (Benmoussa, Derfoufi, Otmani & Said, 2015).

Tabla 8. Componentes de la planta *Urtica dioica* en forma generalizada

Flavonoides (0,7-1,8%). Rutina, isoquercitrina (0,2%), quercetina, kaempferol, isoramnetina, astragatina.
Aceite esencial: cetonas (38,5%); ésteres (14,7%); alcoholes libres (2%).
Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico: ácido clorogénico, cafeico, cafeimático.
Taninos.
Ácidos orgánicos: ácido acético, butírico, cítrico, fórmico, fumárico.
Sales minerales (20%): hierro, azufre, manganesio.
Carotenos.

Esteroides.
Aminas.
Alcaloides.
Vitaminas.

Nota: Freire (2017).

Se menciona que, a nivel de composición de las hojas de las plantas de *U. dioica*, otros de los compuestos que se pueden encontrar en su conformación son: betaína, clorofila tanto A como B, colina, lecitina, ácidos grasos, de los cuales se tienen ácido acético, ascórbico, carbónico, fórmico, gálico y cílico; siguiendo con algunos otros de los componentes que se mencionan, se denota la presencia de taninos, varios tipos de sales minerales (hierro, calcio, azufre, magnesio, potasio), sin dejar de lado a las sustancias que se le denominan orgánicas, de las que están presentes acetilcolina, histamina y serotonina. (López, 2013).

Tabla 9. Composición química de *Urtica dioica*

Parte usada	Composición química
Partes aéreas	<p>Flavonoides: Quercetina-3-O-rutinósido (rutina), kaempferol-3-O-rutinósido e isorhamnetina-3-O-glucósido.</p> <p>Ácidos orgánicos: ácido cafeico y sus ésteres, ácido ferúlico, ácido clorogénico, cítrico, fumárico y fosfórico.</p> <p>Aceite esencial: Carvacol, carvona, naftaleno, (E) -anetol, hexahidrofarnesil acetona, (E) -geranil acetona, (E) -β- ionona y fitol.</p> <p>Minerales y oligoelementos: Calcio, Potasio, Magnesio, Fósforo, Hierro, Azufre, Zinc, Manganeso, Cobre, Níquel y Selenio.</p> <p>Vitaminas: vitamina A (retinol), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B5 (ácido pantoténico), vitamina B9 (ácido fólico), vitamina C (ácido ascórbico), vitamina K (filoquinona).</p>

Raíz	Polisacáridos ácidos: glucanos, arabinogalactanos y ramnogalacturonanos. Flavonoides: miricetina, quercetina, kaempferol, quercetina-3-O-rutinósido (rutina), kaempferol-3-O-rutinósido e isorhamnetina. Minerales y oligoelementos: Calcio, Magnesio, Zinc, Manganeso y Cobre. Lectinas: Aglutinina de <i>Urtica dioica</i> (UDA), constituida por un polipéptido monocatenario compuesto por 89 aminoácidos y rico en glicinas, cisteínas y triptófanos. Fitoesteroles: β -sitosterol; β -sitosterol-3-O- β -glucósido, (6'-O-palmitoil)-sitosterol-3-O- β -D-glucósido; 7 β -hidroxisitosterol; 7 α -hidroxisitosterol; 7 β -hidroxisitosterol- β -D-glucósido; 7 α -hidroxisitosterol- β -glucósido; 24R-etil-5 α -colestano-3 β , 6 α -diol; estigmasterol, campesterol, estigmast-4-en-3-on, hecogenina. Lignanos: neo-olivil, secoisolariciresinol, alcohol deshidrodiconiferílico, isolariciresinol, pinosresinol y 3,4-divanililtetrahidrofurano.
Frutas (Semillas)	Cumarinas: escopoletina. Aceite fijo: ácidos grasos saturados e insaturados. Carotenoides: β -caroteno, luteína y violaxantina. Polisacáridos.

Nota: Benmoussa, Derfoufi, Otmani & Said (2015).

Entre otros de los compuestos que se encuentran en la planta, están los fenoles y los polifenoles, que se han identificado en casi todas las partes de la planta *U. dioica* (raíces, tallo, hojas), las cuales están enriquecidas en estos fenoles. Se destaca que la composición de los fenoles será mayor en las plantas de *Urtica dioica*, que estén en áreas silvestres, en el caso de alguna planta que se tenga en el hogar, o dígase casera domesticada. (Bianco et al., 2019).

Actividad Farmacológica

La *Urtica dioica* es frecuentemente utilizada en diversas enfermedades y sus síntomas, por sus propiedades farmacológicas, la cual tiene actividad antiinflamatoria, antibacteriana, tanto para bacterias Gram negativas como Gram positivas, antioxidante, anticancerígena, entre otras, y se destaca en diversos estudios clínicos. Las propiedades antioxidantes y las antibacterianas en específico muestran su eficacia si se realiza el extracto vegetal. (Bardaa et al., 2017).

Se atribuye otra actividad farmacológica a la planta *U. dioica* a nivel antibacteriano; se conoce que la planta de *Urtica dioica* posee efectos sobresalientes en este campo tan amplio como el de las bacterias; no obstante, la forma en la cual se reconoce que ejerce la función antibacteriana es realizando la extracción de la planta (hojas) en ciertos disolventes, como acetato de etilo y en hexano; estos extractos han demostrado actividad antimaterial ante bacterias Gram negativas y Gram positivas. (Akhavan-Niaki, Fattahi & Golpour, 2016).

Se recalcan la actividad que posee la planta de *Urtica dioica*, ya que, al someterse a diversos estudios a esta, se le dio una mayor atención en el campo de la Medicina, como una alternativa ante diversas dolencias y enfermedades. Entre algunos de los beneficios de la utilización de *Urtica dioica* se destaca su raíz, como una terapia alternativa en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna. Otra de las partes de la planta, de interés y de uso médico, es la de las hojas, de las cuales ya se ha demostrado que tienen el potencial de mitigar los síntomas que desencadena la rinitis alérgica. (Brandt, Ramírez, Rutto & Xu, 2013).

El efecto que posee la planta de *Urtica dioica*, cuando se genera el roce con la piel de las personas, es debido a la histamina, serotonina y acetilcolina que posee, por lo cual, al tener estos componentes, es una alternativa ante los dolores musculoesqueléticos de las personas, ya que en específico, la histamina y la serotonina actúan en la cascada de la estimulación, que interfiere en el factor de crecimiento nervioso, y se genera una activación de neuronas nociceptivas del dolor; lo que ocasiona la planta es una hiperestimulación de los nociceptores sensoriales. (Asgarpanah & Mohajerani, 2012).

Otro de los usos y actividad que se le reconoce a la *U. dioica* es el efecto antioxidante; este efecto se observa con la utilización de los extractos de la planta realizados en disolventes como metanol y etanol, y se denota evidencia mediante análisis realizados por medio de espectrofotometría, que los extractos realizan una función sobre ciertos radicales en específico como lo son: el anión O_2^- , el radical hidroxilo OH y el radical óxido nítrico NO. (Benmoussa, Derfoufi, Otmani & Said, 2015).

En temas como la enfermedad del cáncer, se le atribuye a la planta de *Urtica dioica* un gran aporte en actividad antitumoral, debido a la composición de los polifenoles de ella (flavonoides, taninos, entre otros), que puede generar inducción o inhibición de los procesos del metabolismo celular y poder activar las vías apoptóticas; entre los tipos de cáncer a los que se les atribuye un aporte de la planta, según los estudios realizados en los últimos años, se destaca el cáncer de pulmón, gástrico, colon, próstata y mama. (Bianco et al., 2019).

Tamizaje Fitoquímico

Se le denomina tamizaje fitoquímico al procedimiento que se realiza con el fin de poder reconocer los metabolitos secundarios que posee una planta en específico; este método se realiza de primero en un procedimiento, cuando se extraen los metabolitos con la ayuda de diversos solventes; estos solventes deben contar con las características adecuadas según la planta, lo que se desea extraer y aplicando las reacciones de coloración. Se busca que este tipo de pruebas sean accesibles, de bajo costo, y que se puedan repetir los procesos. (Gordillo, 2018).

Entre los metabolitos secundarios que se pueden identificar con la utilización del tamizaje fitoquímico se destacan los fenoles y polifenoles, flavonas y flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides, aceites esenciales, alcaloides, lectinas, saponinas; se menciona que hoy en día ya existen otro tipo de técnicas con las cuales se podrían determinar, de mejor forma o de una manera más rápida, los metabolitos secundarios, pero a pesar de esto siempre los tamizajes fitoquímicos siguen siendo una forma fidedigna y eficaz para este tipo de análisis cualitativo. (Cuevas & Olvera, 2017).

Metabolitos secundarios

Los autores Jaramillo, Lemus & Rojas (2015), definen a los metabolitos secundarios: “son compuestos químicos derivados del metabolismo primario, cumplen múltiples funciones no vitales en las plantas, interviniendo en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente para protegerlas de los depredadores herbívoros, virus, hongos y bacterias”. (p.16). Se destaca que los

metabolitos secundarios también son importantes, ya que estos pueden desempeñar el papel de principios activos de algún fármaco o fitofármaco.

Los metabolitos secundarios son producidos por las plantas, ya que estas destinan una cierta cantidad del carbono que las compone y una porción de la energía que poseen para realizar un proceso de síntesis de las moléculas orgánicas propias, las cuales no tienen clara la funcionalidad en procesos respiratorios, en la asimilación de los nutrientes, en los procesos fotosintéticos, o dígase en la síntesis de proteínas, carbohidratos y hasta de los lípidos. Es de suma importancia recalcar que no todos los metabolitos secundarios se encontrarán en todos los distintos tipos de plantas o familias de las mismas. (Ávalos & Pérez, 2009).

Las plantas tienen la capacidad de poder producir diversos compuestos y metabolitos secundarios, utilizados para protegerse de los agentes externos; por ejemplo, los insectos, y también como medio de protección de las condiciones ambientales a las cuales se ven expuestas (temperatura, humedad, intensidad de luz, etc.). Existen diversos tipos de metabolitos (saponinas, taninos, alcaloides, etc.), que son causales de producir diversos gases como, por ejemplo, el metano. (Campos, Sánchez & Vélez, 2014).

Los encargados de aportarles diversas características a las plantas son los metabolitos secundarios, con características tales como: organolépticas y las visuales; por ejemplo, el olor o el aroma de una planta; otro tipo de característica que pueden aportar es la resistencia que posee la planta a diversos factores externos o ambientales; por ende, el poder conocer con claridad cuáles son los metabolitos secundarios con los cuales se compone a una planta en específico, es importante para poder darle un adecuado manejo y saber cómo es la síntesis, si se requiere para elaborar algún producto. (Guzmán, 2018).

Alcaloides

El metabolito alcaloide es una de las familias de metabolitos secundarios más grande, pero que no difieren en tres características base, las cuales son: presentan una buena solubilidad en agua, en la molécula de ellos por lo general se encuentra un átomo de nitrógeno como mínimo, y exhiben

su actividad biológica. Los alcaloides se pueden diferenciar en dos clases, los que son heterocíclicos y los que son no cíclicos; como propiedades farmacológicas se les destaca que si se usan en dosis bajas tienen la función de relajar el músculo, tranquilizantes, antitusivos, y se pueden utilizar como analgésicos. (Ávalos & Pérez, 2009).

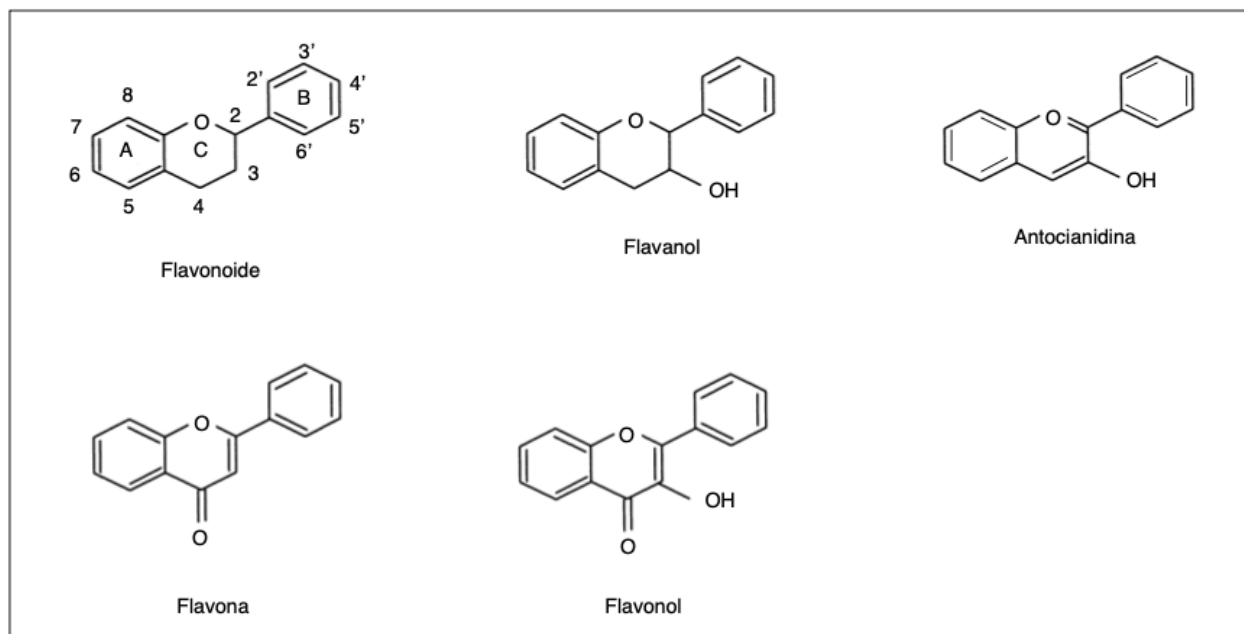
Se recalca que el grupo de los alcaloides es tan diverso, que por lo general se aíslan de los organismos vivos, como de las plantas; muchos de los grupos de alcaloides se destacan en su uso en el área de Medicina, y algunos de esos ya se han nombrado fármacos. Algunos grupos de alcaloides que se pueden encontrar son los derivados de los aminoácidos, los alcaloides purínicos, terpenos aminados y los alcaloides polipéptidos; de estos grupos se conoce que se pueden derivar más tipos de alcaloides. Canto et al., 2004).

Flavonoides

Estos metabolitos secundarios son fáciles de encontrar en los alimentos como vegetales, plantas, frutas, bebidas y verduras; son los pigmentos que por naturaleza poseen ciertos alimentos, y ejercen la función de protección ante los agentes que generan la oxidación y rayos ultravioletas, contaminación ambiental, o los productos químicos que se les pueden adicionar a los alimentos, ya sea en su producción o a la hora de su elaborarlos o prepararlos, para que sean adquiridos por las personas. (Culebras, González, Martínez & Tuñon, 2002).

A nivel de la estructura química y características fisicoquímicas, los flavonoides tienen un peso molecular bastante bajo; en su estructura química tienen una cantidad variable de grupos hidroxilo fenólicos; aparte de esto, también se componen de una estructura esquelética común de difenilpiranos. Por las diferencias que estos presentan en su estructura, se clasifican en cuatro grupos de flavonoides: flavanos, flavonoles, flavonas y antocianidinas. (Culebras, González, Martínez & Tuñon, 2002).

Tabla 10. Flavonoides, estructura básica y tipos



Nota: Culebras, González, Martínez & Tuñón (2002).

Taninos

Se describen como polímeros fenólicos, los cuales, entre sus características fisicoquímicas, tienen un peso molecular elevado, y tienen una buena solubilidad en agua, aparte de que en su estructura poseen grupos hidroxilo fenólicos. El que los taninos posean este grupo hidroxilo fenólico les otorga la capacidad de formación de proteínas, y en pocos casos la formación de iones de metálicos, aminoácidos y polisacáridos. Es fácil encontrar los taninos, ya que estos en su mayoría se encuentran en árboles, leguminosas, frutas, granos, arbustos y hasta en los cereales. (Campos, Sánchez & Vélez, 2014).

Los taninos se pueden clasificar según se encuentran en la naturaleza en dos clases, los que son hidrolizados y los condensados, de acuerdo con las diferencias que presentan en su estructura química. Una de las características por la cual se pueden diferenciar estos es que los taninos, que son hidrolizados, son más pequeños que los condensados, y también se pueden hidrolizar, como bien lo describe su nombre, de una manera mucho más fácil que los condensados. Algunos de los usos y beneficios que poseen los taninos es que sirven como antioxidantes, antimicrobianos, y hasta se describe que pueden tener función antiséptica. (Jaramillo, Lemus & Rojas, 2015).

