



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

## FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

### CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Proyecto Final de Investigación previo a la obtención del título de Licenciada en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

#### TRABAJO DE TITULACIÓN

“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lasiocephalus ovatus* SCHLTDL. (ASTERACEAE) QUE CRECE EN ECUADOR, EN EL PERÍODO ABRIL – AGOSTO 2017”

**Autoras:** Carvajal Ibarra Ligia Piedad  
Vimos Sisa Katerine Elizabeth

**Tutora:** Dra. Liliana Araujo Baptista PhD.

**Riobamba – Ecuador**

**2017**

## REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: “Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* SCHLTDL. (Asteraceae) que crece en Ecuador”, presentado por Carvajal Ibarra Ligia Piedad y Vimos Sisa Katerine Elizabeth y dirigido por la Dra. Liliana Araujo Baptista PhD, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

**Dra. Patricia Miño**

.....

Presidente del Tribunal



.....

Firma

**Msc. Mercedes Balladares**

.....

Miembro del Tribunal



.....

Firma

**Lcda. Gisnella Cedeño**

.....

Miembro del Tribunal



.....

Firma

## DECLARACIÓN DEL TUTOR

Yo, Liliana Araujo Baptista docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del proyecto de investigación con el tema: "Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. (Asteraceae) que crece en Ecuador", propuesto por las señoritas, Carvajal Ibarra Ligia Piedad y Vimos Sisa Katerine Elizabeth, egresadas de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad de Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentran aptas para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a los interesados hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



.....  
Dra. Liliana Araujo Baptista PhD.

DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

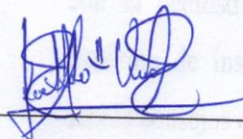
## AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, nos corresponde exclusivamente a: las autoras Ligia Piedad Carvajal Ibarra y Katerine Elizabeth Vimos Sisa y la Directora del Proyecto Dra. Liliana Araujo Baptista PhD.; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



**CARVAJAL IBARRA LIGIA PIEDAD**

**C.I. 020231124-7**



**VIMOS SISA KATERINE ELIZABETH**

**C.I. 060415657-0**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darme fuerza y valor para superar obstáculos y dificultades a lo largo de mi vida. A mi madre por la confianza y apoyo brindado que con su demostración de madre ejemplar ha sabido llenarme de inspiración, por sus enseñanzas y sus sabios consejos que me han enseñado a no desfallecer a pesar de lo difícil que sea el camino. A mi familia que con sus consejos me han ayudado a afrontar cada reto que se me ha presentado a lo largo de mi vida, agradezco a la Universidad Nacional de Chimborazo, Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico, a la Facultad de Ciencias de la Salud, por haberme permitido cumplir mis aspiraciones en el camino hacia una nueva etapa de mi vida y formarme como Licenciada en Laboratorio Clínico e Histopatológico.

**Carvajal Ibarra Ligia Piedad**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco con todo mi corazón a Dios, siendo el resultado del esfuerzo conjunto de todos los que me apoyaron a lo largo de mi carrera tanto en triunfos y derrotas, por eso agradezco a mi tutora de proyecto Dra. Liliana Araujo Baptista PhD. A mis padres y familia quienes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado mi formación académica, creyeron en mí en todo momento y no dudaron de mis habilidades. A mis profesores a quienes les debo gran parte de mi formación, gracias a su paciencia y enseñanza. Finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa Universidad Nacional de Chimborazo la cual abre sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

**Vimos Sisa Katerine Elizabeth**

## **DEDICATORIA**

En primer lugar dedico este trabajo a Dios por haberme dado la vida y permitirme llegar a esta instancia de mi formación profesional. A mi madre amada por darme el apoyo incondicional y permitirme contar siempre con ella. A Mi familia tía, primas y amigos que siempre estuvieron pendientes de mí a pesar de la distancia, a mi compañera de tesis que sin mutuo apoyo no hubiésemos culminado este gran pasó de nuestras vidas; de manera muy especial a nuestra tutora Dra. Liliana Araujo Baptista PhD. y finalmente a la institución.

**Carvajal Ibarra Ligia Piedad**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo es dedicado de manera muy especial en primer lugar a Dios, por darme la fortaleza de seguir mi sueño a pesar de los obstáculos que se presentaron en mi camino, dándome salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor. A mi padre Néstor Vimos, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor. A mi madre Gladys Sisa, por sus consejos, para no dejarme decaer, a mis tíos que han sido como padres también, quienes de una u otra forma siempre han estado pendientes de mis triunfos, fracasos y me han dado el aliento para seguir adelante. A la vida, por haberme enseñado a ser más fuerte, perseverante y constante en cada uno de mis objetivos propuestos.

**Vimos Sisa Katherine Elizabeth**



## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos.....	4
<b>ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA</b> .....	5
Antecedentes históricos de las plantas con fines beneficiosos.....	5
Importancia de las plantas medicinales.....	5
Plantas antimicrobianas.....	6
Actividad antimicrobiana.....	6
Características de la planta <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltdl.....	6
Familia Asteraceae.....	6
Genero <i>Lasiocephalus</i> .....	7
Especie <i>Lasiocephalus ovatus</i> .....	7
Usos medicinales.....	7
Distribución geográfica.....	8
Composición química del aceite esencial de <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltdl....	9
Aceites esenciales (AEs).....	9
Localización de los AEs.....	9
Componentes de los AEs .....	9
Actividad farmacológica de los AEs.....	10
Mecanismo de acción de los AEs como antimicrobianos.....	10
Estructura bacteriana.....	10
Bacterias de interés clínico que se emplean en este estudio.....	11
Estirpes bacterianas Grampositivas.....	11
Estirpes bacterianas Gramnegativas.....	12
Mecanismos de acción de los antimicrobianos.....	13
Actividad antimicrobiana.....	13
Concentración mínima inhibitoria.....	14
Concentración mínima bactericida.....	14
Mecanismos de resistencia bacteriana frente a los antibióticos.....	14

<b>METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>15</b>
Tipos de investigación.....	15
Diseño de la investigación.....	15
Población y muestra.....	15
Población.....	15
Muestra.....	16
Sistema de variables.....	16
Instrumentos de recolección de datos.....	16
<b>MATERIAL UTILIZADO EN EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....</b>	<b>16</b>
Material y equipos de laboratorio.....	16
Material Vegetal.....	17
Aceite esencial de la especie vegetal <i>Lasiocephalus ovatus</i> .....	17
Cepas bacterianas.....	17
Medios de cultivo .....	17
Componentes Caldo Nutritivo.....	17
Componentes Caldo Tripticasa Soya.....	17
Componentes Agar nutritivo.....	18
Componentes Agar Infusión Cerebro Corazón	18
<b>PROCEDIMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>18</b>
Identificación botánica de la especie <i>Lasiocephalus ovatus</i> .....	18
Extracción y aislamiento del aceite.....	18
Determinación de la composición química del aceite.....	18
Determinación de la actividad antibacteriana.....	19
Preparación de la solución stock del aceite esencial.....	19
Mantenimiento y conservación de las bacterias.....	19
Preparación del preinoculo.....	19
Preparación del inoculo.....	19
Actividad antibacteriana: Determinación de la Concentración Mínima	20
Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMBI).....	20
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>21</b>
Identificación botánica de la especie <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltdl.....	21
Rendimiento del aceite esencial.....	21
Composición química del aceite esencial.....	21