Saponinas

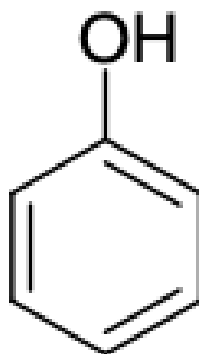
Los autores Campos, Sánchez & Vélez (2014), definen a las saponinas como “compuestos bioactivos encontrados principalmente en plantas, pero también en algunos organismos marinos e insectos. De acuerdo con el carácter químico de la aglicona (conocido como sapogenina) las saponinas se dividen en esteroides y triterpenoides”. (p. 491). Entre los tipos de saponinas que se encuentran con mayor facilidad son los triterpenoides, ya que están en mayor proporción en la leguminosa.

A las saponinas se les atribuye una serie de actividades a nivel farmacológico; esto se ha demostrado en estudios realizados; algunas de las funciones que se destacan son: la posibilidad de permeabilizar la membrana de la célula; las saponinas pueden ayudar a la disminución del colesterol sérico; también sirven de estimulantes en el proceso de liberación de hormonas, en específico de la luteinizante. Además de estos atributos mencionados de las saponinas a nivel terapéutico, en otros estudios que se han realizado se destaca que, conforme se dé un mayor avance en la nanotecnología, se podrán hacer más utilizables las saponinas, en forma de nanopartículas, para abarcar más funciones terapéuticas. (Fuchs, Melzig, Thakur & Weng, 2011).

Fenoles

Los compuestos fenólicos presentan una estructura básica, a la que se le designa fenol como molécula madre y básica, se compone de un anillo aromático nombrado fenil, y este se une a un grupo denominado hidroxilo (OH); la presencia del anillo aromático en la estructura de los fenoles es la encargada de aportar las propiedades antioxidantes. Los fenoles se pueden clasificar en varios grupos: fenoles simples, fenoles ácidos, ácidos hidrobenczoicos, ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, xanthonas, estilbenos, benzofenonas, quinonas, betacianinas, lignanos y ligninas. (Bravo, Mollinedo, Peñarrieta, Tejeda & Villa, 2014).

Figura 12. Estructura química del fenol



Nota: Bravo et al. (2014).

Los fenoles pueden actuar de varias maneras; una de esas es la fitoalexina, lo que quiere decir que cuando alguna planta se ve expuesta a algún trauma en su estructura, secreta los fenoles como medio de protección hacia los agentes que la puedan atacar, como los hongos o las bacterias; también se le atribuye el que las plantas posean una pigmentación característica; un ejemplo de un fenol que pigmenta es el de los antocianinas, los cuales dan una pigmentación roja, anaranjada, morada, en las parte exterior de los frutos, verduras o plantas. (Gimeno, 2004).

Figura 13. Propiedades organolépticas atribuidas a los compuestos fenólicos

Color
Como las antocianidinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos de muchas frutas, hortalizas y derivados: fresas, ciruelas, uvas, berenjena, col lombarda, rábano, vino tinto, etc.
Sabor amargo
Como las flavanonas de los cítricos (naringina del pomelo, neohesperidina de la naranja) o la oleuropeína en las aceitunas
Astringencia
Como las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables, por ejemplo, en el vino
Aroma
Fenoles simples como el eugenol en los plátanos

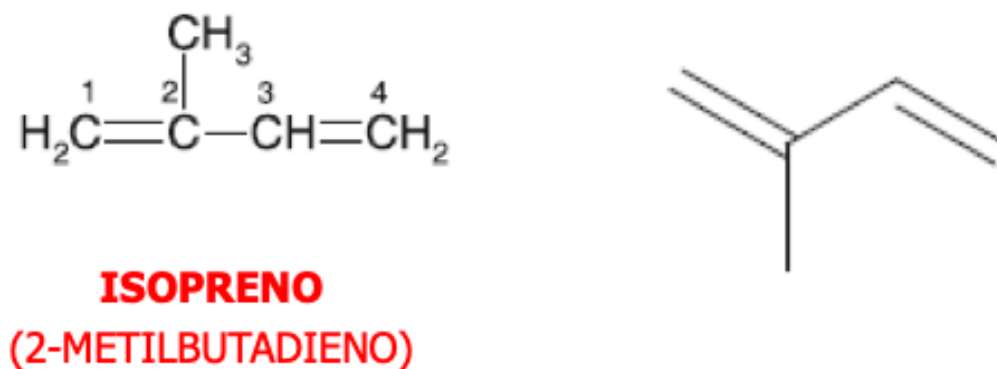
Nota: Gimeno (2004).

Terpenos

Los terpenos pertenecen a la familia de los grupos funcionales alquenos, alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y cetonas. Siempre que en las moléculas de los terpenos posean oxígeno, se le denomina terpeno, terpenoide o isopreno. Cuando en una molécula se presentan uniones de varios isoprenos, estos se nombran según la cantidad de uniones; por ejemplo, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y tetraterpenos. Los terpenos se localizan, por lo general, en la parte de las hojas, flores y frutos de las plantas en una mayor proporción, y en menor proporción en el tallo, tronco y raíz. (Fernández & Ormeño, 2012).

Algunas de las características que diferencian a los terpenos son: son compuestos con una volatilidad significativa; además, difieren en sus pesos moleculares dependiendo del tipo de terpeno que se trate; son compuestos poliméricos; en su mayoría son neutros, y de igual forma depende del terpeno de que se esté hablando, así será su solubilidad; por lo tanto, se dice que son de solubilidad variable, y lo que más se destaca es que estos compuestos siguen la regla del isopreno, lo cual se refiere a que, en una misma molécula, se pueden observar varios isoprenos consecutivos. (Pérez, 2014).

Figura 14. Estructura química del isopreno

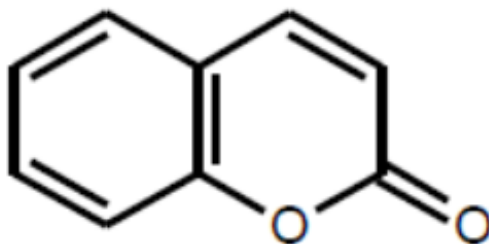


Nota: Pérez (2014).

Cumarinas

Las cumarinas se componen por un anillo de benceno, el cual se condensa con un anillo de alfa-pirona; las cumarinas pueden estar en el ambiente natural, así como se pueden formar de manera sintética; muchas de las cumarinas se logran encontrar en las plantas, microorganismos en general, en seres vivos. Si se evidencian en las plantas, se encuentran en específico en las partes de la planta (raíces, hojas, flores, frutos), en diversos tipos y clases de plantas. Las cumarinas por lo general presentan una buena solubilidad en los alcoholes, o en los disolventes orgánicos. (Pinto, 2013).

Figura 15. Estructura química general de las cumarinas



Nota: Cuevas & Olvera (2017).

Métodos de extracción

Los métodos de extracción se refieren a diversas técnicas que se llevan a cabo, y son las más utilizadas para poder realizar la separación de los componentes de una mezcla, así como su respectiva purificación. Estas extracciones se deben efectuar con la utilización de disolventes que sean de características orgánicas, y los que se someten al contacto con otro disolvente, pero de carácter acuoso. Algunos de los disolventes que se utilizan con mayor frecuencia son: agua, alcoholes y algunos ácidos, los mismos con carácter de solventes polares; otros solventes, pero con menos carácter polar, y que son utilizados, serían éter etílico, cloroformo, y por último, los no polares y utilizados son: hexano, ciclo hexano. (Guzmán, 2018).

Destilación a presión reducida (Rota vapor)

El proceso de evaporación está basado en la conversión de los líquidos en vapores, lo cual se hace posible por los cambios de temperatura que se realizan o que existan; lo que se obtiene es una mayor concentración de los solutos en los líquidos. Una de las maneras de llevar a cabo este proceso es mediante la utilización de un equipo de destilación a presión reducida (rotavapor), la forma en que se desempeña el equipo es aportando calor para poder inducir al proceso de ebullición y, además, el equipo posee una bomba de vacío, que tiene como fin generar una reducción de la presión de vapor dentro del matraz de destilación del equipo. Con estos dos puntos se logran

intercalar tanto la presión con la temperatura, y es por este medio que se destilan las sustancias. (Casado, Durán, Miro & Paredes, 2012).

Figura 16. Equipo de destilación a presión reducida (rotavapor)



Nota: Elaboración propia (2020).

Extracción líquido-líquido mediante embudo separador

El tipo de extracción líquido-líquido es un método en el cual se requieren instrumentos de laboratorio, como lo son los embudos separadores; por lo general, la aplicación de la técnica no es solo para un objetivo, sino que se puede usar para diversos objetivos. Una de las finalidades de la extracción es lograr obtener los compuestos orgánicos que posean las plantas o productos naturales; generalmente se usan dos fases diferentes, entre las que destacan la acuosa y una orgánica. Este tipo de procedimientos no asegura una pureza del 100% del extracto; no obstante, es el primer paso de la purificación, denominado lavado, se encargan de eliminar productos polares que existan en exceso, reactivos inorgánicos que se tengan en el material que se está extrayendo. (Betancur, Ocampo, Ocampo & Ríos, 2008).

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

Enfoque de la investigación

Según Hernández, Fernández & Baptista (2014), en su libro "Metodología de la investigación", de acuerdo con lo que ellos mencionan, esta investigación presenta un tipo de enfoque cuantitativo, que lo definen como secuencial y probatorio pues se da la utilización de diferentes variables, las cuales pueden ser medibles en un determinado tiempo. También, se requiere de los instrumentos para recolectar datos; estos datos serán traducidos a datos numéricos y en tablas, para poder generar una hipótesis, y con dicha premisa establecer las diversas conclusiones.

Al ser una investigación cuantitativa, se efectuará un fraccionamiento de la totalidad de la planta de *Urtica dioica* (Ortiga), utilizando diversos disolventes para poder obtener diferentes extractos. Se realizará un tamizaje fitoquímico, cromatografía al extracto obtenido de la planta de *Urtica dioica* (Ortiga), con el fin de poder identificar los metabolitos y propiedades que se encuentran presentes, y poder probar la actividad antimicrobiana frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es de tipo experimental, según los autores Hernández, Fernández y Baptista (2014), quienes mencionan que este tipo se utiliza cuando el investigador busca establecer un posible efecto de una causa que se pueda manipular intencionalmente con las variables independientes; en otras palabras: "La esencia de la concepción de experimento es que se requiere la manipulación intencional de una acción para analizar sus posibles resultados".

Esto se da, ya que se involucra la obtención de los diversos extractos obtenidos de la planta *Urtica dioica* (Ortiga) por medio de los diferentes disolventes; también la identificación y cuantificación de los principios activos presentes en los extractos de las partes de la planta, para poder determinar la capacidad antimicrobiana que esta posee frente a las diversas bacterias, tales

como *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con el fin de poder indicar si alguno de los extractos obtenidos de la planta *Urtica dioica* demuestra actividad antimicrobiana positiva, o no la presente hacía las bacterias anteriormente mencionadas.

También se señala que este estudio es de forma secuencial; cada etapa de la investigación anticipa a la siguiente; se busca probar una hipótesis con los resultados que se obtendrán de los análisis, con lo cual se formarán conclusiones.

Se pretende incubar las bacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en cajas Petri, en un medio respectivo para cada bacteria, donde la respuesta de la variable corresponderá al halo de inhibición producido con los diversos extractos y a las diferentes concentraciones de *Urtica dioica* (Ortiga).

La investigación también cuenta con el diseño explicativo, que explica la causa de los fenómenos, por qué se dan estos y los eventos de interés relacionados con estos, por lo cual se debe indagar en la búsqueda de información para darles la solución a los fenómenos, así como explica por qué se da ese fenómeno, en el caso de buscar una solución factible y viable para el problema que se ha venido dando a lo largo de los años, como lo es la resistencia bacteriana, en el caso en específico con las bacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, al cual se pretende darle una solución con una alternativa natural, aprovechando las propiedades que tiene la planta *Urtica dioica* (Ortiga) y que se pueda usar como producto antibacteriano.

Por otra parte, el diseño exploratorio tiene como objetivo estudiar un tema de investigación, poco conocido o no conocido del todo; en este caso, en Costa Rica no se cuenta con ningún estudio relacionado con la actividad antibacterial de la planta *Urtica dioica* (Ortiga), por lo cual esta exploración puede enriquecer al área de investigación del país para futuros estudios, y no solo para Costa Rica, sino que se puede aprovechar a gran escala, pues el problema relacionado con las bacterias va en aumento, y se puede explotar en este caso el recurso natural de las plantas y sus propiedades de interés. (Hernández, Fernández & Baptista, 2014).

Variables de la investigación

Tabla 11. Operacionalización de variables de la investigación.

Objetivo Específico	Variable	Definición Conceptual	Indicador	Instrumento
Desarrollar la extracción de los componentes que posee la planta <i>Urtica dioica</i> (Ortiga), mediante diferentes métodos de extracción y diversos disolventes.	Extracción.	Técnica usada para el aislamiento y purificación de un compuesto orgánico de una mezcla o de sus fuentes naturales. (López, 2005).	Medición de concentración de sólidos totales en cada uno de los extractos, para obtener las diferencias de polaridades entre el disolvente y el extracto.	Embudo separador mediante extracción líquido-líquido.
Identificar los metabolitos secundarios que posee la planta <i>Urtica dioica</i> (Ortiga), mediante un tamizaje fitoquímico.	Metabolitos secundarios.	Se encuentran en grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, desempeñan funciones ecológicas y son caracterizados por sus usos en medicamentos, insecticidas, entre otros. (Ávalos & Pérez, 2009).	Identificación de la presencia de metabolitos secundarios en los extractos de la planta <i>Urtica dioica</i> (Ortiga), realizando una comparación de coloración obtenida de la prueba contra un patrón.	Observación cualitativa de las pruebas colorimétricas: Shinoda. Dragendorff. KOH (cumarinas). Lieberman Burchard. Borntrager Kraus. Benedict. Taninos. Vainillina. Lugol. Espuma.
Determinar la eficacia de la actividad de los extractos obtenidos de la planta <i>Urtica dioica</i>	Eficacia.	Capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera. (Lam, 2008).	Porcentaje de inhibición bacteriana.	Placa de Petri. Medios de cultivo. Bacterias: <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella</i>

(Ortiga), contra las bacterias <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> , para comprobar cuánta sensibilidad presenta.				<i>typhi</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> . Incubadoras.
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------

Nota: Elaboración propia (2020).

Instrumentos, materiales y equipos usados para la realización de los extractos de *Urtica dioica*

Se describirán diversos métodos, técnicas e instrumentos por utilizar al realizar esta investigación. Los métodos y procedimientos se llevaron a cabo en las instalaciones de la Universidad Internacional de las Américas (UIA) y en el Laboratorio de Microbiología Microlabs, bajo la vigilancia y seguimiento del Dr. Roldan Ajún Chaverri.

Fraccionamiento de la planta *Urtica dioica*

Materiales y Equipos

- *Urtica dioica* (Ortiga).
- Botellas color ámbar.
- Espátulas acanaladas.
- Embudo separador.
- Aros metálicos.
- Pizeta.

- Goteros.
- Soportes universales.
- Erlenmeyers de distintos tamaños.
- Beakers de distintos tamaños.
- Rotavapor Yamato, modelo BM500.
- Bomba Zeny, modelo VP 125.
- Buchner.
- Kitasato.
- Probetas.
- Viales.
- Balanza granataria marca Ballar 2000,00g \pm 0,01g.
- Papel filtro.

Reactivos

- Etanol al 96%.
- Hexano.
- Diclorometano.
- Acetato de etilo.
- Éter etílico.
- HCl al 2%.
- Reactivo Dragendorff.
- Metanol.
- Limaduras de magnesio.
- HCl concentrado.
- KOH 0,5 mol/L.
- Cloroformo.
- Anhídrido acético.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Hidróxido de amonio 25%.

- FeCl_3 1%.
- Reactivo de Vainillina 1%.
- Reactivo de Lugol.
- Reactivo de Benedict.
- NaOH al 10%.
- Propilenglicol.
- Mentol.
- Sacarosa.
- Agua destilada.
- Sulfato de sodio.

Procedimientos y recursos

La recolección de la planta *Urtica dioica* (Ortiga) se realizó el 20 de setiembre del año 2020. La planta fue recolectada en una finca ubicada en La Esperanza de Cariari, Pococí, Limón, Costa Rica; se recolectó alrededor de un kilogramo de planta completa, la cual se lavó, se dejó escurrir y posteriormente se colocó en un congelador; se utilizaron 235,6 g para la realización del extracto.

Figura 17. *Urtica dioica* para la realización del extracto



Planta recolectada en finca (1 kg), (B) y (C). Cantidad de planta para extracto.

Nota: Elaboración propia (2020).

Se pesaron 235,6 g de *Urtica dioica*, la cual se descongeló y se procedió a colocarlos en una botella grande de color ámbar. A las plantas previamente lavadas, descongeladas y picadas finamente, luego se les agregó el disolvente, que en este caso era etanol al 70%, donde se midieron 650 mL de etanol al 96%, con 271 mL de agua destilada.

El frasco se cerró, se colocó en un armario oscuro, seco y fresco durante una semana, agitándolo ocasionalmente, mínimo una vez al día, hasta el fin del tiempo de maceración. Luego de la semana se filtró, utilizando el Büchner, Kitasato, papel filtro marca Fisherbrand, y una bomba de vacío marca Zeny, modelo VP 125, hasta lograr separar todos los compuestos sólidos del extracto, que posteriormente se colocaron en botellas color ámbar.

Figura 18. Recipiente con el material en maceración y equipo para filtración al vacío del material macerado de la planta *Urtica dioica* (Ortiga)



Nota: Elaboración propia (2020).

Concentración del extracto por destilación con presión reducida

Lo recolectado en el proceso de filtración se concentró con la utilización del rotavapor marca Yamato modelo BM500, donde el filtrado se colocó en un matraz de destilación de 500 mL; se calibraron la temperatura a 75 °C y la velocidad del equipo de rotación a 100 rpm, para concentrar el extracto, eliminando el etanol. El proceso concluyó hasta que no se destilara más cantidad de etanol.

Se obtuvieron 200 mL del extracto concentrado, el cual se dividió en dos partes: se utilizaron 50 mL para el tamizaje fitoquímico, lo cual se guardó en una botella color ámbar, y los otros 150 mL se emplearon para el fraccionamiento.

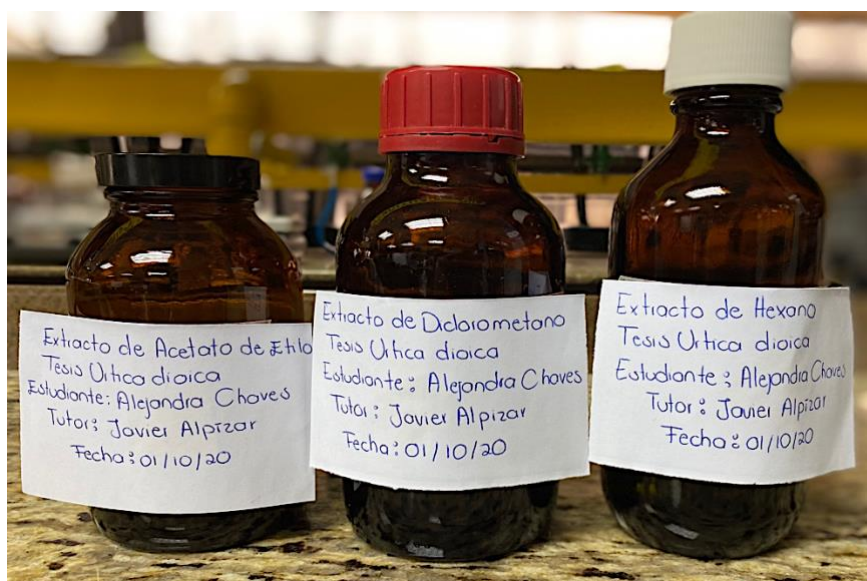
Fraccionamiento de los componentes de la planta *Urtica dioica*

Extracción con Hexano, diclorometano y acetato de etilo

1. Se tomaron 150 mL del extracto concentrado, y se dividió en tres partes; por lo tanto, se utilizaron tres embudos separadores, donde a cada uno se le colocaron 50 mL del extracto concentrado, y se le agregaron 50 mL de hexano.
2. Se mezcló levemente, sin generar emulsión, y liberando el gas de forma continua por la llave del embudo, hasta lograr equilibrar las presiones, y que no saliera más gas.
3. Se colocó el embudo separador en el soporte, y se retiró la tapa del embudo.
4. Se dejó reposar hasta lograr la separación de las fases. En el fondo se logró observar la fase más densa (acuosa) y la fase menos densa en la superficie (hexano).
5. Se retiró, por la boquilla de abajo, la fase acuosa, y por la boquilla de arriba el hexano. Al extracto acuoso se le realizaron tres extracciones, hasta obtener una coloración muy clara.

6. Se obtuvo la fracción del hexano; se colocó en una botella ámbar y se rotuló.
7. Se repitieron los pasos del 1 al 6, pero utilizando diclorometano y acetato de etilo.
8. Las fracciones se rotularon y fueron guardadas.

Figura 19. Extractos obtenidos del fraccionamiento, en recipientes y rotulados



Nota: Elaboración propia (2020).

Extracción con éter etílico

1. Se tomaron 50 mL del extracto crudo, se colocaron en un embudo separador y se les agregaron 25 mL de éter etílico. Esto se agitó suavemente (se liberó constantemente el gas), lo cual se hizo abriendo suavemente la llave del embudo.
2. Colocar el embudo de separación en el soporte, y se retira la tapa del embudo. Se deja reposar hasta que se dé la división clara de las dos fases. La fase más densa estará en el fondo, y la fase menos densa en la superficie (éter etílico).

3. Se recolectaron las dos fases en recipientes diferentes; la fase más densa (el extracto acuoso) se retiró de primera por la boquilla de abajo. En otro recipiente rotulado se colocó el extracto etéreo, el cual se retiró por la boca superior del embudo.
4. Se volvió a colocar el extracto acuoso en el embudo separador, y se agregaron de nuevo 25 mL de éter etílico (este proceso se realizó tres veces). A esto se le añadió sulfato de sodio anhidro; se colocaron todos los extractos etéreos en el recipiente rotulado como extracto etéreo, y el acuoso se recuperó en el recipiente rotulado como extracto acuoso.
5. Al finalizar quedaron dos recipientes: uno con el extracto acuoso y otro con el extracto etéreo.

Extracto Acuoso

1. El extracto acuoso se dividió en dos recipientes de volúmenes iguales, rotulados como AQ1 y AQ2.
2. Al extracto AQ2 se le añadieron 15 mL de HCl 3 mol/L; se agitó bien y se calentó durante 20 minutos.
3. Se dejó enfriar, y la muestra fría se colocó en el embudo separador. Se procedió a realizarle cinco extracciones con el éter etílico, de igual manera que se realizó con el extracto original.
4. Se separó el extracto etéreo como AQ2E, y al acuoso como AQ2.
5. La muestra AQ1 se guardó en refrigeración, para más adelante realizar las respectivas pruebas.

Extracto Etéreo

1. Se procede a concentrar, hasta un volumen no mayor de 30 mL.

2. Posteriormente, se realizan diferentes pruebas de identificación de metabolitos secundarios, utilizando el extracto anteriormente concentrado.

Figura 20. Extractos obtenidos, rotulados y en sus respectivos recipientes



Nota: Elaboración propia (2020).

Pruebas de identificación para el tamizaje fitoquímico

Figura 21. Pruebas para realizar por cada extracto obtenido, para llevar a cabo el tamizaje fitoquímico

Tipo de Extracto	Extracto Etéreo	Extracto Acuoso (AQ1)	Extracto Etéreo (AQ2E)	Extracto Acuoso (AQ2)
Pruebas para realizar.	Prueba de Dragendorff (identificación de alcaloides), Prueba de Shinoda (identificación de flavonoides), Prueba de Bornträger-Kraus (identificación de antraquinonas), Cromatografía de capa fina TLC (determinación de Terpenos), Prueba de KOH (identificación de cumarinas), Prueba de Liberman Burchard (identificación de triterpenos), Prueba de Taninos (determinación de taninos).	Prueba de Lugol (determinación de almidón), Prueba de Espuma (determinación de saponinas), Prueba de Benedict (determinación de azúcares reductores), Prueba de Taninos (determinación de taninos), Prueba de Dragendorff (identificación de alcaloides).	Prueba de Dragendorff (identificación de alcaloides), Prueba de Shinoda (identificación de flavonoides), Prueba de KOH (identificación de cumarinas), Prueba de Liberman Burchard (identificación de triterpenos), Prueba de Bornträger-Kraus (identificación de antraquinonas).	Prueba de Bornträger-Kraus (determinación de antraquinonas).

Nota: Elaboración propia (2020).

Prueba de Dragendorff (identificación de alcaloides)

1. Se tomaron 4 mL del extracto etéreo y se colocó en un tubo de ensayo; usando el baño maría, se evaporó el disolvente (éter).
2. El residuo resultante se disolvió en 3 mL de HCl al 2%; luego se le agregaron 3 gotas del reactivo de Dragendorff; este reactivo se agregó por las paredes del tubo de ensayo.
3. Si hay presencia de alcaloides se forma un precipitado anaranjado.
4. Esta prueba se repite para AQ2E y AQ1, con la excepción de que al AQ1 no se coloca en baño maría, sino que se le adicionan los reactivos después de colocar los 4 mL en el tubo de ensayo.

Prueba de identificación de cumarinas (KOH)

1. Se tomaron 4 mL del extracto etéreo y se colocó en un tubo de ensayo; usando el baño maría, se evaporó el disolvente (éter).
2. El residuo obtenido se disolvió en 1 mL de agua hirviendo.
3. Se colocaron 2 gotas separadas con ayuda de un capilar a un papel filtro, de la solución que estaba en el tubo de ensayo.
4. Se observaron las gotas del papel filtro usando la lámpara UV a una longitud de onda de 366 nm; luego se le agregó KOH a las gotas y se volvió a observar en la lámpara.
5. Si hay presencia de este metabolito, se debe observar una coloración verde alrededor de la muestra, inmediatamente después de aplicado el KOH.
6. Esta prueba se repite para AQ2E.

Prueba de identificación de flavonoides (Shinoda)

1. Se tomaron 4 mL del extracto etéreo y se colocaron en un tubo de ensayo; usando el baño maría, se evaporó el disolvente (éter).
2. El residuo resultante se disolvió en 2 mL de metanol y se calentó nuevamente en baño maría.
3. Se le adicionó una punta de espátula de limaduras de magnesio; se llevó la muestra a la capilla de extracción, con mucho cuidado, y por las paredes del tubo de ensayo se le agregó 1 mL de HCl concentrado; se agitó suavemente (se iba a generar un burbujeo violento).
4. Si hay presencia de flavonoides, se debe generar una coloración rojo oscuro (si no es alta la concentración de este metabolito puede ser un color rosa).
5. Esta prueba se repite para AQ2E.

Prueba de Liberman Burchard (Identificación de triperpenos y esteroides)

1. Se tomaron 4 mL del extracto etéreo y se colocaron en un tubo de ensayo; usando el baño maría, se evaporó el disolvente (éter).
2. Se llevó el tubo de ensayo a la capilla y se le agregó al residuo obtenido: 1 mL de cloroformo.
3. Luego se le adicionó 1 mL de anhídrido acético, y se agitó el tubo de ensayo con cuidado.
4. Al tener el tubo inclinado y sin agitar, se le agregaron lentamente 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

5. Si la prueba es positiva en este metabolito, se formará un anillo en medio de las dos fases, de color rojo marrón o verde esmeralda.
6. Esta prueba se repite para AQ2E.

Prueba de Taninos (Identificación de Taninos)

1. Se tomaron 4 mL del extracto etéreo y se colocaron en un tubo de ensayo; usando el baño maría, se evaporó el disolvente (éter).
2. Al residuo obtenido se le añadieron cinco gotas de cloruro de hierro III al 1%.
3. Si la prueba es positiva en este metabolito, la disolución se tornará de un color azul (taninos gálicos) o color verde (taninos catéquicos).
4. Esta prueba se repite para AQ1, omitiendo el paso número 1.

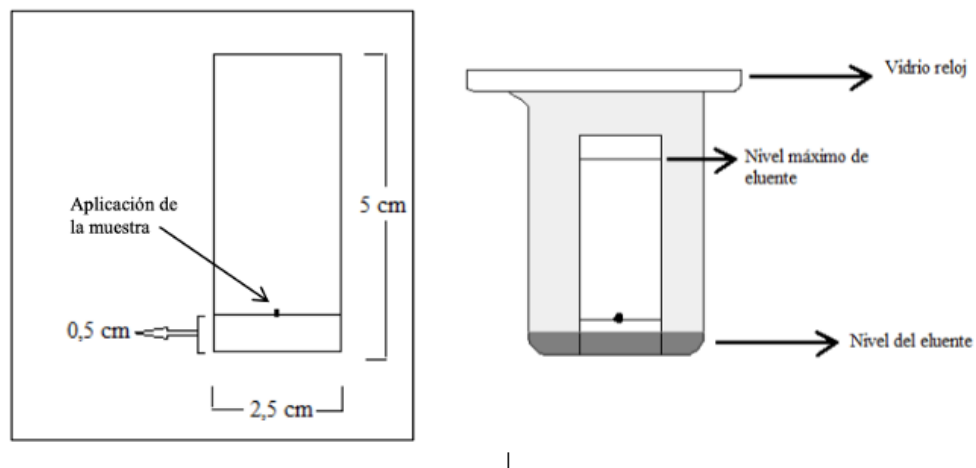
Prueba de Borntrager-Kraus (Identificación de antraquinonas)

1. Se tomaron 4 mL del extracto etéreo y se colocaron en un tubo de ensayo; usando el baño maría, se evaporó el disolvente (éter).
2. El residuo obtenido se disolvió en 1 mL de hidróxido de amonio al 25%.
3. Si la prueba es positiva en este metabolito, la disolución se tornará de un color rojo oscuro.
4. Esta prueba se repite para AQ2E y AQ2, con la excepción de que al AQ1 no se coloca en banco maría, sino que se le adicionan los reactivos después de colocar los 4 mL en el tubo de ensayo.

Prueba de Cromatografía de capa fina TLC (Determinación de Terpenos)

1. Se tomó, con un capilar, una muestra del extracto etéreo, y se aplicó una pequeña gota en una placa cromatografía de capa fina (sílica gel con fluorescencia a 254 nm); esta fue la fase estacionaria.
2. Para la elaboración de la fase móvil o eluyente se usaron 18 mL de hexano y 2 mL de acetato de etilo (9:1).
3. Se armó el sistema cromatográfico, igual que se muestra en la figura N° 22; se tuvo el cuidado de que la cantidad de eluyente realizada no estuviera por encima del punto de aplicación de la muestra.
4. Una vez ajustado el sistema, se colocó la placa dentro, se cubrió y se retiró la placa, cuando el eluyente llegó a la marca de 0.5 cm de la parte superior.
5. Se dejó secar bien y se observó con la luz UV a 254 y 365 nm.
6. A la placa se le agregó el reactivo vainillina-ácido sulfúrico en etanol, hasta que quedó bien impregnada. Se realizó desde la parte superior de la placa y se dejó correr en línea recta. Se dejó secar.
7. La placa se reveló quemando en el calentador-agitador con la parte metálica en contacto con el calentador, y se retiró cuando la coloración se observó intensa.
8. Se repitió el proceso para otra placa, con la variación de que se reveló utilizando yodos metálicos.

Figura 22. Dimensiones de una placa cromatográfica para TLC y Sistema cromatográfico.



Nota: Alpizar (2018).

Prueba de Lugol (Determinación de Almidón)

1. Se tomaron 2 mL del extracto AQ1 y se colocó en un tubo de ensayo.
2. Se le añadió gota a gota el reactivo de Lugol; hasta observar que hay un cambio de color; se puede agregar un máximo de 2 mL del reactivo.
3. Para que la prueba dé positivo a almidón, debe cambiar a color azul.

Prueba de Benedict (Determinación de azúcares reductores)

1. Se agregaron 3 mL de AQ1 a un tubo de ensayo.

2. Se le añadieron 10 gotas del reactivo de Benedict, agitando un poco.
3. Se colocó el tubo de ensayo en un baño maría y se esperó por 5 minutos.
4. La prueba es positiva si hay formación de un precipitado rojo ladrillo.

Prueba de Espuma (Determinación de saponinas)

1. Se agregaron 3 mL de AQ1 a un tubo de ensayo.
2. Se tapó el tubo con papel parafina y se agitó por un minuto; se dejó reposar por 20 minutos.
3. La prueba es positiva si la solución presenta espuma.

Pruebas microbiológicas para la evaluación de la capacidad antibacteriana de los diferentes extractos de *Urtica dioica*

Materiales y Equipo

- Micropipeta marca Neogen de 10 μ L.
- Puntas de micropipeta.
- Cámara de flujo laminar, marca Clean Bench.
- Torundas estériles, marca Medline, ref MDS202000.
- Jeringas de plástico desechables de 5 mL.
- Filtro para jeringa, 0.22 Micron X 25mm SE-AF2501-22.
- Incubadora.
- Torundas estériles.
- Viales

Reactivos

- Placas de Agar estándar.

- Cepa *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.
- Extracto de la planta *Urtica dioica* obtenido por hexano, diclorometano, acetato de etilo y acuoso.
- Reactivos hexano, diclorometano, acetato de etilo y diclorometano.
- Agua destilada.
- Levofloxacino (Primeris), marca Panalab 25mg/mL.

Se evaluó la posible actividad antibacteriana de los diferentes extractos obtenidos a partir de la planta *Urtica dioica* (acuoso, hexano, diclorometano y acetato de etilo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. Las cepas se obtuvieron del Laboratorio de Microbiología Microlabs, ubicado en Guadalupe, San José, Costa Rica; los análisis microbiológicos se desarrollaron en el mismo laboratorio, bajo la supervisión y guía del Dr. Roldan Ajún (microbiólogo). Todos los materiales, insumos y equipo fueron adquiridos en Selpro Equipos y Servicios S.A., Yire Medica HP.S.A. y la Universidad Internacional de las Américas.