Actividad antibacteriana del aceite esencial.....	23
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>27</b>
Conclusiones.....	27
Recomendaciones.....	28
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Taxonomía del genero <i>Lasiocephalus</i> .....	8
Tabla 2: Diferencia entre las paredes celulares de bacterias Grampositivas y Gramnegativas.....	11
Tabla 3: Componentes mayoritarios y minoritarios de <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltdl. (Arquitectura).....	22
Tabla 4: Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltdl. frente a <i>E. coli</i> ATTC 25922 y <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853.....	24
Tabla 5: Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltdl. frente a <i>S. aureus</i> ATTC 25923 y <i>E. faecalis</i> ATCC 29212.....	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Especie <i>Lasiocephalus ovatus</i> .....	8
Figura 2: Situación geográfica del <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltdl. ( <i>Culcitum ovatum</i> (Schltdl) S. F. Blake).....	8
Figura 3: Estructura bacteriana.....	11
Figura 4: Mecanismos de acción de los antibióticos.....	13
Figura 5: Mecanismos de resistencia bacteriana.....	15

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1. Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltldl. frente a <i>E. coli</i> ATTC 25922 y <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853.....	24
Grafico 2. Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Lasiocephalus ovatus</i> Schltldl. frente a <i>S. aureus</i> ATTC 25923 y <i>E. faecalis</i> ATCC 29212.....	25

## RESUMEN

La actividad antimicrobiana del aceite esencial de la especie vegetal *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. (Asteraceae), denominada comúnmente Arquitecta, fue evaluada frente a cepas bacterianas de interés clínico como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*. Las enfermedades infecciosas siguen siendo una de las causas más importantes de muerte en la humanidad. El aceite esencial se obtuvo de las partes aéreas de la planta mediante el método hidrodestilación y se analizó usando cromatografía de gas-espectrometría de masas. La prueba de actividad antibacteriana se realizó *in vitro*, y la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se determinaron mediante el método de microdilución en caldo. El rendimiento obtenido fue de 0,05%, calculado sobre la base del peso de 4.400 g de material vegetal fresco y el componente mayoritario resultó ser el Camphor (40,48%), seguido de 5,5-dimethyl-2-ethyl-1,3-cyclopentadiene (11,90 %) y *para*-mentha-1,5-dien-8-ol (5,23 %). El aceite de *L. ovatus* mostró actividad antimicrobiana frente a las cuatro bacterias, inhibiendo en mayor proporción el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*, con CMIs de 200-400 µg/mL. La inhibición bacteriana mostrada frente a *E. faecalis* y *P. aeruginosa* fue menor, con CMIs de 1600-3200 µg/mL y 3200-6400 µg/mL, respectivamente. Este aceite esencial puede ser una fuente natural bactericida frente a otras cepas bacterianas.

**Palabras claves:** *Lasiocephalus ovatus*, aceite esencial, actividad antibacteriana, *in vitro*.

### Abstract

The antimicrobial activity of essential oil of the plant species *Lasiocephalus ovatus* Schldl. (Asteraceae), commonly known as Arquitecta. It was evaluated against bacterial strains of clinical interest such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterococcus faecalis*. Infectious diseases remain one of the most important causes of death. The essential oil was obtained from the aerial parts of the plant by the hydrodistillation method and it was analyzed using gas chromatography-mass spectrometry. The antibacterial activity test was carried out in vitro. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (BMC) were determined by the broth microdilution method. The yield obtained was 0.05%, it was calculated based on the weight of 4,400 g of fresh vegetable material and the major component was camphor (40.48%), followed by 5.5-dimethyl-2-ethyl-1.3-cyclopentadiene (11.90%), and para-mentha-1.5-dien-8-ol (5.23%). The oil of *L. ovatus* showed antimicrobial activity against the four bacteria, inhibiting in greater proportion the growth of *E. coli* and *S. aureus*, with MICs of 200-400 µg / mL. The bacterial inhibition shown against *E. faecalis* and *P. aeruginosa* was lower, with MICs of 1600-3200 µg / mL and 3200-6400 µg / mL, respectively. This essential oil may be a natural bactericidal source against other bacterial strains.

**Keywords:** *Lasiocephalus ovatus*, essential oil, antibacterial activity, in vitro.

  
Reviewed by: Celleri, Silvana  
Language Center Teacher





## INTRODUCCIÓN

El presente proyecto de investigación se fundamenta en la determinación de la actividad antimicrobiana y análisis de la composición química del aceite esencial obtenido de las partes aéreas de la planta *Lasiocephalus ovatus* Schldl. (Asteraceae), comprada en el Mercado San Alfonso de la ciudad de Riobamba a los expendedores de plantas medicinales que crecen en Ecuador.

El interés por la investigación de productos naturales y sus derivados se inicia desde tiempos remotos, ya que se han utilizado como agentes terapéuticos desde la antigüedad y en la medicina tradicional para el tratamiento de muchas enfermedades.<sup>(1)</sup> Los productos naturales han sido las fuentes más exitosas de posibles fármacos potenciales y han desempeñado un papel importante en el desarrollo de nuevos fármacos dirigidos contra diversos objetivos farmacológicos.<sup>(2)</sup> En este sentido, se ha incrementado el número de investigaciones científicas en la búsqueda de productos naturales que presentan diferentes actividades biológicas, siendo las más estudiadas la antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria.<sup>(3,4,5)</sup>

La importancia de los productos naturales es claramente enorme y muchas plantas superiores contienen nuevos metabolitos con diferentes propiedades biológicas, alrededor del 25% de los fármacos de plantas se prescribieron en todo el mundo y 121 compuestos activos están en uso actual.<sup>(6)</sup> Se considera que, de las 1073 moléculas clasificadas según las categorías de enfermedades, el 69% (n=195) de los compuestos antiinfecciosos, que implican agentes antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios y antivirales, son de origen natural o inspirados en éstos.<sup>(7)</sup> Continúa activamente la búsqueda de nuevas especies en las regiones más remotas y menos exploradas del planeta.<sup>(8)</sup>

Las plantas medicinales han sido utilizadas para el tratamiento de enfermedades infecciosas.<sup>(9)</sup> La investigación actual en el descubrimiento de fármacos a partir de plantas medicinales implica un enfoque multifacético que combina técnicas botánicas, fitoquímicas, biológicas y moleculares.<sup>(10)</sup>

En las últimas décadas, los aceites esenciales y extractos de hierbas se han convertido en interesantes fuentes de productos naturales, ya que representan una alternativa a los antimicrobianos y antioxidantes sintéticos en la industria farmacéutica, medicina alternativa y terapias naturales,<sup>(3,5,11)</sup> así como en la industria alimentaria.<sup>(3,12)</sup>

Los aceites esenciales (AE) obtenidos de plantas son bien conocidos en la medicina tradicional y con el avance científico se ha demostrado la presencia de numerosos compuestos

químicos, a los que se les han atribuido diversas propiedades biológicas, como por ejemplo: actividades antimicrobianas, citotóxica, antioxidante, hipoglucemiante, entre otras. La actividad antibacteriana de los EOS es bien citada en la literatura.<sup>(10)</sup>

El género *Lasiocephalus*, de la familia Asteraceae, comprende cerca de 27 especies<sup>(13)</sup> distribuidas en la cordillera de los Andes, desde Venezuela hasta Bolivia y Perú, con una mayor riqueza de especies en Ecuador, y crecen entre 3500-4800 m sobre el nivel del mar.<sup>(14)</sup> *Lasiocephalus ovatus* Schltl. (sinónimos: *Culcitium uniflorum* (Lam.) Hieron., *C. reflexum* H.B.K. *Gnaphalium uniflorum* Lam.) es una planta herbácea que crece en América del Sur, especialmente en Ecuador y Colombia.<sup>(15)</sup>