Se utilizaron primeramente todos los extractos al 100%; como control positivo para las muestras se utilizó Levofloxacino 0,50 µg/mL. Se aplicaron, como blanco, los solventes utilizados para las extracciones, con el objetivo de comprobar si pudieron intervenir o no en el ensayo.

Concentración y dilución de los extractos de la planta *Urtica dioica*

Los extractos obtenidos y previamente guardados de hexano, diclorometano y acetato de etilo, se sometieron a evaporación, para obtener el extracto libre del disolvente; se llevaron a un volumen de 20 mL, de ese volumen madre se tomó 1 mL y se adicionó al vial a una concentración del 100%; seguido se tomó 0,5 mL del volumen madre y se adicionó 0,5 mL del disolvente para llegar a la concentración del 50%, y por último, para obtener la concentración del 25%, se adicionó 0,25 mL del volumen madre y 0,75 mL del disolvente. Posterior a esto, se tomó 1 mL de cada disolvente puro y de agua destilada y se adicionaron a un vial.

Antes de adicionar el volumen de 1 mL por cada vial, se debieron filtrar las muestras con la utilización de jeringas y filtros de trompo, para garantizar que no fueran trazas de material de la

planta. Este procedimiento se repitió para el extracto acuoso; todas las diluciones en sus respectivos viales fueron pesados y rotulados respectivamente, el extracto acuoso se guardó en refrigeración.

Figura 23. Muestras de los extractos listos, a las diversas concentraciones (100%, 50% y 25%) y su blanco respectivo



Nota: Elaboración propia (2020).

Cultivo de cepas Bacterianas en Laboratorio Microlabs

Primeramente, se tomaron las placas petri, las cuales estaban con agar estándar; el método de pocillo consistió en formar pocillos de un tamaño igual a grosor del agar de 4 mm de espesor, cada uno con un diámetro de 0.5 cm, y a los que se les adicionó la cantidad de 10 μ L; por cada placa se realizaron 9 pocillos, 8 pocillos para adicionar los diversos extractos y uno con una

concentración del antibiótico. Posteriormente, se enumeraron los pocillos; todo esto se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar.

Figura 24. Preparación de las placas para la realización del ensayo microbiológico

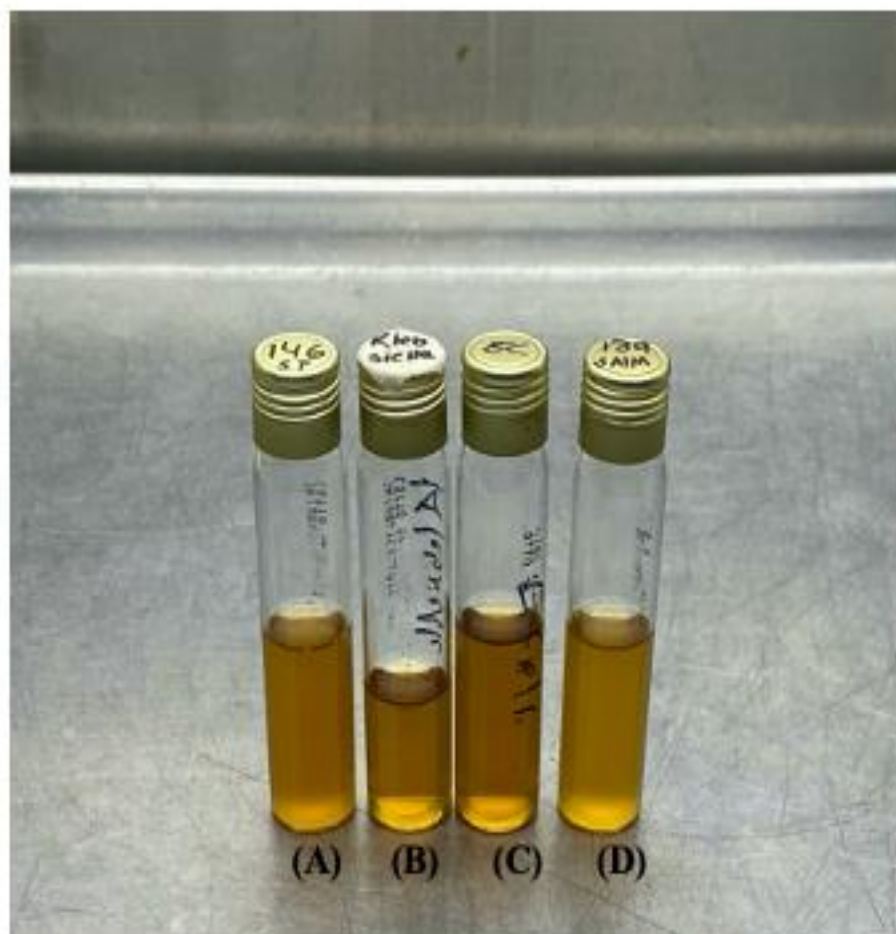


Nota: Elaboración propia (2020).

Se tomaron las colonias aisladas de la cepa con una torunda estéril; se estandarizó la concentración de bacterias; se introdujo la torunda estéril en los tubos con las cepas, a esta se le eliminaron excesos dentro del mismo tubo, presionándola contra la pared del tubo. Posterior a esto se procedió a realizar rayados de las cepas estandarizadas con torundas estériles en la placa de Petri con agar estándar, tomando el caldo preparado del tubo de ensayo con la punta de la torunda, con un movimiento de lado a lado, logrando cubrir toda la placa; se realizaron 4 rayados por placa en

distintas direcciones. Este procedimiento se hizo por cada cepa bacteriana *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.

Figura 25. Cepas bacterianas utilizadas para el ensayo microbiológico



(A) *S. aureus*, (B) *K. pneumoniae*, (C) *E. coli* y (D) *S. typhi*.

Nota: Elaboración propia (2020).

Se incubaron las placas por 24 horas, con una temperatura de 37 °C: finalizado el tiempo de incubación, se observó el crecimiento de las bacterias en las placas, y se evaluó si los extractos tuvieron o no efecto antimicrobiano, por medio del diámetro del halo. Cuando se recolectaron todas las muestras, se determinó un promedio por cada halo de inhibición.

Figura 26. Incubadora utilizada para el ensayo microbiológico, a 37 °C



Nota: Elaboración propia (2020).

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este capítulo se van a reportar los datos obtenidos en el desarrollo de la investigación, que dan seguimiento y valor a los objetivos establecidos. El orden en el cual se desarrollan los resultados es acorde a como se llevó a cabo cada uno de los pasos de la investigación y con el fin de dar respuesta a cada objetivo específico planteado. La discusión de estos resultados pretende analizar la actividad y las propiedades antibacterianas de los extractos de la planta *Urtica dioica* (Ortiga).

Fraccionamiento de la planta *Urtica dioica* (Ortiga) y obtención del extracto

En el momento que se llevó a cabo la recolección de la planta, antes de su utilización se debió realizar un adecuado lavado y selección de la planta, eliminando las partes que se encontraban dañadas o con un mal aspecto; posteriormente, se dejó secar al aire libre, se separó la planta, se envolvió en papel periódico y se colocaron en una bolsa plástica, para poder someter la planta a congelación; la congelación de la planta se llevó a cabo debido a que el material se adquirió en una finca alejada de donde se encuentran las instalaciones de la universidad y las instalaciones de la universidad estaban cerradas, no se podía trabajar de inmediato el material vegetal entonces se procedió a congelar para poder mantener conservadas las plantas.

Cabe recalcar que un día antes de hacer uso de la planta para el fraccionamiento y obtención del extracto, se sacó de congelación y se secó con ayuda de toallas de papel; este proceso se puede observar en la figura 27.

Figura 27. Planta de *Urtica dioica*, lavada, secada y cortada, lista para la obtención del extracto



Nota: Elaboración propia (2020).

El método de extracción usado en esta investigación fue mediante la maceración de la planta en etanol al 70% durante una semana. Luego de esa semana, la mezcla se filtró y el disolvente se concentró mediante evaporación rotatoria a presión reducida, que según menciona Cefalu et al. (2016), en su artículo de investigación, que el uso del rotavapor es el método más utilizado, de fácil uso y con un excelente resultado, y de esta manera eliminar completamente el contenido de etanol y así, se obtuviera un extracto crudo en agua. El extracto crudo se trató con varios disolventes de polaridad distinta a la del agua para proceder a la separación de los compuestos del extracto crudo según su afinidad en los disolventes. Este proceso se conoce como fraccionamiento y los disolventes utilizados fueron hexano, diclorometano y acetato de etilo, es un orden establecido para ir incrementando poco a poco la polaridad.

Posteriormente a la extracción etanólica y con la finalidad de obtener los extractos de hexano, diclorometano, acetato de etilo y por último y no menos importante el extracto acuoso se lleva a cabo por medio de extracción líquido-líquido la cual se encuentra entre los diversos métodos de extracción que se han utilizado en estudios de la planta de *Urtica dioica* según Fariza, Ibrahim, Modarresi & Mousavi, (2012) en su artículo Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*, los cuales realizan la extracción de la planta *Urtica dioica* mediante el mismo método.

Figura 28. Extractos de hexano, diclorometano, acetato de etilo y acuoso, obtenidos en el fraccionamiento del extracto crudo la planta de *Urtica dioica*



Nota: Elaboración propia (2020).

La obtención de los extractos fue mediante la técnica de maceración, es un método sencillo y eficiente de extracción de material vegetal, para componentes que posean características en los solventes utilizados, la técnica se emplea con el fin de poder obtener en la extracción los compuestos o sustancias que posee el material vegetal, en este caso la planta de *Urtica dioica*, por ejemplo, compuestos fenólicos, taninos, etc. (Casassa et al. 2006).

Posterior a la aplicación de las técnicas para obtener los extractos, se lograron los cuatro diferentes extractos buscados, los cuales se alcanzaron en volúmenes distintos, y en general poca viscosidad. En el caso del extracto de hexano presentó características organolépticas tales como: coloración verde brillante, con una consistencia líquida y con una apariencia translúcida. El extracto de diclorometano entre sus características organolépticas se resalta: la coloración fue un verde brillante más oscuro si se compara con el extracto de hexano, con una apariencia translúcida y con una consistencia líquida.

El extracto de acetato de etilo sus características organolépticas en el caso de la coloración difiere en comparación a los dos extractos anteriormente mencionados, ya que este presenta una coloración rojo vino oscuro, una apariencia relativamente translúcida por que se le pueden observar algunas partículas de la planta y la consistencia es líquida y por último el extracto acuoso, la

coloración es café, consistencia líquida y con una apariencia translúcida con presencia de pocas partículas visibles. En la tabla 12, se muestran los resultados tabulados de forma resumida.

Tabla 12. Características organolépticas y cantidad obtenida de los extractos obtenidos a partir del fraccionamiento de la planta *Urtica dioica* (Ortiga)

Extractos	Características organolépticas	Volumen mL
Hexano	Apariencia: Translúcido. Color: Verde brillante. Consistencia: Líquido.	200 mL
Diclorometano	Apariencia: Translúcido. Color: Verde brillante más oscuro. Consistencia: Líquido.	190 mL
Acetato de Etilo	Apariencia: Translúcido con partículas visibles. Color: Rojo vino oscuro. Consistencia: Líquido.	300 mL
Acuoso	Apariencia: Translúcido con pequeñas partículas. Color: Café. Consistencia: Líquido.	90 mL

Nota: Elaboración propia (2020).

Posterior a la obtención y caracterización de los diversos extractos producidos se procede a determinar la cantidad de los sólidos disueltos en los extractos y alcanzar la concentración de cada extracto. La determinación de las concentraciones de los extractos se encuentra en la tabla 13, los cuales se obtuvieron por la determinación de la masa por diferencia registrando las masas de los viales vacíos con su respectiva tapa y posteriormente con el residuo de material contenido en 1 mL del extracto. La masa de los residuos de los extractos se cuantificó en mg. La concentración obtenida por mL de extracto es información importante para los posteriores resultados obtenidos en los ensayos microbiológicos.

Se realizan los cálculos tanto para los extractos hexano, diclorometano, acetato de etilo y acuoso, así como para sus respectivos blancos, ya que en el ensayo microbiológico se utilizarán ambos. Esto para tener un parámetro como patrón por extracto para realizar un análisis más detallado de las interacciones que se obtengan en el ensayo microbiológico. Los datos de los extractos blanco también se observan en la tabla 13.

Tabla 13. Masas de las variables por cada extracto y obtención de la concentración de los extractos preparados

Extracto	Muestra	Masa de los viales vacíos con tapa (mg)	Masa de los viales + sólidos disueltos con tapa (mg)	Masa sólidos disueltos (mg)	Volumen administrado al vial (mL)	Concentración (mg/mL)
Acuoso	Concentrada	2324,8	3350,7	1025,9	1,0 mL	1025,9 mg/mL
Acetato de Etilo	Concentrada	2586,7	3490,6	903,9	1,0 mL	903,9 mg/mL
Diclorometano	Concentrada	2774,1	3796,7	1022,6	1,0 mL	1022,6 mg/mL
Hexano	Concentrada	2730,1	3207,2	477,1	1,0 mL	477,1 mg/mL

Nota: Elaboración propia (2020).

La determinación de la concentración masa/volumen de los extractos obtenidos y los cuales se muestran en la tabla 13, se realizó mediante la utilización de la fórmula:

$$\text{Concentración} \frac{\text{masa (mg)}}{\text{volumen (mL)}} : \frac{\text{masa sólidos disueltos en miligramos(mg)}}{\text{Volumen administrado al vial (mL)}}$$

Caracterizaciones fitoquímicas de la planta *Urtica dioica*, por medio del tamizaje fitoquímico para la identificación de los metabolitos secundarios presentes en su conformación y estructura

Con el fin de poder llevar a cabo la caracterización de los componentes activos que posee la planta de *Urtica dioica* se realiza el tamizaje fitoquímico para el extracto etéreo donde se analizaron la presencia de metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, terpenos, triterpenos, antraquinonas, almidón y azúcares reductores. Las pruebas se les realizaron a los extractos etéreos (E), acuosos (AQ1 y AQ2) y del extracto AQ2 se fraccionó para obtener (AQ2E y AQ2), estos extractos se obtuvieron de acuerdo con el procedimiento ya descrito en la metodología de la investigación.

Los resultados obtenidos por cada extracto analizado se pueden observar en la tabla 14, en la cual se describen los resultados de la siguiente forma: (+++) = muy positivo; (++) = positivo; (+) levemente positivo; (-) negativo. Se realiza esta clasificación de acuerdo con las observaciones realizadas, a las coloraciones obtenidas en las pruebas y las reacciones que se produjeron, según lo menciona Alpízar (2018), en su Manual de Laboratorio de Farmacognosia.

Tabla 14. Resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico realizados a los diversos extractos de la planta *Urtica dioica*

Prueba	Identificación	Resultado de presencia positiva	Extracto analizado	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	Precipitado naranja	Etéreo	(+)
			AQ2E	(-)
			AQ1	(-)
Shinoda	Flavonoides	Coloración rojo, rosado o rojo oscuro	Etéreo	(+++)
			AQ2E	(++)
KOH	Cumarinas	Coloración verde alrededor	Etéreo	(-)
			AQ2E	(++)
			Etéreo	(+++)

Lieberman Burchard	Triterpenos y Esteroles	Coloración rojo marrón o verde esmeralda	AQE2	(+++)
Borntrager- Kraus	Antraquinonas	Coloración rojo oscuro	Etéreo	(-)
			AQ2E	(-)
			AQ2	(-)
Taninos	Taninos	Coloración verde o coloración azul	Etéreo	(-)
			AQ1	(++)
Cromatografía capa fina	Terpenos	Manchas verdes, azules o moradas	Etéreo	(+++)
Lugol	Almidón	Azul	AQ1	(-)
Espuma	Saponinas	Espuma	AQ1	(+)
Benedict	Azúcares reductores	Precipitado rojo	AQ1	(-)

(+++)= muy positivo; (++) = positivo; (+) levemente positivo; (-) negativo.

Nota: Elaboración propia (2020).

De acuerdo con los datos mostrados en la tabla 14, se puede observar que, según la cantidad de pruebas obtenidas por cada extracto analizado, el extracto etéreo es el que muestra una mayor presencia de metabolitos secundarios, lo que designa que en su mayoría los compuestos que presenta la planta de *Urtica dioica* son característicamente no polares, ya que el éter al ser un disolvente poco polar atrae a los compuestos del extracto. Otro de los extractos que mostro una cantidad significativa de metabolitos secundarios fue el extracto AQ2E y por último el extracto AQ1.

Una forma más clara y resumida de saber cuáles son los metabolitos secundarios que si están presentes en la planta *Urtica dioica* se observa en la tabla 15, como resultado final del tamizaje fitoquímica previamente realizado.