Un trabajo escrito por Cerón en 2006 sobre plantas medicinales de los Andes ecuatorianos, refiere que la especie vegetal *Lasiocephalus ovatus* Schltl. (de nombre común Arquitecta) es una planta nativa, utilizada por la población para tratar la inflamación, úlcera y próstata, y está dentro de las 273 especies medicinales que se expenden en las hierberías de los mercados.<sup>(16)</sup> Asimismo, Ruales y Guevara en 2010 describen en su artículo sobre la flora patrimonial de Quito y sus alrededores descubierta por la expedición de Humboldt y Bonpland en el año 1802, a la especie *L. ovatus* Schltl. como un arbusto de estatus nativa y colectada en la localidad Monte Pichincha.<sup>(17)</sup>

La especie *L. ovatus*, se utiliza en Colombia en la medicina popular como lavado vaginal para regular el flujo y en Ecuador como diurético, depurativo y para tratar la sífilis.<sup>(18)</sup> Las hojas de *C. reflexum* se utilizan en forma de decocción como remedio depurativo y diurético en la medicina popular local y por vía tópica para el tratamiento de algunas afecciones inflamatorias de la piel.<sup>(15)</sup>

Las enfermedades infecciosas siguen siendo una de las causas más importantes de muerte en la humanidad.<sup>(19)</sup> Los antibióticos han salvado millones de vidas, sin embargo, una amenaza creciente deteriora la eficacia de estos fármacos: la resistencia bacteriana a los antibióticos.<sup>(20)</sup> La resistencia a los antimicrobianos pone en peligro la eficacia de la prevención y el tratamiento de una serie cada vez mayor de infecciones por bacterias, hongos, parásitos y virus. Están apareciendo nuevos mecanismos de resistencia que se propagan a nivel mundial y ponen en peligro nuestra capacidad para tratar enfermedades infecciosas comunes, con el consiguiente aumento de la discapacidad y las muertes, y la prolongación de la enfermedad.<sup>(21)</sup> Por ejemplo, se calcula que las personas infectadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina tienen una probabilidad de morir un 64% mayor que las infectadas por cepas no resistentes.<sup>(22)</sup>

Por los antecedentes descritos nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Presentará actividad antimicrobiana el aceite esencial de la especie vegetal *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. frente a las cepas bacterianas de interés clínico como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*?

La OMS publica su primera lista de «patógenos prioritarios» resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana, con el fin de tratar de guiar y promover la investigación y desarrollo (I+D) de nuevos antibióticos, como parte de las actividades de la OMS para combatir el creciente problema mundial de la resistencia a los antimicrobianos. Estas bacterias tienen la capacidad innata de encontrar nuevas formas de resistir a los tratamientos y pueden transmitir material genético que permite a otras bacterias hacerse farmacorresistentes.<sup>(23)</sup>

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) como oficina regional de la OMS, en un informe realizado en el período 2010-2014 se reporta que en Ecuador para el año 2007 las enfermedades del sistema urinario ocupan el décimo y tercer lugar en hombres y mujeres, respectivamente, dentro de las primeras 10 causas de muerte.<sup>(24)</sup> Asimismo, la OPS reveló que en el año 2009 en este país existía un porcentaje de resistencia de *E. coli* a Cefalosporinas de tercera generación que oscilaba entre el 18-20% y para *K. pneumoniae* entre 42-48%, y a nivel de Latinoamérica la frecuencia de infecciones causadas por gérmenes productores de  $\beta$ -lactamasas es superior al 32% y 58% para *E. coli* y *K. pneumoniae* respectivamente.<sup>(25)</sup>

En un estudio realizado entre enero de 2010 y diciembre de 2011 en el Hospital General Docente de Riobamba, con el objetivo de determinar el perfil de resistencia bacteria a infección de vías urinarias en pacientes embarazadas atendidas en el servicio de ginecología y obstetricia, se encontró que existe elevada resistencia de *E. coli* al tratamiento con ampicilina, fosfomicina, nitrofurantoina, trimetroprin – sulfametoxazol y a la amoxicilina + ácido clavulánico.<sup>(26)</sup>

Sobre la base de estas consideraciones, este estudio permitió conocer la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltdl (Asteraceae) frente a estirpes bacterianas de interés clínico y los constituyentes químicos mayoritarios del mismo, que podrían ser fuentes de elaboración de nuevos fármacos contra diversas enfermedades infecciosas presentes en el ser humano.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la especie *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. de la familia Asteraceae, comprada en el Mercado San Alfonso de la ciudad de Riobamba a los expendedores de plantas medicinales que crecen en Ecuador, frente a cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas de interés clínico.

### Objetivos Específicos

1. Obtener la ficha de la identificación botánica de la especie vegetal realizada por un especialista en el área.
2. Extraer el aceite esencial de la especie vegetal mediante la técnica de hidrodestilación empleando la trampa tipo Clevenger.
3. Analizar la composición química del aceite esencial determinada mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
4. Evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *L. ovatus* Schltdl. frente a las bacterias Gramnegativas *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*; y Grampositivas *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, mediante el método de microdilución en caldo usando placas de 96 pocillos.
5. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial de *L. ovatus* Schltdl. frente a las cepas evaluadas.

## **ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA**

La terapia antimicrobiana se ha desarrollado en un periodo breve en la historia de la humanidad. A pesar de ésto, gracias al ingenio del hombre y el rápido avance de la ciencia y la tecnología, se consiguió en poco tiempo el desarrollo de un importante número de diversos grupos de antimicrobianos que cubren el espectro de la flora bacteriana patógena. Sin embargo, la lucha contra un grupo de organismos que nos precedieron en la evolución por millones de años no ha sido fácil, y estos organismos tienen la suficiente versatilidad evolutiva para responder con diversos mecanismos de resistencia que van haciendo ineficaz la acción del antibacteriano.<sup>(27)</sup>

### **Antecedentes históricos de las plantas con fines beneficiosos**

A través de los siglos y basado en un conocimiento empírico, el hombre ha utilizado las plantas como fuente para la elaboración de medicamentos, ya sea en las preparaciones tradicionales o en fármacos. Las plantas medicinales han constituido desde tiempos remotos un recurso para cubrir las necesidades terapéuticas y hoy en día se han convertido en un hecho científico universal. La fitoterapia (Fito=planta; terapia=curación) es considerada la medicina más ancestral por excelencia. En la India, China, Egipto, Roma y el medio Oriente comenzaron desde entonces a desarrollar sus materias médicas. Algunos de los primeros manuscritos descubiertos, recopilan la información sobre el poder curativo de las plantas. Es así que históricamente, las plantas medicinales siempre han estado ligadas con el bienestar de la humanidad.<sup>(28)</sup>

### **Importancia de las plantas medicinales**

Las plantas medicinales se han utilizado como una fuente de medicina en todas las culturas desde tiempos inmemoriales. Inicialmente las plantas fueron utilizadas por la gente para satisfacer sus necesidades nutricionales. Existe una variedad de especies de plantas que todavía se utilizan en muchas partes del mundo como Asia, Sudamérica y África como remedios contra varias enfermedades. A pesar de que la Organización Mundial de la Salud informó que el sistema de atención primaria de salud para el 60% de la población del mundo está representado por las medicinas tradicionales, un gran número de especies de plantas con potenciales actividades biológicas no han sido exploradas. La eficacia de las medicinas tradicionales es ahora un hecho supuesto debido a su mejor compatibilidad con el cuerpo humano, una mejor aceptabilidad cultural en todo el mundo y menores efectos secundarios. En varias culturas humanas alrededor del mundo más de 35.000 especies de plantas se están

utilizando para fines medicinales y para el cuidado médico primario, casi 80% de las poblaciones mundiales confían en estas medicinas tradicionales que incluyen el uso de extractos de la planta la mayor parte del tiempo.<sup>(29)</sup>

Las plantas tienen una inmensa importancia en el campo de los medicamentos, ya que han sido utilizados para el tratamiento de muchas enfermedades durante miles de años. A partir de la morfina que se aisló del opio en el siglo XIX, ahora los compuestos activos son también aislados de plantas medicinales. Anteriormente, cuando se descubrió el papel de las plantas medicinales en los fármacos, se aislaron una serie de fármacos, algunos de los cuales todavía están en nuestro uso.<sup>(30)</sup>

### **Plantas antimicrobianas**

Las plantas producen una gran cantidad de compuestos químicos con carácter antimicrobiano, algunos de los cuales muestran una actividad *in vitro* comparable a los antimicrobianos utilizados en clínicas. El arsenal terapéutico del reino vegetal es incalculable, ya que hasta el momento se conoce un porcentaje muy pequeño de los compuestos naturales procedentes de las plantas. Estas sustancias pueden ser utilizadas directamente o como base para nuevos principios en el tratamiento de las infecciones y enfermedades.<sup>(31)</sup>

### **Actividad antimicrobiana**

La actividad antimicrobiana se refiere a la capacidad de impedir la proliferación de bacterias que pueden causar infecciones graves o incluso la muerte de los seres humanos. Hay una amplia diversidad de familias y grupos de antimicrobianos de interés clínico. Los mecanismos por los que los compuestos con actividad antibacteriana inhiben el crecimiento o causan la muerte de las bacterias son muy variados, y dependen de las dianas afectadas. Atendiendo a su efecto antibacteriano, los antimicrobianos se han clasificado tradicionalmente en bactericidas (ejercen una acción letal para la bacteria) o bacteriostáticos (solo inhiben transitoriamente el crecimiento bacteriano). Algunos compuestos, aun siendo incapaces de inhibir o matar las bacterias, pueden bloquear sus mecanismos de resistencia, por lo que usados en combinación con otros antimicrobianos potencian la acción de estos últimos; de este grupo de sustancias solo se emplean en clínica algunos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas.<sup>(32)</sup>

### **Características de la especie vegetal *Lasiocephalus ovatus* Schldl.**

**Familia Asteraceae:** Es de las familias de plantas con flores con mayor número de especies (más de 20.000 especies y 1.100 géneros), y de mayor distribución en todo el mundo. La mayoría son especies herbáceas anuales o perennes y algunas son arbustos o árboles.

Esta familia contiene especies de importancia económica como el girasol (*Helianthus annuus* L.), comestibles como la lechuga (*Lactuca sativa* L.), ornamentales como las dalias, alimentarias como el estragón (*Artemisia dracunculoides* L.) y medicinales como la manzanilla (*Chamaemelum nobile* (L.) All.).<sup>(32)</sup>

Es parte de la familia más representativa del páramo ecuatoriano (Asteraceae), pertenece a la tribu Senecioneae una de las tribus que contribuyen a la mayor diversidad de dicha familia en los altos Andes. En el páramo la tribu está representada por algunos géneros importantes como *Senecio*, *Pentacalia* y *Lasiocephalus*. Hierbas o subarbustos hasta de 0,8 m, flexuosos, con grueso indumento aracnoideo, gris-blanquecino sobre todo en las partes jóvenes, glabrescentes con la edad, los tallos con costillas notorias.<sup>(33)</sup>

**Género *Lasiocephalus*:** Específicamente es un género neotropical de los altos Andes, presenta dos tipos diferentes de crecimiento: uno de forma trepadora y hojas anchas ligeramente leñoso en la base del tallo, presente en el límite del superior del bosque y otro de plantas herbáceas de hojas estrechas con hábito arbustivo. Son subarbustos erectos hasta de 0,5 m, densamente cubiertos en todas sus partes por una capa densa de indumento lanoso-aracnoideo, gris-blanquecino, el tallo redondeado. Hojas alternas, dirigidas hacia arriba, de lanceoladas a oblongo-lanceoladas, 1,5-3 cm de largo, el haz color verde oscuro con indumento laxo, el envés completamente cubierto por el indumento blanquecino, la base sésil y abrazadora. Inflorescencias terminales hasta 8 cm, con 3-4 cabezuelas hasta de 1,5 cm, sobre pedúnculos largos, mutantes, rodeados de brácteas alargadas densamente cubiertas por el indumento, flores tubulares, color verde-limón, vilano alrededor de 8 mm, de aristas blancas.<sup>(34)</sup>

**Especie *Lasiocephalus ovatus* Schltl.:** Esta especie se caracteriza por presentar un pecíolo canaliculado adaxialmente; en la flor muestra una diferencia abrupta entre la sección basal tubular y el limbo de la corola, con lóbulos de la corola acuminados y una prolongación del ovario que se acopla al estilopodio.<sup>(14)</sup> Hábitat: 2500-4500 m.s.n.m. Andes. Manejo: Nativa silvestre.<sup>(35)</sup> Nombre común: Arquitecta Hábito: Subarbusto o arbusto. Origen: Nativa. La **Tabla 1** describe la taxonomía de esta especie y la **Figura 1** muestra una fotografía de la misma.

**Usos medicinales:** En la medicina popular local la especie *L. ovatus* en Colombia se utiliza en lavados vaginales para regular el flujo. En Ecuador, las hojas de *L. ovatus* se usan en forma de decocción como diurético, depurativo y para tratar la sífilis, y por vía tópica para el

tratamiento de algunas afecciones inflamatorias de la piel.<sup>(15,18)</sup> Así mismo, en infusión se usan para tratar inflamaciones de vías urinarias, afecciones del hígado y riñones.<sup>(35)</sup>

**Tabla 1. Taxonomía del género *Lasiocephalus ovatus* Schtdl.**

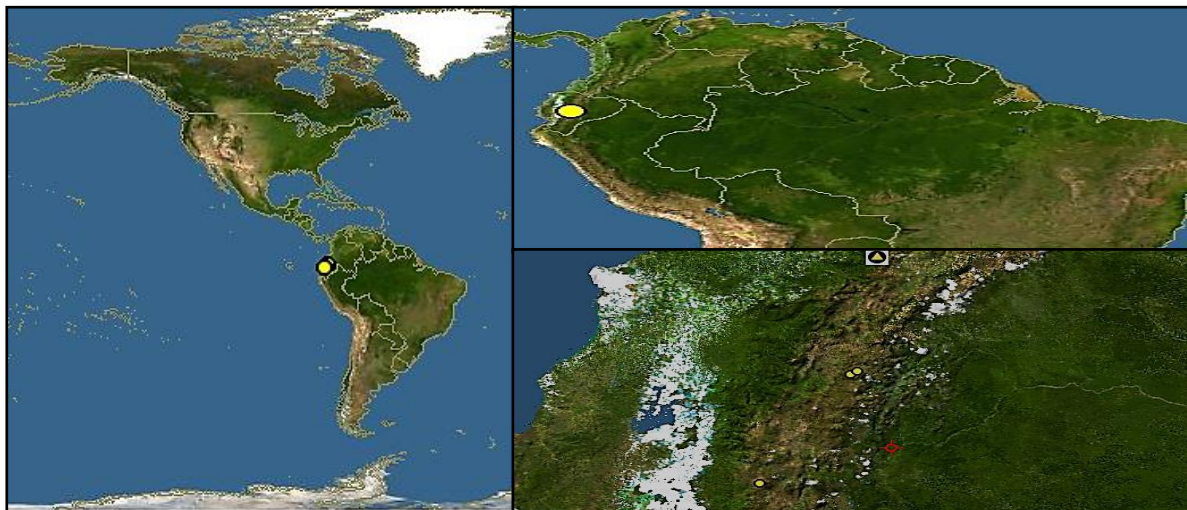
**Phylum:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnolopsida  
**Orden:** Asterales  
**Familia:** Asteraceae  
**Género:** *Lasiocephalus*  
**Epíteto específico:** *ovatus*  
**Autor:** WILLD. EX SCHLTDL  
**Especie:** *Lasiocephalus ovatus*  
**Fenología:** fruiting  
**Determinador:** Díaz P., S  
**Fecha de determinación:** 1