Tabla 15. Tipos de metabolitos detectados mediante el tamizaje fitoquímico en la planta de *Urtica dioica*

Planta <i>Urtica dioica</i> (Ortiga)	Presencia de metabolitos secundarios
	Alcaloides
	Flavonoides
	Cumarinas
	Triterpenos y Esteroles
	Taninos
	Terpenos
	Saponinas

Nota: Elaboración propia (2020).

A partir de los resultados obtenidos podemos afirmar que la planta *Urtica dioica* que se empleó para este trabajo, es rica en Alcaloides, Flavonoides, Cumarinas, Triterpenos y Esteroles, Taninos, Terpenos y Saponinas, lo cual coincide con los tamizajes fitoquímicos elaborados por Afshar, Ghafari, Jahanshahi & Jafar (2013), Baunthlyal, Jyoti & Singh (2015), Amiri, Jafari & Jafari (2020) y Juma, et al (2015), en donde mencionan resultados positivos para la identificación de Alcaloides, Flavonoides, Triterpenos y Esteroles, Taninos, Terpenos y en menor proporción las Saponinas.

En el análisis que se muestra a continuación, se observa de forma más detallada los resultados obtenidos para cada uno de los metabolitos presentes o ausentes en la planta.

Identificación de alcaloides

Las pruebas para poder identificar la presencia de los alcaloides se le realizó a los extractos etéreo, AQ1 y AQ2E, cabe recalcar que para poder designar un resultado positivo en esta prueba lo que se espera es la formación de un precipitado de coloración naranja, en este caso como se observa en la figura 27, para el extracto etéreo la prueba resulto positiva debido a que se denota un pequeño precipitado en la parte inferior del tubo de ensayo, en el caso del extracto AQ1 la prueba

resultó como negativa, ya que la coloración queda en un verdoso-café y por último en el caso de la prueba para el extracto AQ2E la prueba también se designa como negativa, ya que no genera ningún precipitado, aunque la coloración de esta sea naranja no se denota la presencia de un precipitado.

La presencia de los alcaloides en la planta de *Urtica dioica* si se tiene descrita, según artículos consultados menciona Juma, et al (2015), reafirman la presencia de los metabolitos secundarios alcaloides contenidos en la planta de *Urtica dioica*, si bien no solo en este estudio realizado, sino que en diversos estudios se menciona que los alcaloides si se encuentran en los extractos de las diversas partes de la planta, de igual forma Baunthlyal, Jyoti & Singh (2015). Reafirman lo anteriormente dicho, respecto a la presencia de los alcaloides.

Figura 29. Aplicación de pruebas de identificación de Alcaloides con reactivo Dragendorff, extractos: Etéreo, AQ1 y AQ2E



Nota: Elaboración propia (2020).

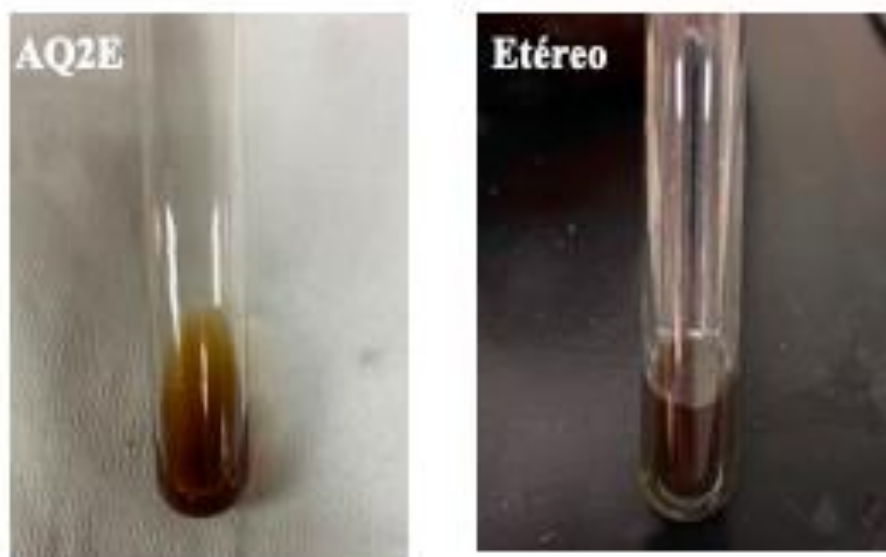
Identificación de flavonoides

Para realizar la correcta identificación de los flavonoides es por medio de la prueba de Shinoda, la forma en que se puede designar como positiva la prueba es si se denota un cambio de

coloración rojo o también rosado claro, por ende los extractos que se utilizaron para esta prueba fueron los AQ2E y el extracto etéreo, como se puede observar en la figura 29, los dos presentan un resultado positivo, inicialmente la coloración de los extractos era verde por ende el cambio de coloración si fue el adecuado según lo menciona la literatura.

Los autores Bianco, et al (2019), en su artículo *Therapeutic Perspective of Molecules from Urtica dioica Extracts for Cancer Treatment*, demuestran que en la composición fitoquímica de la planta *Urtica dioica* si existe la presencia del metabolito secundario flavonoide. En la planta, la presencia de estos metabolitos, se asocian a diversas funciones en la planta como por ejemplo protección ante los insectos, microorganismos y hasta de la radiación UV. Juma, et al (2015).

Figura 30. Aplicación de pruebas de identificación de flavonoides con reactivo shinoda



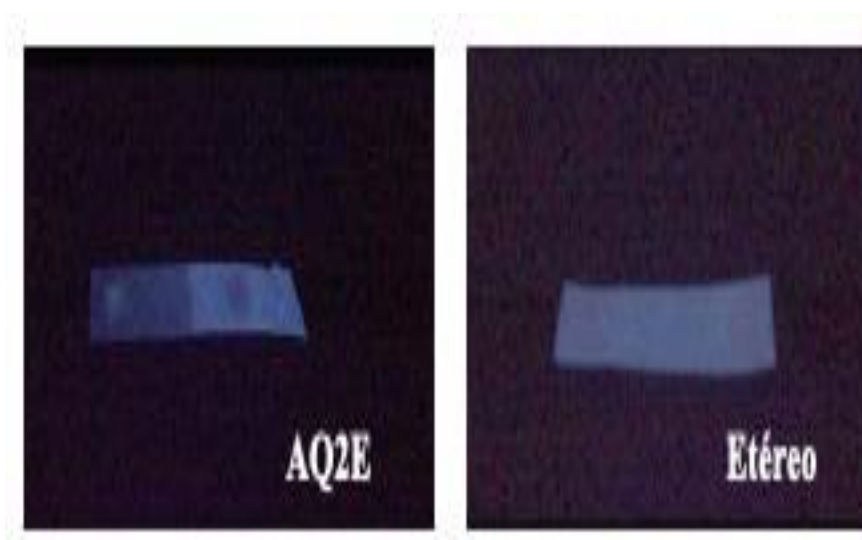
Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Cumarinas

Se realizó al extracto AQ2E y al etéreo la prueba con la cual se identifica la presencia de cumarinas, con ayuda del reactivo KOH, se pudo identificar la presencia de cumarinas en el extracto AQ2E esto al revelar el resultado con la ayuda de la lámpara de UV visible. Alpízar (2018),

describe que para poder designar positivo un resultado ante cumarinas se necesita observar una coloración verde alrededor de la muestra, en la figura 31 se puede observar de mejor forma la obtención del resultado positivo ante un solo extracto.

Figura 31. Aplicación de pruebas de identificación de Cumarinas con reactivo KOH, extractos: AQ2E y Etéreo

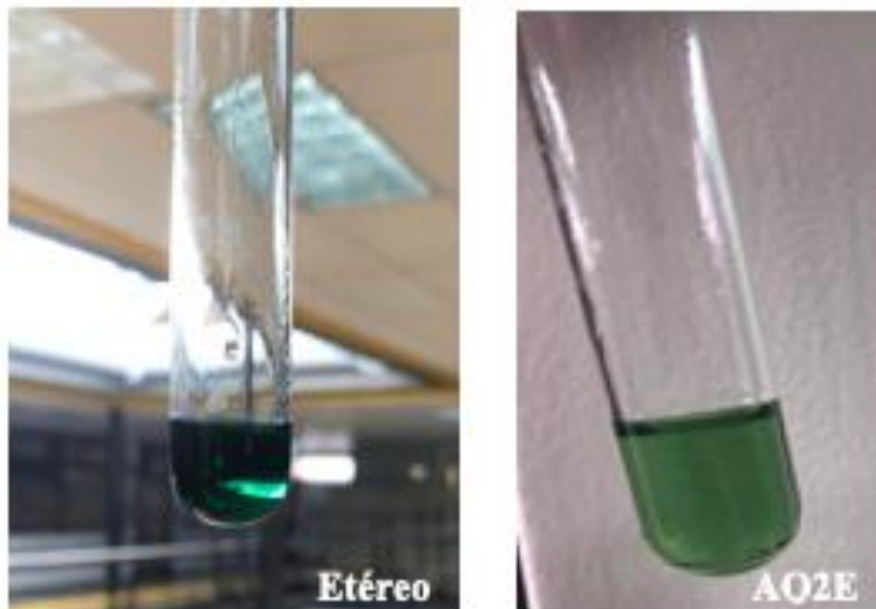


Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Triterpenos y Esteroles

La identificación de los grupos triterpenos y de los esteroides se lleva a cabo mediante la prueba de Liberman Burchard, el cual para poder demostrar un resultado positivo se espera la aparición de una coloración verde esmeralda o rojo marrón. A partir de esta descripción se demuestra en la figura 32 que tanto para el extracto etéreo como para el extracto AQ2E se demuestra un resultado positivo. Amiri, Jafari & Jafari (2020), mediante una realización de un tamizaje fitoquímico demuestran y dan a conocer la existencia de esteroides vegetales (fitoesteroides) en la planta de *Urtica dioica* y que estos aportan una gran cantidad de actividades biológicas y de propiedades nutricionales, en específico se dice que el esteroide que se presenta en mayor cantidad es el fitostanol.

Figura 32. Aplicación de pruebas de identificación de Triterpenos y Esteroles con reactivo de Liberman Burchard, extractos: Etéreo y AQ2E

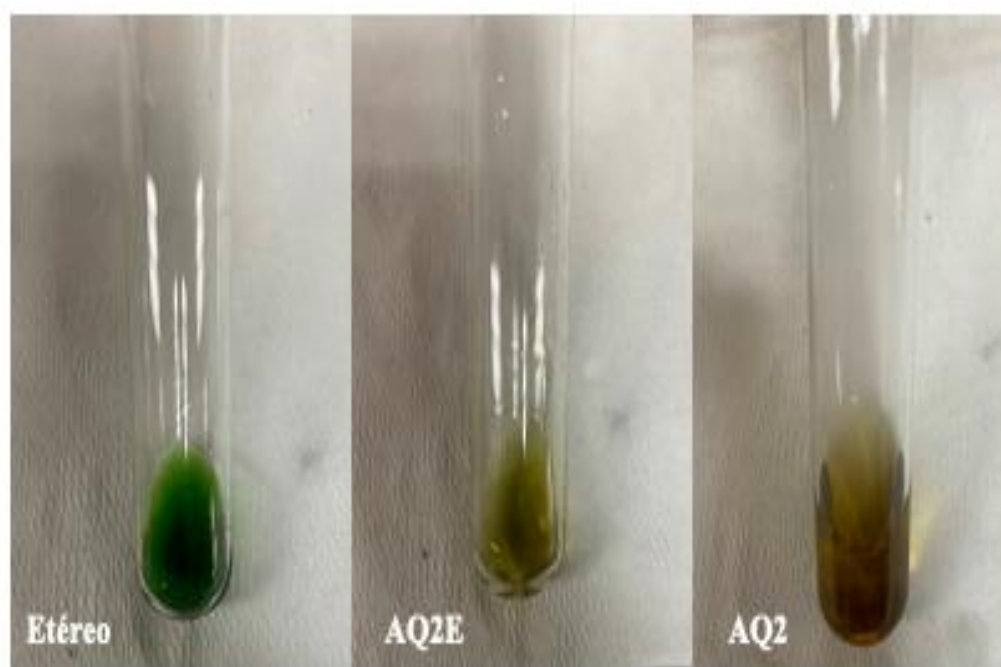


Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Antraquinonas

Como se muestra en la figura 33, los resultados que se obtuvieron para los extractos etéreo, AQ2E y AQ2, son negativos. No se identifica la presencia de las antraquinonas, debido a que la prueba debía arrojar una coloración rojo oscuro. Además, en los artículos consultados no se pudo obtener una información certera y fidedigna de la existencia del metabolito secundario antraquinonas en la planta de *Urtica dioica*. Carvajal, Hata, Sierra & Rueda (2009), designan a un positivo ante antraquinonas si cuando se deja separar las fases la capa alcalina (la parte inferior) genera un color desde rosado a rojo intenso, esta variación de color dependerá de la cantidad de antraquinonas que posea el extracto analizado.

Figura 33. Aplicación de pruebas de identificación de Antraquinonas con reactivo de Borntrager-Kraus, extractos: Etéreo, AQ2E y AQ2

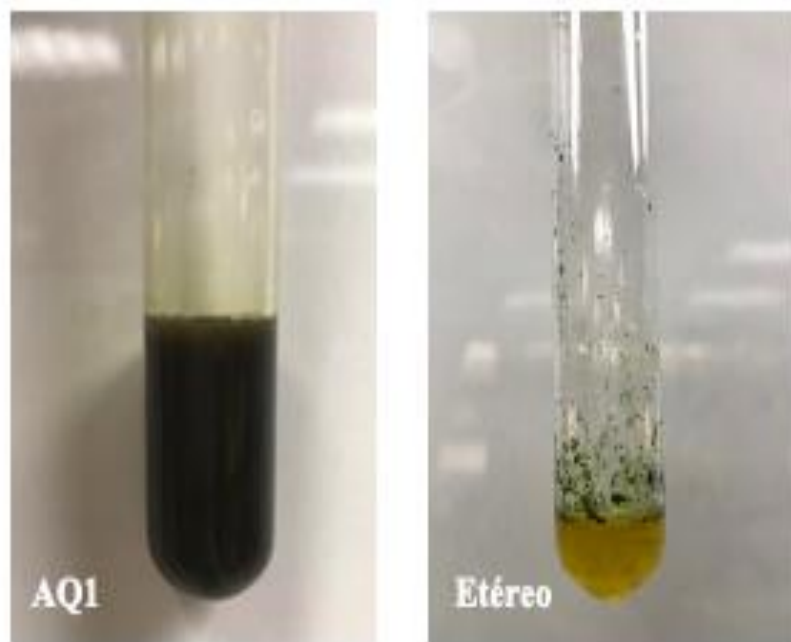


Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Taninos

La prueba para identificar la presencia de taninos se llevó a cabo en los extractos AQ1 y etéreo de la planta de *Urtica dioica*, el aspecto o coloración que se espera como positivo en esta prueba es la aparición de una coloración azul ante la presencia de taninos gálicos y una coloración verde para los taninos catéquicos; en el caso de esta prueba y según lo que se puede observar en la figura 34, se denota un resultado positivo a taninos catéquicos en el extracto AQ1 ante la evidente coloración verdosa, Baunthlyal, Jyoti & Singh (2015), en un cribado cualitativo fitoquímico realizado en las hojas de la planta de *Urtica dioica*, revelan la presencia de taninos, alcaloides, fitoesteroles, etc en los componentes de la planta.

Figura 34. Aplicación de pruebas de identificación de Taninos, extractos: AQ1 y Etéreo



Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Terpenos

Se realizó la identificación de los terpenos con ayuda del reactivo de Vainillina y quemado con la utilización de un calentador a una temperatura baja, donde se esperaba la aparición de manchas de tonalidades moradas, verdes o azules. Esta prueba se realizó con el extracto etéreo y por duplicado, obteniéndose un resultado positivo como se puede observar en la figura 35. Este resultado, coincide con los obtenidos por Carvajal, Hata, Sierra & Rueda (2009), consideran un resultado positivo en las pruebas de cromatografía ante los terpenos si se da la aparición de diferentes manchas en las tonalidades azulosas, moradas y rojizas.

Figura 35. Aplicación de prueba de identificación de terpenos por medio de cromatografía de capa fina, reveladas con vainillina.