**Figura 1. Especie *Lasiocephalus ovatus* Schtdl.**

Fuente: *Lasiocephalus ovatus* Schtdl. - Asteraceae  
[http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/326483/flickr.com%2Fphotos%2Fchdeff\\_photos%2F5980454635&psig=AFQjCNGqILYIWVgZh4\\_wL6uipFooMHA0-A&ust=1493884575372295jardinbotanico.html](http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/326483/flickr.com%2Fphotos%2Fchdeff_photos%2F5980454635&psig=AFQjCNGqILYIWVgZh4_wL6uipFooMHA0-A&ust=1493884575372295jardinbotanico.html)

**Distribución geográfica:** Es endémico de los Andes, con sus especies distribuidas en los páramos y bosques desde Venezuela hasta Bolivia y Perú, su centro de mayor diversidad está en Ecuador y Colombia (**Figura 2**).<sup>(34)(14)</sup>



**Figura 2. Situación geográfica de *Lasiocephalus ovatus* Schtdl. (*Culcitium ovatum* (Schtdl.) S.F. Blake)**

Fuente: *Planta Lasiocephalus ovatus Schtdl.* <http://www.discoverlife.org/mp/20m?w=720&r=0.125&e=-36.00000&n=24.00000&z=0&kind=Culcitium+ovatum&la=24&lo=-36&btxt=Encyclopedia+of+Life&burl=http://www.eol.org/pages/5116949&bi=/DB/logos/eol.png&b=EOL/pages/5116949?137.313>



## **Composición química del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltdl.**

Según las referencias bibliográficas disponibles, no existen informes específicos con respecto a la composición química y actividad biológica del aceite esencial de *L. ovatus* y pocos informes al respecto de otras especies del género *Lasiocephalus*.

### **Aceites esenciales (AEs)**

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles producidos por organismos vivos y aislados por medios físicos (prensado y destilación) de una planta entera o parte de planta de origen taxonómico conocido. Los principales compuestos respectivos se derivan principalmente de tres vías biosintéticas solamente, la vía del mevalonato que conduce a los sesquiterpenos, la vía del metil-eritritol que conduce a los mono y diterpenos, y la vía del ácido shikímico en el camino a los fenilpropanos. Sin embargo, hay un número casi incontable de sustancias individuales y una enorme variación en la composición de los aceites esenciales.<sup>(36)</sup> Muchas de estas sustancias volátiles tienen diversas funciones ecológicas. Pueden actuar como mensajeros internos, como sustancias defensivas contra herbívoros o como volátiles, no sólo dirigiendo enemigos naturales a estos herbívoros, sino también atrayendo insectos polinizadores a su huésped. Es bien conocido que los AEs ejercen muchos efectos en los cuerpos de animales y humanos. Muchos autores han descrito diversas actividades biológicas. El tratamiento de enfermedades comunes como artritis reumatoide, dolor, infecciones microbianas, cáncer, y muchos más, con métodos alternativos que emplean AEs, sigue siendo tema actual. Debido a una alta tasa de resistencias contra el tratamiento común, la ciencia está en la búsqueda de oportunidades alternativas o al menos complementarias de tratamiento.<sup>(37)</sup>

### **Localización de los AEs**

Los AEs son productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal. Pueden estar en diferentes órganos: raíz, rizoma (jengibre), leño (alcanfor), hoja (eucalipto), fruto (anís), sumidades floridas (F. Labiatae).<sup>(38)</sup>

### **Componentes de los AEs**

**1. Monoterpenos:** Son biogénicamente derivados de dos unidades de isopreno y están distribuidos en una gran variedad de sistemas vivos, plantas, microorganismos e insectos; algunos tienen funciones específicas en el individuo, otros presentan actividades biológicas de distintas maneras.

**2. Sesquiterpenos:** Son estructuras que contienen 15 átomos de carbono, presentan una gran diversidad esquelética como resultado de la facilidad de reorganizarse que tienen estas estructuras.

**3. Compuestos aromáticos derivados del fenilpropano:** son muchos menos frecuentes que el mono y el sesquiterpeno, derivan en su mayoría, del fenilpropano C6-C3.

**4. Compuestos derivados de la degradación de ácidos grasos:** Existen ciertos compuestos aromáticos como los aldehídos, cetonas, ácidos o alcoholes con cuatro o cinco átomos de carbono, que son formados por la degradación de ácidos grasos y se encuentran principalmente en los frutos.<sup>(39)</sup>

### **Actividad farmacológica de los AEs**

**Poder antiséptico:** Este se manifiesta frente a diversas bacterias patógenas, incluso cepas habitualmente a los antibióticos. Algunos Aes también son activos frente a hongos responsables de micosis y frente a levaduras (*Candida*).

**Propiedad espasmolítica y sedante:** Numerosas drogas con aceites esenciales son catalogadas como eficaces para disminuir los espasmos gastrointestinales.

**Propiedad irritante:** Ciertos productos por tópicos, provocan aumento de la microcirculación, sensación de calor y, en ciertos casos, ligera acción anestésica local. En la actualidad, son aun numerosas las pomadas, cremas o geles a base de AEs destinadas aliviar distensiones, esguinces y otras molestias articulares o musculares.<sup>(40)</sup>

Los AEs han sido utilizados a lo largo de la historia en forma empírica y debido a las propiedades biológicas de sus compuestos como antifúngica, antibacteriana, antiviral, anticancerígena, entre otra, constituyen la base de numerosas terapias homeopáticas.<sup>(40)</sup>

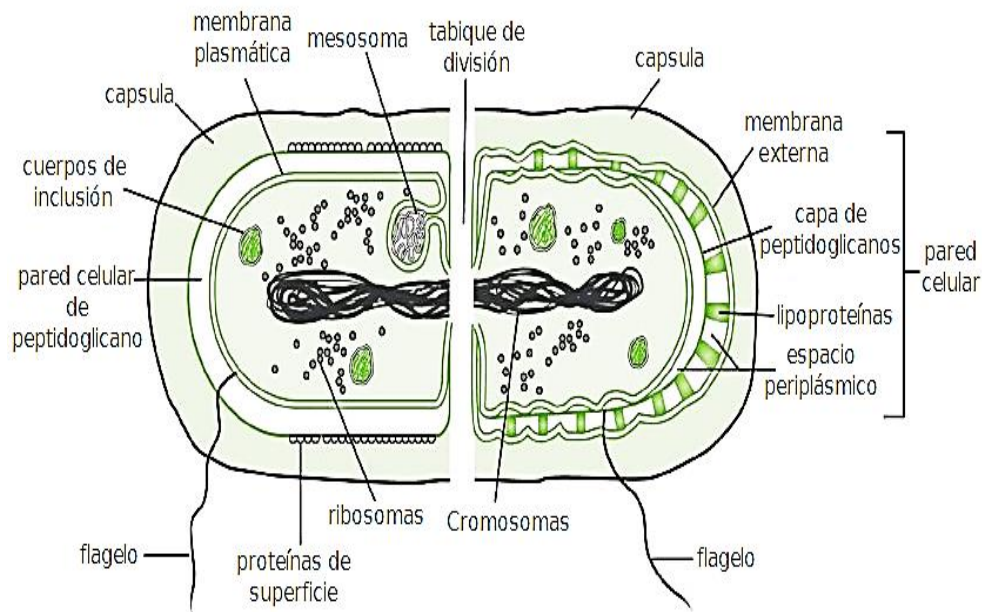
### **Mecanismo de acción de los AEs como antimicrobianos**

Tienen la capacidad de romper la pared celular de ciertos microorganismos y suprimir su actividad enzimática. Además, pueden inhibir las endotoxinas de patógenos Gramnegativos y Grampositivos. Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la capacidad de los AEs para ejercer un efecto bactericida.<sup>(39)</sup>

### **Estructura bacteriana**

Las bacterias en su estructura presentan componentes externos que son denominados permanentes o constantes y son la membrana citoplasmática, pared celular y el citoplasma con todos sus componentes (**Figura 3**). A partir de ello y de acuerdo a sus características a las bacterias se les clasifica en grupos en relación a la presencia de peptidoglucano en la pared

celular y los aparatos externos que lo conforman. De igual manera la clasificación bacteriana puede ser favorecida por la aplicación de un procedimiento denominado tinción Gram que utiliza como colorantes principales a la violeta de genciana y a la safranina, para dotar de color a las bacterias. Por medio de esta técnica se realiza la división en el laboratorio de las bacterias en dos grandes grupos de acuerdo a la capacidad de tinción que presentan en: Grampositivas y Gramnegativas con diferencias particulares (**Tabla 2**).<sup>(41)</sup>



**Figura 3. Estructura bacteriana.**

Fuente: Estructura Bacteriana. <http://cmapspublic3.ihmc.us/rid=1LHFDD80N-H69XWN-4Z5T/Estructura%20bacteriana.cmap>

**Tabla 2. Diferencias entre las paredes celulares de bacterias Gram positivas y Gram negativas**

	GRAM POSITIVAS	GRAM NEGATIVAS
<b>Estructura</b>	Más gruesa y químicamente sencilla	Más fina, pero químicamente más compleja
<b>Contenido de lípidos</b>	Bajo (1-4%)	Alto (11-22%)
<b>Peptidoglucano</b>	Mayor cantidad (60%)	Menor cantidad (10%)
<b>Ácidos teicoicos</b>	Presentes	Ausentes
<b>Lipopolisacáridos</b>	Ausentes	Presentes

### **Bacterias de interés clínico que se emplean en este estudio**

#### **Estirpes bacterianas Grampositivas**

*Staphylococcus aureus*: Es una bacteria oportunista que forma parte de la microflora humana. La colonización más frecuente por la mucosa nasal como también de la piel, el principal reservorio lo constituye el hombre enfermo o el portador. Es más frecuente la

colonización en el hospital, especialmente en pacientes con hemodiálisis, diabéticos tipo 1, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados con VIH y adictos a las drogas.<sup>(42)</sup>

Tiene la morfología propia de los *estafilococos*, es hemolítico produce la enzima coagulasa y un pigmento carotenoide. Causa procesos patológicos por mecanismo invasivos, toxigénicos e inmunopatológicos.<sup>(43)</sup>

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.<sup>(44)</sup>

***Enterococcus faecalis*:** Es un coco Gram positivo anaerobio facultativo que puede aparecer solo, en pares o en cadenas.<sup>(45)</sup> El hábitat normal es en la microbiota del tracto gastrointestinal, pero puede encontrarse transitoriamente en el tracto hepatobiliar, vagina, cavidad oral y lesiones de tejidos blandos.<sup>(46)</sup>

A pesar de su baja virulencia, pueden causar infecciones graves y ser responsables de colelitiasis, peritonitis, septicemia, endocarditis y meningitis. Es la especie responsable de la mayoría de las infecciones causadas por enterococos. Durante los últimos 30 años, los enterococos han pasado de ser considerados agentes comensales de escasa patogenicidad a convertirse en la segunda o tercera etiología más frecuente de infección nosocomial.<sup>(47)</sup>

### **Estirpes bacterianas Gramnegativas**

***Escherichia coli*:** Es una especie que se halla en el tubo digestivo del hombre y de los animales de sangre caliente. Es causante de enteritis por diferentes mecanismos. Estas cepas poseen factores de virulencia que la hacen, enteropatógenas como son adhesinas específicas, tienen sistemas para la penetración intracelular y producción de toxinas. Es causante de las mayorías infecciones de las vías urinarias (IVU) en la mujer. Así mismo, puede causar colecistitis, peritonitis, neumonía y bacteriemia.<sup>(43)</sup>

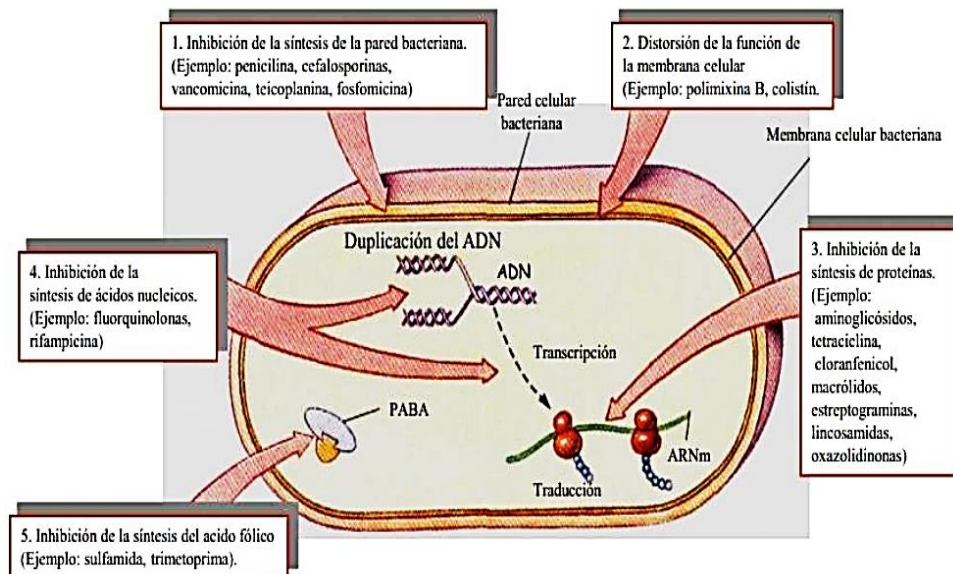
***Pseudomonas aeruginosa*:** Es un bacilo gramnegativo, cuenta con muchos factores de virulencia, incluidos componentes estructurales, toxinas y enzimas. Se ubica en la naturaleza y en los ambientes húmedos de los hospitales; causando diferentes cuadros clínicos (Murray, 2009).<sup>(48)</sup>

Es uno de los patógenos nosocomiales globalmente dominantes; ocasiona una amplia gama de infecciones, algunas tan severas como neumonía o bacteriemia, cuadro que se complica aún más debido a su resistencia intrínseca a diversos antibióticos y a su notable capacidad de

adquirir nuevos mecanismos de resistencia, asociándola a elevados índices de mortalidad y convirtiéndola en un serio problema de salud pública.<sup>(49)</sup>

### Mecanismos de acción de los antimicrobianos

Los antimicrobianos actúan inhibiendo diversos procesos metabólicos que son esenciales para la supervivencia de los microorganismos. La especificidad de acción depende de que el fármaco sea natural o sintético, bloquee una enzima o sustrato no presente en las células eucariotas humanas o suficientemente distintas. Los mismos que tienen efectos sobre una diversidad de bacterias, sus mecanismos de acción difieren basados en las características vitales de cada organismo.<sup>(50)</sup> Estos actúan en distintos niveles: en la pared celular inhibiendo la biosíntesis del peptidoglucano (capa esencial para la supervivencia de las bacterias), daño a nivel de la membrana citoplasmática, inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y de la función ribosomal, inhibidores de betalactamasas (**Figura 4**).<sup>(51)</sup>



**Figura 4. Mecanismos de acción de los antibióticos**

Fuente: Mecanismo de acción de los Antimicrobianos.  
<https://es.slideshare.net/HansJc/mecanismo-de-accion-de-los-antibioticos>

### Actividad antimicrobiana

Los agentes antimicrobianos se comportan de diversas maneras: como *bactericidas* y como *bacteriostáticos*. Como bactericidas, producen la muerte de los microorganismos responsables del proceso infeccioso. Pertenecen a este grupo los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, rifampicina, vancomicina, polimixinas, fosfomicina, quinolonas y nitrofurantoínas. Como bacteriostáticos, inhiben el crecimiento bacteriano, aunque el

microorganismo permanece viable, de forma que, cuando se suspende el tratamiento, puede volver a recuperarse y multiplicarse.<sup>(52)</sup>

La actividad antibacteriana exige una normalización o cuantificación, que se consigue mediante los métodos utilizados *in vitro* para comprobar la susceptibilidad del microorganismo en relación con el antibiótico. Con estos métodos se define:

**Concentración mínima inhibitoria:** Es la mínima cantidad de antimicrobiano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en unas condiciones normalizadas.