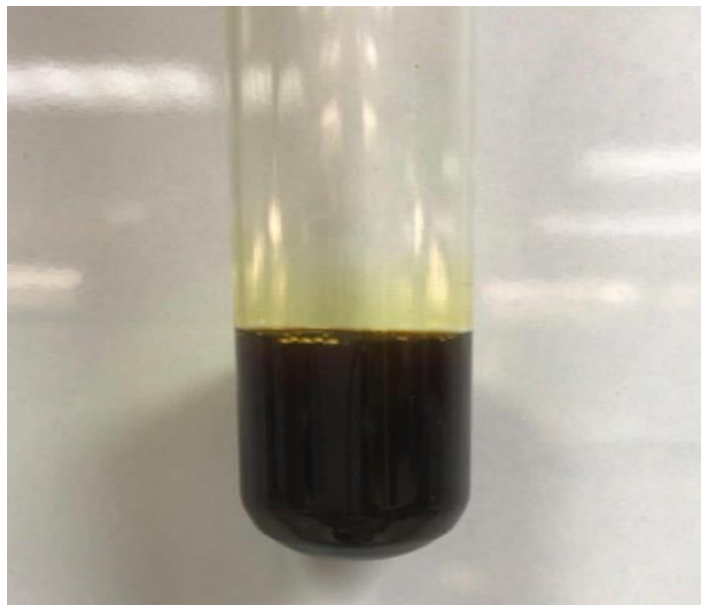


Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Almidón

Para el análisis de la prueba de almidón se realizó con la ayuda del reactivo de lugol al extracto AQ1, dando como resultado una prueba negativa, ya que no se obtuvo el cambio de coloración hacia azul. El resultado se observa en la figura 36.

Figura 36. Aplicación de prueba de identificación de almidón con reactivo de Lugol, extracto: AQ1

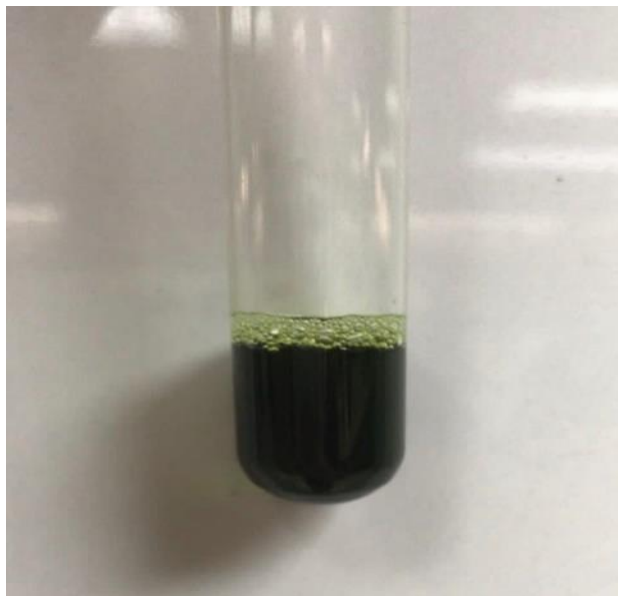


Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Saponinas

Ante la identificación de las saponinas Carvajal, Hata, Sierra & Rueda (2009), mencionan que la prueba consiste en la formación de espuma tras una constante agitación, debe permanecer por alrededor de 30 minutos, como se observa en la figura 37 se aprecia la aparición de espuma pero de una forma muy leve, lo cual quiere decir que si se tienen saponinas en el extracto AQ1 pero en una cantidad baja, Baunthlyal, Jyoti & Singh (2015), afirma la existencia de saponinas en la conformación de la planta *Urtica dioica*, pero estos no mencionan en cuanto proporción se encuentra, por lo cual se afirma la existencia pero no la cantidad exacta lo cual justifique su leve comportamiento.

Figura 37. Aplicación de prueba de identificación de Saponinas (Espuma), extracto: AQ1



Nota: Elaboración propia (2020).

Identificación de Azúcares reductores

El extracto AQ1 se puso a prueba para identificar si posee azúcares reductores, Alpízar (2018), si se da la formación de un precipitado naranja quiere decir que el extracto si presenta azúcares reductores, en este caso como se puede observar en la figura 38, para el extracto AQ1 se obtiene un resultado negativo, ya que al adicionar el reactivo de Benedict no cambio la coloración y se mantuvo verde la muestra de extracto.

Figura 38. Aplicación de prueba de identificación de azúcares reductores con reactivo de Benedict, extracto: AQ1



Nota: Elaboración propia (2020).

Resultados de las pruebas microbiológicas, evaluando la actividad antibacteriana de los extractos de la planta *Urtica dioica* (Ortiga)

La etapa final de la investigación fue la realización de los ensayos microbiológicos de los extractos obtenidos de la planta *Urtica dioica* frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, con el fin de comprobar la actividad antibacteriana que posee la planta con estos microorganismos.

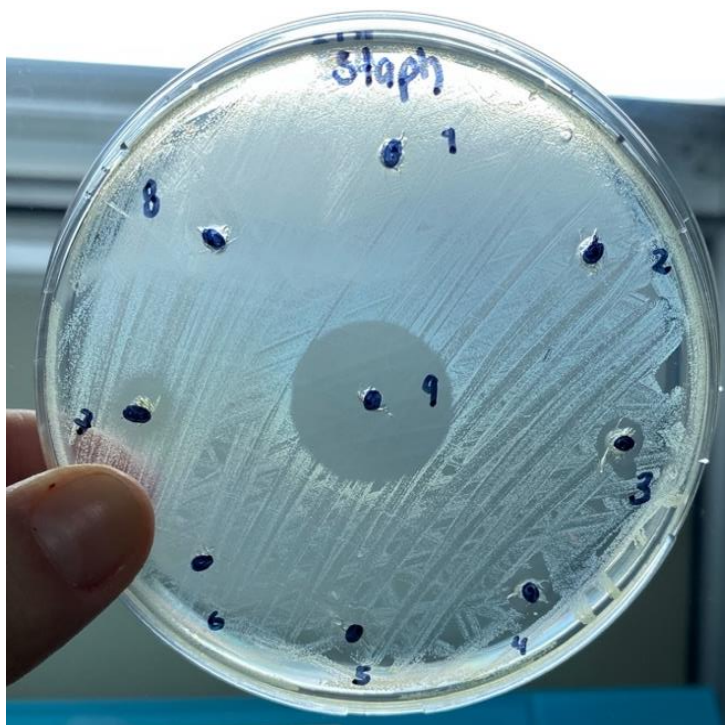
El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de microbiología Microlabs bajo la supervisión del Microbiólogo el Dr. Roldan Ajún. Se probaron los extractos de acetato de etilo, hexano, diclorometano y acuoso, en una concentración al 100%, en conjunto de los blancos correspondientes a cada disolvente y como control positivo se usó el antibiótico Levofloxacino con una concentración de 0,50 $\mu\text{g/mL}$. Por su parte, las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, fueron provistas por el laboratorio Microlabs, y las placas se incubaron por 24 horas a una temperatura de 37°C, según el procedimiento recomendado por Álvarez, et al (2005).

Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 39, 40, 41 y 42, donde se puede determinar la actividad de los extractos y los halos de inhibición obtenidos en las diversas cepas. Esta información se muestra en las tablas 16, 17, 18, 19 y 20.

Resultados obtenidos de la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*

Como se puede observar en la figura 39 correspondiente al ensayo de los extractos con la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus*, se nota un halo de inhibición en los pozillos 3,4,7,8 y 9 del antibiótico Levofloxacino; los cuales pertenecen principalmente al control positivo y a los blancos, donde no se puede rescatar ningún extracto con algún halo superior a su correspondiente blanco, por lo tanto, se determina que la planta *Urtica dioica* no presenta actividad contra la cepa *Staphylococcus aureus*.

Figura 39. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*



Nota: Elaboración propia (2020).

Tabla 16. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de *Urtica dioica* frente a *Staphylococcus aureus*

Bacteria	Número de pozillo	Extracto	Halo recorrido por los extractos (cm)	Halo de inhibición (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	Hexano 100%	0 cm	0 mm
	2	Hexano blanco	0 cm	
	3	Diclorometano 100%	0,9 cm	0 mm
	4	Diclorometano blanco	0,9 cm	
	7	Acetato de etilo 100%	0,6 cm	0 mm
	8	Acetato de etilo blanco	1 cm	
	5	Extracto acuoso 100%	0 cm	0 mm
	6	Extracto acuoso blanco	0 cm	
	9	Levofloxacino	2,1cm	21 mm

Nota: Elaboración propia (2020).

Resultados obtenidos de la actividad antibacteriana frente a *Klebsiella pneumoniae*

Como se evidencia en la figura 40, se comprobó una actividad del extracto diclorometano, ya que al hacer la diferencia del halo de recorrido en el ensayo de la muestra menos el halo recorrido del blanco da 0,4 cm como resultado, el extracto de diclorometano se utilizó a una concentración de 1022,6 mg/mL y mediante esta concentración se obtuvo un halo de inhibición de la bacteria de 4 mm, lo cual designa que el extracto a esa concentración ejerce una acción antibacteriana levemente significativa. En el caso del pozo 7 que se evidencia actividad fue con el extracto de acetato de etilo utilizado a una concentración de 903,9 mg/mL con la cual se denota una actividad positiva frente a *Klebsiella pneumoniae* formando un halo de inhibición de 8 mm, esto se observa en el pozo número 7, en la imagen 40 y de formas más amplia y detallada en la tabla realizada número 17.

Basado en otras publicaciones en las cuales se adjudica la actividad de los extractos de la planta *Urtica dioica* donde muestran un halo de inhibición significativa ante las bacterias Gram negativas, en este caso la bacteria *Klebsiella pneumoniae* Fariza, Ibrahim, Modarresi & Mousavi (2012). La inhibición bacteriana dada por *Urtica dioica* se designa tanto para las bacterias gram negativas como para las gram positivas, la resistencia que en casos presenta las bacterias gram negativas ante los agentes bacterianos se relaciona a los lipopolisacáridos de la membrana externa, por lo cual se justifica la falta de actividad del extracto acuoso, por otra parte, no se obtuvo resultados positivos ante la presencia del extracto de hexano (disolvente no polar).

Por último y como se puede observar en el caso de la utilización del control positivo Levofloxacino a una concentración de 0,50 µg/mL se obtuvo un halo de inhibición de 30 mm, Velásquez, et al (2013), afirma en su artículo la actividad que ejerce el fármaco Levofloxacino frente a la bacteria *Klebsiella pneumoniae* como antibiótico utilizado para contrarrestar los problemas ocasionados por el microorganismo.

Fariza, Ibrahim & Modarresi (2013), la actividad antibacteriana de *Urtica dioica* se le confiere a la presencia de los compuestos fitoquímicos en su conformación, se dice que la actividad más importante es ejercida por la flavona (5-hidroxitriptamina), ya que esta puede actuar en los microorganismos generando una inhibición por la interrupción de la síntesis de la membrana celular. También la actividad que ejercen los flavonoides los cuales son los metabolitos secundarios que, si se encuentran presentes en *Urtica dioica* y en este caso mediante el tamizaje fitoquímico se logró demostrar, los flavonoides colaboran generando un daño a la membrana por lo cual se da un aumento de la permeabilidad de la membrana bacteriana interna. Según el tamizaje fitoquímico realizado donde se evidenció la presencia de cumarinas y flavonoides en la planta, por lo cual coincide los resultados reportados con los que se obtuvieron.

Figura 40. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae*



Nota: Elaboración propia (2020).

Los resultados se pueden evidenciar de una mejor manera y más clara en la tabla 17, donde se observa la actividad antibacteriana de los extractos diclorometano y acetato de etilo, en este ensayo frente a la bacteria *Klebsiella pneumoniae*, se denota que el control positivo Levofloxacino si ejerce el efecto, ya que es un antibiótico utilizado para combatir este tipo de microorganismos, por lo cual se esperaba que tuviera la actividad mostrada.

Tabla 17. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de *Urtica dioica* frente a *Klebsiella pneumoniae*.

Bacteria	Número de pozillo	Extracto	Halo recorrido por los extractos (cm)	Halo de inhibición (mm)
	1	Hexano 100%	0 cm	0 mm
	2	Hexano blanco	0 cm	
	3	Diclorometano 100%	0,7 cm	4 mm
	4	Diclorometano blanco	0,3 cm	
	7	Acetato de etilo 100%	0,8 cm	8 mm

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	Acetato de etilo blanco	0 cm	
	5	Extracto acuoso 100%	0 cm	0 mm
	6	Extracto acuoso blanco	0 cm	
	9	Levofloxacino	3 cm	30 mm

Nota: Elaboración propia (2020).

Resultados obtenidos de la actividad antibacteriana frente a *Salmonella typhi*

De acuerdo con los resultados obtenidos y tomando en cuenta lo que se muestra en la figura 41 y el resumen elaborado en la tabla 18, el extracto de acetato de etilo elaborado a una concentración de 903,9 mg/mL mostró actividad frente a la bacteria *Salmonella typhi*, generando un halo de inhibición de 7 mm, por lo cual se puede decir que el extracto de acetato de etilo presenta actividad antibacteriana contra el microorganismo *Salmonella typhi*.

Mediante la utilización del control positivo se obtuvo un diámetro de inhibición de 26 mm. Este medicamento fue elegido, debido a que en los últimos años los tratamientos utilizados ante este tipo de bacterias gram negativas han ido mostrando resistencia, por lo cual Bascopé (2005), evidencia que las nuevas alternativas ante la resistencia que ha adquirido *Salmonella typhi* se han utilizado nuevos antimicrobianos como lo son las quinolonas (Levofloxacino).

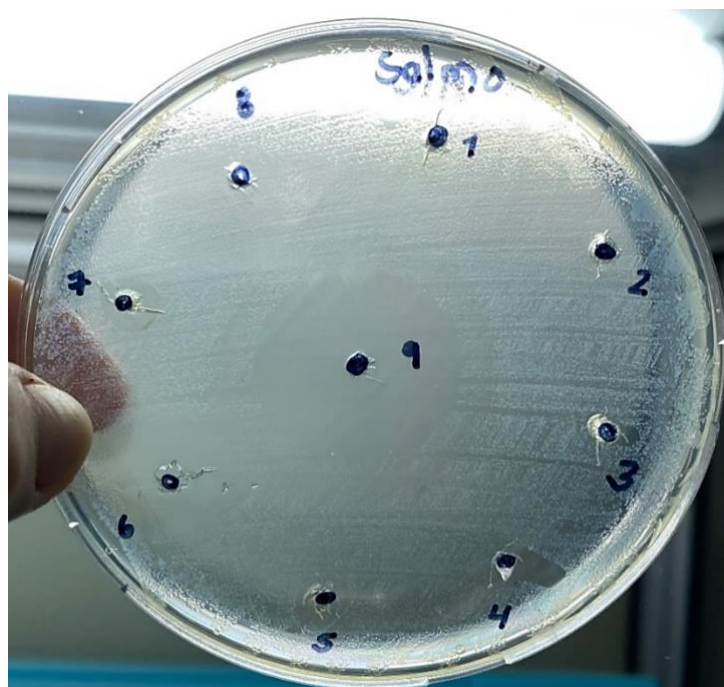
Ali, Ghaima & Hashim (2013), el extracto de ortiga en acetato de etilo presenta eficacia ante el aislado bacteriano de *Salmonella typhi*, este resultado se destaca debido a que se menciona la existencia de una alta resistencia de las bacterias gram negativas ante los extractos de las plantas, por la forma de actuar de la membrana externa de la pared celular que actúa como barrera ante las sustancias. De igual forma Fariza, Ibrahim, Modarresi & Mousavi (2012), concuerdan con la actividad de los extractos de la planta *Urtica dioica* ante la inhibición del microorganismo *Salmonella typhi*. Reafirmando la actividad del extracto de acetato de etilo frente a la bacteria *Salmonella typhi*.

Myada (2015), en su artículo Evaluation of antimicrobial activities of *Urtica dioica* against some pathogenic bacterial strains, hacen referencia a la efectividad del extracto de acetato de etilo eficaz en el aislado bacteriano creando una inhibición de 22 mm, en el ensayo realizado, estos autores sugieren que el extracto de acetato de etilo muestra una mayor actividad antimicrobiana e inhibición que los extractos crudos.

Como se puede observar en la figura 41 correspondiente al ensayo de los extractos con la cepa bacteriana *Salmonella typhi*, se nota un halo de inhibición en los pozillos 3, 4, 5 y 6; los cuales pertenecen principalmente al control positivo y a los blancos por cada extracto de Acetato de etilo y Acuoso respectivamente, donde no se puede rescatar ningún extracto con algún halo superior a su correspondiente blanco, ya que el blanco muestra un mayor halo recorrido que el extracto por ende no se puede adjudicar la función al extracto sino al solvente utilizado, por lo tanto, se determina que la planta *Urtica dioica* no presenta actividad contra la cepa *Salmonella typhi*.

Bagheri, et al (2014), menciona que las funciones bacterianas de la planta de *Urtica dioica* se pueden ver atribuidas a los compuestos que ella posee en su conformación, los compuestos fenólicos, los flavonoides y terpenos se les consideran agentes con eficacia demostrada en la inhibición de las infecciones bacterianas.

Figura 41. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella typhi*



Nota: Elaboración propia (2020).

Tabla 18. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de *Urtica dioica* frente a *Salmonella typhi*.