**Concentración mínima bactericida:** Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.<sup>(53)</sup>

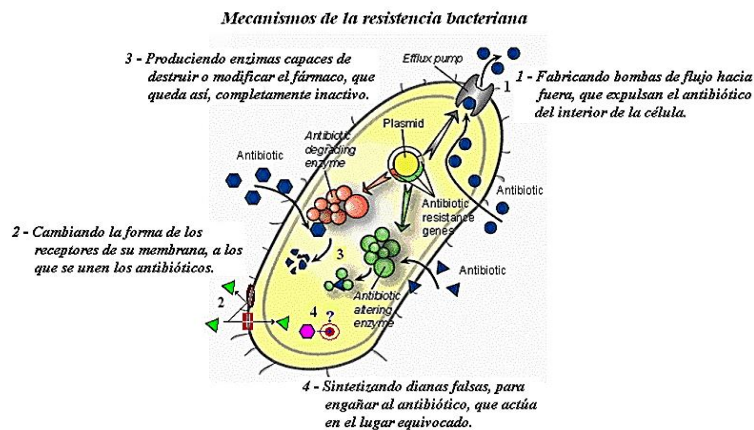
### **Mecanismos de resistencia bacteriana frente a los antibióticos**

La resistencia antimicrobiana es un problema continuo y en aumento. Los fenómenos de resistencia antimicrobiana son variados, destacando entre ellos cuatro mecanismos principales:

1. **Enzimas hidrolíticas:** Las bacterias sintetizan enzimas que hidrolizan al antimicrobiano, destruyendo su acción antibacteriana, sin tener posibilidad de actuar sobre el microorganismo.
2. **Modificación del sitio activo:** La modificación de un aminoácido genera un blanco diferente y así disminuye la afinidad de unión por el antimicrobiano.

**Modificación de PBP:** El PBP (penicillin binding protein) es un complejo enzimático que permite la síntesis del peptidoglucano, un compuesto de la pared celular en bacterias, principalmente en Grampositivas, si se produce mutación del sitio de unión al antimicrobiano como los betalactámicos, éstos no pueden actuar y se genera resistencia a ellos.<sup>(54)</sup>

3. **Disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antimicrobiano:** Cambios en el diámetro y/o número de porinas pueden bloquear el ingreso del antimicrobiano a la bacteria.
4. **Bombas de flujo:** Transporta al antimicrobiano hacia el exterior de la célula sin modificaciones, pero sin acción antimicrobiana. Existen bombas de eflujos multidrogas en la pared bacteriana que permiten la expulsión de drogas como los antimicrobianos. Estos genes explican la resistencia a macrólidos en estos patógenos y a fluoroquinolonas. Para combatir este tipo de resistencia se encuentran en estudio la asociación de inhibidores de bombas de flujo junto con el antimicrobiano (**Figura 5**).<sup>(55,56)</sup>



**Figura 5. Mecanismos de resistencia bacteriana.**

Fuente: Mecanismo de resistencia bacteriana.  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-48162009000200014](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-48162009000200014)

## METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

**Tipos de investigación:** Existen varios niveles que marcan la complejidad de los objetivos, y por tanto el tipo de investigación.<sup>(57)</sup> Este trabajo está integrado en un nivel de complejidad constituido por los tipos de investigación interactiva, confirmatoria y evaluativa. Fue confirmatoria ya que se intentó confirmar la relación entre la actividad antibacteriana frente a bacterias (Grampositivas y Gramnegativas) y el aceite obtenido de las partes aéreas de *Lasiocephalus ovatus* Schldl. Asteraceae.

**Diseño de la investigación:** Las estrategias para recolectar el dato constituyen el diseño de la investigación y están relacionadas con el dónde, cuándo y amplitud de la información que se recolecta.<sup>(57)</sup> En este contexto, el presente estudio tuvo un diseño de laboratorio ya que los datos se obtuvieron en el Laboratorio del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis-ULA y en los Laboratorios E300 y E302 de la Facultad de Ciencias de la salud-UNACH. También, fue contemporáneo pues los datos se recolectaron en el presente. Durante la investigación también se adoptó un diseño experimental-transversal. Fue experimental, pues la dilucidación de los eventos se logró en base a ensayos experimentales propiamente dichos, caracterizados por la manipulación de la variable independiente. Fue transversal, ya que el dato fue recolectado en un mismo periodo de tiempo.<sup>(58)</sup>

### **Población y muestra**

**Población:** La población es definida como el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones.<sup>(58)</sup> En esta investigación, dicho grupo estuvo representado por las plantas medicinales que crecen en Ecuador y que se venden en el Mercado San Alfonso

de la ciudad de Riobamba, así mismo bacterias Grampositivas y Gramnegativas de interés clínico.

**Muestra:** La muestra es un subgrupo de la población<sup>(58)</sup>. Se seleccionó la especie *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. (Asteraceae) de la cual un espécimen está almacenada en el Herbario GUAY, de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Además, la muestra estuvo representada por dos cepas Grampositivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) y dos Gramnegativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), que fueron usadas para el análisis y confirmación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie vegetal de la especie en estudio.

**Sistema de variables:** La interrogante de la investigación o enunciado holopráxico se presenta como una serie de conceptos. Los conceptos son abstracciones que representan fenómenos empíricos. Para que en la investigación se logre pasar de la etapa conceptual a la empírica, los conceptos deben convertirse en variables. Las variables son presentaciones de los conceptos de la investigación que deben expresarse en forma de hipótesis.<sup>(58)</sup> En esta investigación se formularon las siguientes variables: dependiente e independiente. La variable dependiente fue la actividad antibacteriana frente a bacterias Grampositivas y Gramnegativas. La variable independiente fue el aceite esencial de las partes aéreas de la especie vegetal *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. Asteraceae.

**Instrumento de recolección de datos:** El procedimiento para la recolección de información que se adapta al diseño del estudio es "La observación directa de los datos en el Laboratorio", descrita como aquella que nos pone en contacto con los hechos, fenómenos y situaciones en el momento que acontecen y permite la búsqueda deliberada de datos necesarios para desarrollar el proceso investigativo.<sup>(59)</sup>

## MATERIAL UTILIZADO EN EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

### **Material y equipos de laboratorio**

Los materiales y equipos empleados para la realización de los ensayos de actividad antibacteriana fueron los siguientes:

**Material:** Cajas mono Petri de vidrio estériles desechables y de vidrio, microplacas de 96 pozos, pipetas Pasteur, micropipetas automáticas (multicanal y monocanal de volúmenes ajustables) y puntas, matraces, tubos de ensayos con tapa de rosca, frascos de boca ancha, gradillas, mecheros, termómetro, medios de cultivo, solución salina fisiológica al 0,9%, agua destilada, cinta testigo para esterilizar; **Equipos:** campana de flujo laminar (marca HFsafe 900),



incubadora a 37°C (marca Memmert), agitador orbital (marca Stuart Scientific SO3), vortex (marca BenchMixer™), contador de colonias (marca Stuart®), balanza analítica (marca Adam Equipment), congelador a -20 °C (marca Mabe®), autoclave (marca Tuttnauer) (Anexo 1).