Bacteria	Número de pozillo	Extracto	Halo recorrido por los extractos (cm)	Halo de inhibición (mm)
<i>Salmonella typhi</i>	1	Hexano 100%	0 cm	0 mm
	2	Hexano blanco	0 cm	
	3	Diclorometano 100%	0,3 cm	0 mm
	4	Diclorometano blanco	0,6 cm	
	7	Acetato de etilo 100%	0,7 cm	7 mm
	8	Acetato de etilo blanco	0 cm	
	5	Extracto acuoso 100%	0,7 cm	0 mm
	6	Extracto acuoso blanco	1,1 cm	
	9	Levofloxacino	2,6 cm	26 mm

Nota: Elaboración propia (2020).

Resultados obtenidos de la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*

De acuerdo con Bardaa, et al (2017), Myada (2015) y Boroja, et al (2012), los cuales en sus diversos estudios confirman y concuerdan con la actividad de poseen los extractos de *Urtica dioica* ante la bacteria *Escherichia coli*. Como se observa en la figura 42 los extractos de acetato de etilo y el extracto acuoso, presentaron halos de inhibición los cuales indican la actividad antibacteriana positiva y buscada en el ensayo microbiológico. Basado en otras publicaciones realizadas, Boroja, et al (2012), adjudican la actividad y con los resultados obtenidos con respecto

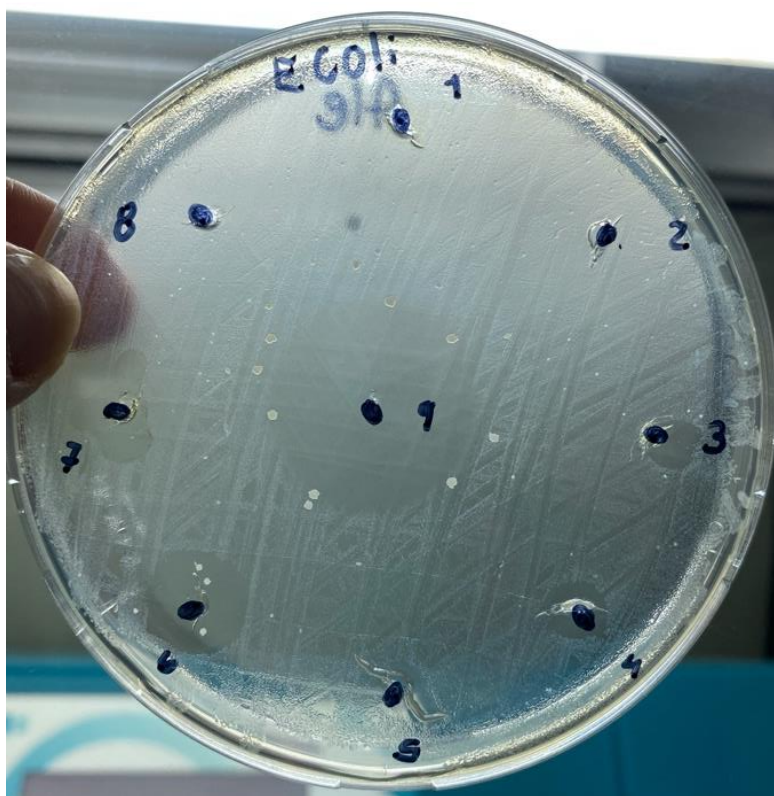
al halo de inhibición del extracto acuoso de 1,2 mm, el cual exhibe una actividad antibacteriana considerable.

La efectividad del acetato de etilo como extracto, en la concentración utilizada de 903,9 mg/mL se ve reflejada mediante la obtención del halo de inhibición bacteriano con un valor de 11 mm, se destaca que este valor es muy considerable y significativo, por otra parte, el autor Myada (2015) designa al extracto de acetato de etilo como el más efectivo ante la presencia de bacterias gram negativas como las *E. coli*. Con respecto a la inactividad del extracto de hexano, Bardaa, et al (2017), en su estudio muestra resultados los cuales se asemejan a los obtenidos en esta investigación de acuerdo con la inactividad del extracto de hexano ante la *Escherichia coli*.

También se denota el resultado de la actividad del extracto acuoso el cual a la concentración de 1025,9 mg/mL, genera una inhibición bacteriana ante *Escherichia coli* arrojando un valor de 12 mm de halo de inhibición. En el caso de los extractos de hexano y diclorometano como se puede observar en la figura 42 correspondiente al ensayo de los extractos con la cepa bacteriana *Escherichia coli*, se nota un halo de inhibición en los pozillos 3 y 4; los cuales pertenecen principalmente al control positivo y a los blancos, donde no se puede rescatar el extracto con algún halo superior a su correspondiente blanco, por lo tanto, se determina que la planta *Urtica dioica* no presenta actividad contra la cepa *E. coli* en estos extractos mencionados.

Ali, Arif & Salih (2014), la planta de *Urtica dioica* posee otros componentes como lo son: alcaloides, fenoles, flavonoides, taninos y saponinas, los cuales le confieren la actividad antimicrobiana a la planta. En el caso de los alcaloides su actividad antibacteriana puede ser a causa de su reacción con los grupos aminos, carboxilo, tioles e hidroxilos. En el caso de los fenoles su actividad antibacteriana se le confiere a la sustitución del alquilo en el núcleo fenólico, el cual mejora la actividad antimicrobiana.

Figura 42. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli*



Nota: Elaboración propia (2020).

En la tabla 19 se realiza un resumen específico de acuerdo con la actividad presentada por cada extracto, y su respectiva actividad, dada por el halo de inhibición adquirido, el cual se presenta en milímetros.

Tabla 19. Resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas de los extractos de *Urtica dioica* frente a *Escherichia coli*.

Bacteria	Número de pozillo	Extracto	Halo recorrido por los extractos (cm)	Halo de inhibición (mm)
	1	Hexano 100%	0 cm	0 mm
	2	Hexano blanco	0 cm	

<i>Escherichia coli</i>	3	Diclorometano 100%	0,6 cm	0 mm
	4	Diclorometano blanco	0,6 cm	
	7	Acetato de etilo 100%	1,1 cm	11 mm
	8	Acetato de etilo blanco	0 cm	
	6	Extracto acuoso 100%	1,2 cm	12 mm
	5	Extracto acuoso blanco	0 cm	
	9	Levofloxacino	2,2 cm	22 mm

Nota: Elaboración propia (2020).

Uno de los objetivos de esta investigación fue la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de la *Urtica dioica* frente a las cepas bacterianas mediante el ensayo microbiológico, al discutir paso a paso las cepas estudiadas se denota que la planta de *Urtica dioica* si presenta la capacidad antibacteriana, se puede entender esto de mejor forma en la tabla 20 la cual se muestra a continuación.

Tabla 20. Resumen de resultados antibacteriales positivos, frente a las bacterias estudiadas con respecto a los extractos utilizados en la investigación.

Bacteria	Extractos a los cuales se obtuvo sensibilidad bacteriana.
<i>Staphylococcus aureus</i>	No se obtuvo sensibilidad ante ningún extracto.
<i>Escherichia coli</i>	Extracto acetato de etilo (903,9 mg/mL), halo de inhibición 11 mm.

	Extracto acuoso (1025,9 mg/mL), halo de inhibición 12 mm.
<i>Salmonella typhi</i>	Extracto Acetato de etilo (903,9 mg/mL), halo de inhibición 7 mm.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Extracto Diclorometano (1022,6 mg/mL), halo de inhibición 4 mm. Extracto Acetato de etilo (903,9 mg/mL), halo de inhibición 8mm.

Nota: Elaboración propia, (2020).

Un estudio informó que la actividad antimicrobiana del extracto hexano de ortiga se debe a la presencia de compuestos terpénicos como el neoftadieno, butil tetradecil éster, dibutil ftalato, bis (2etilhexil) maleato y ácido 1,2-benceno dicarboxílico. Bagheri, et al (2014), en este caso en los cuatro ensayos microbiológicos desarrollados no se concuerda con estos autores, ya que no se mostró actividad antibacteriana ante ninguna cepa.

Las concentraciones utilizadas de los extractos fueron positivas ante la susceptibilidad de las bacterias en estudio, en general tanto el extracto de diclorometano, acetato de etilo y acuoso demostraron actividad en la mayoría de las cepas bacterianas, no siendo el caso del extracto de hexano, los cual tuvieron actividad nula en las 4 bacterias analizadas. La actividad de los extractos puede variar de diversas maneras, ya sea por el disolvente que se utiliza o ya sea por el tiempo que se tardó en la elaboración de la maceración y de los extractos, también el tratamiento que se le dio a las muestras, el almacenamiento de las mismas e incluso la concentración de los metabolitos que presenta la planta puede diferir de acuerdo en la zona que se encuentres y las condiciones ambientales a la que se vea expuesta.

Se denotó que los principales extractos con actividad antibacteriana fueron: Acetato de etilo, diclorometano y acuoso, los cuales se utilizaron a las concentraciones 903,9 mg/mL, 1022,6 mg/mL y 1025,9 mg/mL respectivamente. La actividad presentada fue ante las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhi*, se le adjudica el poder antimicrobiano mostrado por la planta a los metabolitos secundarios alcaloides, fenoles, flavonoides, taninos,

saponinas y terpenos los cuales le confieren la actividad antimicrobiana a la planta; mediante el tamizaje fitoquímico se pudo lograr demostrar que estos componentes si estaban presentes en los extractos realizados en la investigación.

Se demostró que al realizar la extracción de la planta *Urtica dioica* y posteriormente la identificación de los metabolitos secundarios que posee, se logró determinar la eficacia de la actividad de los extractos obtenidos contra las bacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* y comprobar cuanta sensibilidad presentan. Con los resultados de la investigación se denota la importancia que tiene el estudio al encontrar una posible alternativa ante la resistencia bacteriana que se da hoy en día al uso de los antibióticos, así como la riqueza que posee la planta la cual debería someterse a más estudios y explotar sus beneficios.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Una vez concluido el trabajo de investigación y presentados los resultados obtenidos en la ejecución de la investigación, donde se pretendía evaluar la actividad antibacterial frente a (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) de la planta arvenses costarricense *urtica dioica*, se pueden realizar las siguientes conclusiones:

La técnica aplicada para la obtención del extracto crudo y el fraccionamiento fue efectiva debido a que se logró obtener cada uno de ellos sin la formación de emulsiones y con el suficiente material para poder realizar las pruebas microbiológicas.

Gracias al tamizaje fitoquímico realizado, se determina que la muestra de *Urtica dioica* utilizada en esta investigación es rica en Flavonoides, Cumarinas, Triterpenos y Esteroles, Taninos, Terpenos y saponinas.

Se determinó las concentraciones de cada extracto, obteniendo como resultado una concentración de hexano 477,1mg/mL, para el extracto acuoso 1025,9mg/mL, para el extracto de diclorometano 1022,6 mg/mL y para el extracto de acetato de etilo se obtuvo una concentración de 903,9 mg/mL.

Para la utilización del antibiótico como control positivo se determinó que el Levofloxacino a la concentración de 0,50 $\mu\text{g/mL}$ si presentó inhibición bacteriana en las cuatro bacterias en estudio.

El método de difusión radial en las pruebas microbiológicas permitió determinar de forma rápida y sencilla cuales fueron los extractos que presentaron actividad frente a *Urtica dioica*.

Para la bacteria *Staphylococcus aureus* no se obtuvo actividad positiva de los extractos de diclorometano, hexano, acuoso y acetato de etilo a las concentraciones utilizadas, ya que no hubieron párametros de halos de inhibición mayores a 0 milímetros.

Los extractos de diclorometano y acetato de etilo mostraron actividad inhibitoria ante la bacteria *Klebsiella pneumoniae*, con valores de halos de inhibición de 1mm en diclorometano concentración 1022,6 mg/mL y acetato de etilo 903,9 mg/mL con halo de inhibición de 8 mm, mientras que los extractos de hexano y acuoso no tienen actividad.

Salmonella typhi presentó resistencia ante el extracto de hexano, diclorometano y acuoso, no obstante, si se comprobó la actividad antibacteriana en el extracto de acetato de etilo a concentración de 903,9 mg/mL con un halo de inhibición de 7mm.

La bacteria *E. coli* presenta susceptibilidad al extracto acetato de etilo (903,9 mg/mL) con halo de inhibición de 11 mm y extracto acuoso (1025,9 mg/mL) donde se demostró un halo de inhibición de 12 mm, demostrando que fue la bacteria con mejor inhibición producida por los extractos.

Se determinó que el extracto con mayor eficacia frente a las cepas bacterianas utilizadas en el ensayo microbiológico fue el de acetato de etilo usado a la concentración de 903,9 mg/mL.

Se denotó al final del análisis microbiológico que el extracto de hexano no presentó actividad en ninguna de las bacterias en estudio, a la concentración utilizada.

Con base a la literatura y los resultados obtenidos, se determina que las plantas naturales son una buena alternativa de tratamiento para poder inhibir el actuar de las bacterias.

Se concluye que una alternativa viable ante la existente resistencia bacteriana que se da hoy en día y con el fin de aportar una contribución ante la erradicación de la resistencia sería la utilización de nuevas alternativas farmacológicas como lo son los productos de naturales

Se observó de acuerdo con los resultados obtenidos que el extracto con mayor actividad mostrada fue el de Acetato de etilo concentración (903,9 mg/mL), ya que obtuvo actividad antibacteriana en tres de las cuatro cepas estudiadas, específicamente ante *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.

Se denotan importantes resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de acetato de etilo y acuoso frente a la bacteria *Escherichia coli*, lo cual es importante tomar en cuenta como una futura terapia coadyuvante en las infecciones producidas por la bacteria.

Recomendaciones

Para futuras investigaciones sería útil y de importancia realizar una comparación entre diversos métodos de extracción, para poder comparar mejor los porcentajes de rendimiento de la planta.

Se recomienda para una futura investigación que se estudie el extracto de hexano a concentraciones mayores para poder observar una inhibición bacteriana, ya que en la literatura si se evidencia el actuar del extracto.

En una futura investigación se recomienda realizar una formulación de tabletas, cápsulas o un tipo de forma farmacéutica líquido, para utilizar los extractos acuoso y acetato de etilo de la *Urtica dioica*, en específico para la bacteria de *Escherichia coli*, con el fin de explotar la actividad positiva mostrada por la planta frente a esta bacteria.

Se recomienda probar el extracto de *Urtica dioica* en otras bacterias gram positivas y negativas, con el fin de demostrar si presenta una mayor actividad antibacteriana.

Se invita a los profesionales en farmacia dar a conocer a la población el valor antibacterial de la *Urtica dioica* a través de extractos naturales, con el objetivo de reducir la resistencia a los antibióticos.

Se recomienda a los profesionales en diversas ramas de la salud, el estudio y ahondar en el conocimiento de las plantas denominadas arvenses, las cuales presentan pocos estudios realizados y son ricos en compuestos fitoquímicos.

Se le solicita a la universidad invertir en equipos de laboratorio, tanto químicos como microbiológicos, ya que a los estudiantes se les dificulta a nivel económico tener que buscar otros lugares donde puedan realizar sus trabajos de investigación, sin tener conocimiento sobre los resultados y si estos serán reproducibles.

Por otra parte, se recomienda a la universidad en mejorar o ahondar más en cursos de la carrera como lo son farmacognosia, farmacia industrial I y II, etc, para que realmente sean un soporte a la hora de la realización de la tesis de los estudiantes de farmacia.

REFERENCIAS

- Abín, L. et al. (2013). Introducción de la medicina natural y tradicional en la disciplina microbiología y parasitología médicas. *Panorama Cuba y Salud*. (pp.10-11).
- Afshar, M., Ghafari, S., Jahanshahi, M. & Jafar, M. (2013). The preventive and treatment effect of *urtica dioica* on astrocyte density in the CA1 and CA3 subfields of hippocampus in STZ induced diabetic rats. *International Journal of Morphology*. (pp. 694-695).
- Aguado, B. (2015). Extracción líquido-líquido: extracción-decantación, manual de operaciones básicas de laboratorio-química orgánica. (p. 1).
- Aguayo, A., Barría, C., Bello, H., Carrasco, S., Domínguez, M., González, G., Lima, C. & Vera, A. (2017). KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Revista Chilena de Infectología*. (p. 477).
- Akhavan-Niaki, H., Fattahi, S. & Golpour, M. (2016). *Urtica Dioica*, an emerald in the Medical Kingdom. *International Biological and Biomedical Journal*. (pp. 1-5).
- Akerele, O. (1993). Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. *Foro Mundial de la Salud*. (pp. 390-392).
- Alcaráz, L., Aliendro, O., Centorbi, H., Echenique, D., Mattana, C. & Satorres, S. (2017). Guía de trabajos prácticos: bacteriología y virología. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis. (pp. 1-3).
- Ali, D., Arif, E. & Salih, N. (2014). Antibacterial effect of nettle (*Urtica dioica*). *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*. (p. 5).

- Ali, S., Ghaima, K. & Hashim, N. (2013). Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). Journal of Applied Pharmaceutical Science. (p. 98).
- Álvarez et al. (2005). Conservación bacteriana por método simple a temperatura ambiente: una alternativa viable. Revista Cubana Higiene y Epidemiología. (párr.4).
- Alpizar, J. (2018). Manual de laboratorio de Farmacognosia. Universidad Internacional de las Américas. (pp. 5-40).
- Álvarez, M., Baroni, A., Carbonari, C., Deza, N., Miliwebsky, E., Pereyra, A., Rivas, M., Silveyra, I. & Villagran, M. (2015). Aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógeno 0157:H16 de un caso de diarrea infantil y sus contactos familiares en La Pampa, Argentina. Revista Argentina de Microbiología. (p. 138).
- Álvarez, I. & Ponce, J. (2012). Staphylococcus aureus, evolución de un viejo patógeno. Revista Cubana de Pediatría. (pp.384-387).
- Alvis, N., Castro, R., Rocha, J. & Villafañe, L. (2018). Resistencia antimicrobiana en Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis: Tendencia temporal (2010-2016) y Fenotipos de multirresistencia, Cartagena (Colombia). Revista Biosalud. (pp.26-27).
- Amiri, S., Jafari, M. & Jafari, Z. (2020). Insights into the bioactive compounds and physico-chemical characteristics of the extracted oils from *Urtica dioica* and *Urtica pilulifera*. SN Applied Sciences. (p. 6).
- Andrade, V. & Silva, J. (2004). Caracterización de *Klebsiella pneumoniae* productora de beta-lactamasa SHV-5, en una unidad de cuidados intensivos. Salud Pública México. (p. 525).
- Bascopé, S. et al. (2005). Sensibilidad y resistencia de las salmonellas a los antimicrobianos en la ciudad de Cochabamba. Gaceta Médica Boliviana. (p. 5).

- Antolak, H., Kregiel, D. & Pawlikowska, E. (2018). *Urtica* spp.: ordinary plants with extraordinary properties. *Molecules*. (pp. 1-5).
- Aparicio, E. (2017). Técnicas colorimétricas, *Revista Visión Criminológica-Criminalística*. (pp. 19).
- Ariza, S., Farfán, A., Vargas, F. & Vargas, L. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena, *Revista Chilena de Infectología*. (pp. 442-445).
- Asensio, L., Culver, M., Lagoma, L. & Mirón, A. (2015). Fichas de agentes biológicos. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). (pp. 1-3).
- Asgarpanah, J. & Mohajerani, R. (2012). Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioica* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. (pp. 5714-5716).
- Ávalos, A. & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. (pp. 119-143).
- Ávalos, H., Soto, M. & Zendejas, G. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*. (pp. 131-139).
- Bagheri, H., Livani, F., Masoumeh, S., Mazandari, M. & Torbati, P. (2014), Evaluation of antibacterial activity of *Urtica dioica* L. *Medical Laboratory Journal*. (pp. 16-20).
- Bauer, J., Mosquito, S., Ochoa, T. & Ruiz, J. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociada a diarrea. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. (pp. 649-654).

- Baunthlyal, M., Jyoti, K. & Singh, A. (2015). Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* linn. Leaves and their synergistic effects with antibiotics. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. (p. 219).
- Bardaa, S., Jlaiel, L., Khimiri, M., Rebaïi, T., Trigui, M., Tounsi, S. & Zouari, K. (2017). Exploring the *Urtica dioica* leaves hemostatic and wound-healing potencial. *BioMed research international*. (pp.1-2).
- Barrera, G., Díaz, J. & Marquez, M. (2019). Mecanismo de patogenicidad de *Escherichia Coli* y *Salmonella* SSP, *Revista de Educación en Ciencias e Ingeniería*. (pp.8-12).
- Barrero, L. (2016). *Microbiología clínica*. Síntesis.
- Basualdo, J., Coto, C. & Torres, R. (2006). *Microbiología biomédica*. Atlante S.R.L.
- Benmoussa, A., Derfoufi, S., Otmani, I. & Said, A. (2015). Highlights on nutritional and therapeutic value of stinging nettle (*Urtica dioica*), *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. (pp. 8-12).
- Betancur, L., Ocampo, D., Ocampo, R. & Ríos, L. (2008). *Curso práctico de química orgánica, enfocado a biología y alimentos*. Editorial Universidad de Caldas. Ciencias Exactas y Naturales.
- Bianco, A., Di Maro, A., Esposito, S., Isernia, C., Russo, R. & Vincenzo, P. (2019). Therapeutic perspectives of molecules from *Urtica dioica* extracts for cancer treatment. *Molecules*. (pp. 3-5).
- Black, J. (2012). *Microbiology principles and explorations* (8th ed.). Wiley.
- Boroja et al. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta Periódica Tecnológica*. (pp. 266-267).

- Brandt, M., Ramírez, E., Rutto, L. & Xu, Y. (2013). Mineral properties and dietary value of raw and processed stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *International Journal of Food Science*. (pp. 1-2).
- Bravo, J., Mollinedo, P., Peñarrieta, M., Tejeda, L. & Villa, J. (2014). Phenolic compounds in food. *Bolivian Journal of Chemistry*. (pp. 68-71).
- Brooks, G., Butel, J., Carroll, K., Mietzner, T. & Morse, S. (2013). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology* (26th ed.). McGraw-Hill.
- Calle, A., Cieza, J., Colqui, K. & Rivera, D. (2017). Factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido, *Revista Médica Herediana*. (p. 143).
- Calle, A., León, I., Tarranco, M., Grados, S. & Soto, M. (2017). Tamizaje y screening fitoquímico. Facultad de Farmacia y Bioquímica: Farmacognosia. Universidad Internacional para el Desarrollo. Recuperado de: https://www.academia.edu/25502053/TAMIZAJE_FITOQUIMICO.
- Camargo, S., Montañó, N., Sánchez, J., Sandoval, A. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes. *Redalyc*. (pp. 15-16).
- Campos, R., Sánchez, H. & Vélez, M. (2014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. (p. 490).
- Cárdenas, J., Castillo, O., De Cámara, C. & González, V. (2018). Combatiendo la resistencia bacteriana: una revisión sobre las terapias alternas a los antibióticos convencionales. *Bol. Venez. Infectol*. (pp. 11-12).

- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N. & Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá. *Revista Colombiana Forestal*. (pp.164-167).
- Casado, E., Durán, P., Miró, T. & Paredes, A. (2012). *Operaciones básicas de laboratorio*. España: Paraninfo.
- Casassa et al. (2006). Influencia de dos técnicas de maceración sobre la composición polifenólica, aromática y las características organolépticas de vinos cv. Merlot. *Research Gate*. (p. 1).
- Castillo, I. (2016). Las bacterias, estudio y cambios a lo largo de la historia. *Revista Digital Universitaria*. (pp. 3-6).
- Castro, J., Dávila, C., Peña, M. & Tresierra, A. (2014). Identificación molecular de *Escherichia coli* enterotoxigénica en niños con infecciones diarreicas agudas mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Ciencia Amazónica*. (p. 118).
- Cataño, J. & Echeverri, L. (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. (pp. 241-242).
- Canto, B., Galaz, R., Gutiérrez, L., Loyola, V., Moreno, O. & Sánchez, P. (2004). Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. *Revista de la Sociedad Química de México*. (p. 67).
- Cerna, F., Estrada, T., Meza, M., Morán, N. & Ríos, D. (2019). *Escherichia coli* enterotoxigénica y enteroagregativa: prevalencia, patogénesis y modelos murinos. *Gaceta Médica de México*. (pp. 414-415).
- Cefalu et al. (2016). Stinging nettle (*Urtica dioica* L.) attenuates FFA induced ceramide accumulation in 3T3-L1 Adipocytes in an adiponectin dependent manner. *PloS one*. (pp. 3-5).

- Cervantes, E., García, R. & Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio. (pp.35-38).
- Chaves, E., García, F. & Rojas, N. (2006). Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica Facultad de Microbiología. (pp. 22-50).
- Cuevas, D. & Olvera, G. (2017). Análisis fitoquímico: una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas. Tlatemoani: Revista Académica de Investigación. (pp. 73-82).
- Culebras, J., González, J., Martínez, S. & Tuñon, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. (pp.271-273).
- Dar, S., Ganai, F., Yousuf, A., Balkhi, M., Bhat, T. & Sharma, P. (2013). Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*. Pharmaceutical Biology. (pp. 170-179).
- Deliorman, D., Özçelik, B., Hoşbaş, S. & Vural, M. (2012). Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. Turkish Journal of Biology. (pp 672-678).
- Díaz, H., Montes, R. et al. (2010). Colonización respiratoria por *Aspergillus* en pacientes pediátricos con cáncer. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. (pp. 15-16).
- Echeverria, J. (2010). El problema del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Revista Scielo. (párr.2).
- Echeverri, L. & Cataño, J. (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. Latreia. (pp. 241-244).

- Echeverri, L. & López, J. (2010). *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia, Revista Scielo. (pp. 158-162).
- Espino, M., Leyva, V. & Puig, Y. (2011). Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* y *E. coli* aisladas de alimentos: revisión de la literatura. Revista Panorama Cuba y Salud. (pp. 33-34).
- Fariza, S., Ibrahim, D. & Modarresi, A. (2013). Effects of butanol extract of *Urtica dioica* on MRSA: structural degeneration study. Journal of Applied Biological Sciences. (p. 35).
- Fariza, S., Ibrahim, D., Modarresi, A. & Mousavi, L. (2012). Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*. Revista de Biología Tropical. (pp. 1568-1573).
- Fernández, C. & Ormeño, E. (2012). Los terpenos de las plantas. Investigación y Ciencia. (pp. 62-64).
- Ferraro, G., Gorzalczany, S. & Marrassini, C. (2010). Actividad analgésica de dos especies de *Urtica* con usos etnomédicos en la República Argentina. Revista Dominguezia. (pp.22-23).
- Freire, K. (2017). Uso de dos métodos de extracción fitoquímicos a base de jengibre (*Zingiber officinale* L.), oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par). [Tesis de maestría]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador.
- Fuchs, H., Melzig, M., Thakur, M. & Weng, A. (2011). Chemistry and pharmacology of saponins: special focus on cytotoxic properties. Botanic: Targets and Therapy. (pp. 21.27).
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Anales de la Facultad de Medicina. (p. 328).
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. Offarm. (pp. 81-82).

- González, J., Hernández, E., Pereira, N., Soto, Z. & Villareal, J. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección, Revista Salud Uninorte. (pp.75-76).
- Gómez, O. (2014). Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* enteropatógenas en Colombia. Revista Chilena de Infectología. (pp. 578-581).
- Gordillo, F. (2018). Estudio farmacognóstico de los productos naturales procesados de uso medicinal de *Urtica dioica* L. (ortiga) y de su extracto vegetal. [Tesis licenciatura]. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas, Ecuador. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15943/1/T-UCE-0008-CQU-018.pdf>
- Guzmán, A. (2017). Manual de procedimientos para bacteriología clínica. Universidad de Ciencias Médicas. (pp. 6, 16, 20).
- Guzmán, V. (2018). Estudio fitoquímico de metabolitos secundarios en *Skytanthus acutus* (Trabajo para titulación de Técnico Universitario). Universidad Técnica Federico Santa María, Chile. <https://repositorio.usm.cl/bitstream/handle/11673/47881/3560901064606UTFSM.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2014). Metodología de la investigación (6ª ed.). México. Editorial McGraw-Hill. (p. 4).
- Hernández, P. & Lam, R. (2008). Los términos: eficiencia y efectividad ¿son sinónimos en el área de la Salud? Instituto de Hematología e Inmunología. (párr.16).
- Hernández, A. (2008). Las plantas medicinales. Revista Biocenosis. (pp. 20-21).
- Herrera, M. (2004). Interpretación de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. (párr. 3-4).

- Huerta, J. (2007). Ortiga mayor *Urtica dioica* L. Revista Medicina Naturista. (pp. 132-137).
- Hortal, Camou & Zunino. (2017). Alarma por la resistencia a antimicrobianos: situación actual y desafíos. Revista Médica del Uruguay. (pp. 278).
- Jaramillo, C., Lemus, M. & Rojas, L. (2015). Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios. Universidad Técnica de Machala. (pp. 16-23).
- Juma et al. (2015). Protective effects of *Urtica dioica* and Cimetidina® on liver function following acetaminophen induced hepatotoxicity in mice. Journal of Developing Drugs. (p. 2).
- Joshi, B., Mukhija, M. & Kalia, A. (2014). Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L. International Journal of Green Pharmacy. (pp. 201-205).
- Kaper, J., Moley, H., & Nataro, J. (2004). Pathogenic escherichia coli. Nature reviews Microbiology. (pp. 123-130).
- Khare, V., Kushwaha, P. et al. (2012). Pharmacognostic evaluation and antioxidant activity of *Urtica dioica* L. Chinese Medicine. (pp. 128-133).
- Lizarbe, M. (2009). Bacterias y virus ¿cómo nos defendemos? Revista Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. (pp. 116-117).
- Lopes, M., Mota, C., Ramos, F., Santos, L. & Souza, C. (2010). Resistencia antimicrobiana de Salmonella Typhi identificadas en el Estado de Pará, Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde. (pp. 61-62).
- López, C. (2013). Elaboración de una colección de referencia y fortalecimiento de la información botánica y farmacognóstica de 31 especies de plantas utilizadas en la elaboración de medicina natural. (Grado de Licenciatura). Universidad de El Salvador, El Salvador.

- López, M., Triana, J., Pérez, F. & Torres, E. (2005). Métodos físicos de separación y purificación de sustancias orgánicas. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. (p. 12).
- Murray, P., Pfaller, M. & Rosenthal, K. (2014). *Microbiología médica* (7ª ed.). Elsevier Saunders.
- Murray, P., Pfaller, M. & Rosenthal, K. (2017). *Microbiología Médica* (8. ed.). Elsevier Saunders.
<https://books.google.co.cr/books?hl=es&lr=&id=GOaVDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=libros+de+microbiolog%C3%ADa&ots=hRhVMLM1rr&sig=A7YCjRVBj9lFJVWtg7jtc1rJqaA#v=onepage&q&f=true>.
- Motamedi, H., Mansour, S., Bakhtiari, A. & Vafaei, M. (2014). Introducing *Urtica dioica*, a native plant of Khuzestan, as an antibacterial medicine plant. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. (pp. 1-2).
- Myada, A. (2015). Evaluation of antimicrobial activities of *Urtica dioica* against some pathogenic bacterial strains. *International Journal of Current Advanced Research*. (p. 219).
- Organización Mundial de la Salud. (2020). Resistencia a los antimicrobianos.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>.
- Osorio, C. (2017). Sobre el origen del término bacteria: una paradoja semántica. *Revista Chilena de Infectología*. (pp. 265-268).
- Park, K & Chess, B. (2012). *Foundations in Microbiology*. (8ª ed.). McGraw-Hill.
- Pasachova, J., Ramirez, S. & Munoz, L. (2019). *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Revista Nova*. (pp.26-31).
- Pérez, D. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. (pp. 57-58).

- Pérez, N. (2014). Terpenos farmacognosia y medicamentos herbarios. Universidad Central de Venezuela. (pp. 4-6).
- Pinto, M. (2013). Cumarinas: versatilidad estructural y aplicaciones en Química Farmacéutica. [Tesis doctoral]. Universidad de Santiago de Compostela, Portugal. <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/9787>.
- Ray, G. & Ryan, K. (2011). Sherris, Microbiología Médica (5ª ed.). McGraw-Hill.
- Ramírez, C. & Villalobos, J. (2016). Análisis de las bacteremias por *Klebsiella pneumoniae* en pacientes del Hospital México. Acta Médica Costarricense. (pp. 63-65).
- Rodríguez, M. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. (pp. 465-472).
- Salehzadeh, A., Asadpour, L., Naeemi, A. & Houshmand, E. (2014). Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Sambucus ebulus* and *Urtica dioica* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines. (pp. 38-39).
- Serra, M. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política microbiana. Revista Habanera de Ciencias Médicas. (pp. 403-404).
- Serrano, O. & Hernández, J. (2016). Las bacterias en la historia y la cultura humanas. Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta. (párr. 1-4).
- Soria, N. (2018). Las plantas medicinales y su aplicación en la salud pública. Revista Salud Pública. Paraguay. (p. 7).

- Turker, A. & Usta, C. (2014). Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. (pp. 138-138).
- Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. (2016). Bacterias. <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/botanicageneral/wp-content/uploads/2016/03/BACTERIAS.pdf>
- Vargas, F. & Kuno, A. (2014). Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica*. (pp.2595-2596).
- Vázquez, N. (2017). Evaluación del uso de fitoquímicos para el tratamiento de bacterias multirresistentes. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Argentina de la Empresa, Argentina. (p. 11).
- Velásquez et al. (2013). *Klebsiella pneumoniae* resistentes a los carbapenemes. Primer caso de carbapenemasa tipo KPC en Perú. *Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna*. (p. 194).
- Zepeda, J. (1998). Resistencia de las bacterias a los antibióticos. *Revista de Medicinas Complementarias*. (pp. 45-46).