### **Material vegetal**

Las partes aéreas de la especie vegetal *Lasiocephalus ovatus* Schltld. fueron compradas en abril de 2017 en el Mercado San Alfonso de la ciudad de Riobamba a los expendedores de plantas medicinales que crecen en Ecuador (Anexo 2).

### **Aceite esencial de la especie vegetal *Lasiocephalus ovatus***

El aceite esencial fue obtenido a partir de 4.400 g de material vegetal fresco (partes aéreas de la planta) en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo.

### **Cepas bacterianas**

Las bacterias empleadas en este estudio fueron facilitadas por el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo y corresponden a cepas de la Colección de Cultivo Tipo Americano con sus siglas en inglés ATCC (American Type Culture Collection). El ensayo incluyó las bacterias Gramnegativas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y bacterias Grampositivas *Staphylococcus aureus* ATCC 85923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

### **Medios de cultivo**

Para la ejecución de los ensayos de actividad antibacteriana se emplearon medios de cultivo comerciales cuya preparación se realizó según las instrucciones del envase (Anexo 3), los cuales fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. La composición de cada uno de los medios empleados se muestra a continuación:

- Caldo nutritivo (CN), Nutrient Broth marca Difco™

COMPONENTE	CANTIDAD (g/L)
Extracto de carne de vaca	3,0
Peptona	5,0

- Caldo tripticasa soya (TSB), Tryptic Soy Broth marca Difco™

COMPONENTE	CANTIDAD (g/L)
Digerido pancreático de caseína	17,0
Digerido péptico de harina de soja	3,0
Glucosa (dextrosa)	2,5

Cloruro sódico	5,0
Fosfato dipotásico de hidrógeno	2,5

- Agar nutritivo (AN), Nutrient Agar marca Difco™

COMPONENTE	CANTIDAD (g/L)
Extracto de carne de vaca	3,0
Peptona	5,0
Agar	15,0

- Infusión cerebro corazón (BHI), Brain Heart Infusion marca Himedia

COMPONENTE	CANTIDAD (g/L)
Infusión de cerebro de ternero.	200,00
Infusión de corazón de ternera.	250,00
Proteína peptona	10,00
Glucosa (dextrosa)	2,00
Cloruro sódico	5,00
Fosfato disódico	2,50

## PROCEDIMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

### Identificación botánica de la especie *Lasiocephalus ovatus* Schldl.

La identificación botánica de la planta en estudio fue realizada por el Ing. Xavier Cornejo de la Facultad de Ciencias naturales, Universidad de Guayaquil, Ecuador.

### Extracción y aislamiento del aceite esencial

Para el aislamiento del aceite de la especie *Lasiocephalus ovatus* previamente se pesó el material fresco obteniéndose 4.400 g que fue troceado y licuado, seguido de la extracción que se realizó mediante el método de hidrodestilación, usando la trampa de Clevenger, durante 4 - 5 horas a una temperatura entre 60 y 70 °C. El aceite obtenido fue recuperado, secado con sulfato de sodio anhidro y almacenado en un vial sellado a 4°C en la oscuridad hasta que fue analizado y ensayado (Anexos 4 y 5).

### Determinación de la composición química del aceite esencial

La determinación de la composición química del aceite fue realizada por el Dr. Luis Rojas-Fermín de la Facultad de Ciencias en Venezuela. La detección se llevó a cabo mediante Cromatografía de Gases (GC) acoplada a Espectrometría de Masas (SM), para lo cual se empleó un cromatógrafo de gases marca Hewlet-Packard modelo 6898, con una columna capilar de fenilmetil-polisiloxano de 30 metros de largo por 0,25 mm (HP-5) que contiene un

detector de masa marca Hewlet-Packard modelo 5973 (Anexo 6). La identificación de los componentes se estableció usando la base de datos Wiley MS (6<sup>a</sup> Ed). Para el proceso de análisis se preparó una solución al 2% del aceite (20 µL de aceite y 1 mL de eterdietílico). Se inyectó de muestra. Se comenzó con una temperatura de 60 °C con un incremento de temperatura de 4 °C/min hasta llegar a 260 °C. La muestra (1,0 µL) fue inyectada con una relación de reparto de 1:100. Los constituyentes del aceite esencial fueron identificados por comparación de sus espectros de masa con espectros de referencia y también comparando sus índices de retención con los de compuestos auténticos o comparados con valores reportados en la literatura.<sup>(60)</sup>

### **Determinación de la actividad antibacteriana**

#### ***Preparación de la solución stock del aceite esencial***

La solución stock del aceite fue preparada en Dimetilsulfóxido (DMSO) a la concentración de 50.000 µg/mL (ppm) para lo cual se pesó 0,05 g de aceite y se añadió 1.000 µl de DMSO.

#### ***Mantenimiento y conservación de las bacterias***

Las bacterias fueron mantenidas en agar nutritivo, a excepción de *E. faecalis* que por sus exigencias metabólicas lo fue en agar cerebro corazón. Las placas fueron conservadas a 4 °C, llevándose a cabo resiembras periódicas. La conservación de las cepas durante largos periodos de tiempo se realizó por congelación (-20 °C), empleando una suspensión celular de glicerol al 15% (v/v).

#### ***Preparación del preinóculo***

La preparación del preinóculo consistió en sembrar de una a dos colonias de las distintas cepas bacterianas en estudio (crecidas en medio sólido), en aproximadamente 20 mL de caldo TSB para las bacterias *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 85923, y caldo BHI para *E. faecalis* ATCC 29212. Posteriormente el preinóculo se incubó a 37°C durante 18 horas en agitación orbital.

#### ***Preparación del inóculo***

El inóculo fue preparado a partir de diluciones seriadas del preinóculo (con un óptimo crecimiento tras 18 h de incubación) hasta alcanzar una concentración celular de  $1-5 \times 10^5$  u.f.c/mL para llevar a cabo los ensayos. Las diluciones seriadas fueron realizadas en solución salina al 0,9% y la última (inóculo) en medio CN para *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* o caldo BHI para *E. faecalis*. La concentración bacteriana del cultivo que se usó como inóculo

fue comprobada mediante el recuento de colonias crecidas sobre medio sólido (AN o agar BHI según la bacteria) en placas de Petri.

***Actividad antibacteriana: determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB)***

La detección de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* frente a cada una de las cepas bacterianas se realizó mediante la determinación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) y Concentraciones Mínimas Bactericidas (CMB) usando el método de microdilución en medio líquido en placas de 96 pocillos.<sup>(61)</sup> El aceite se ensayó a una concentración máxima de 6.400 µg/mL.

Se depositaron 200 µL de cada producto en medio de cultivo (caldo nutritivo o BHI en el caso de las bacterias y Sabouraud para la levadura) a doble concentración de la requerida para el ensayo en los pocillos de la columna 2 y 100 µL de medio en los restantes, para llevar a cabo diluciones seriadas a mitades. Estas placas fueron inoculadas con 100 µL de una suspensión del microorganismo a ensayar, realizada a partir de pre-inóculos preparados como se indicó anteriormente, de modo que quedara a una densidad celular inicial de  $1-5 \times 10^5$  u.f.c./mL. Cada ensayo fue realizado por duplicado y como control positivo se inocularon pocillos en las mismas condiciones pero carentes de producto y con DMSO a una concentración equivalente a la máxima utilizada en los cultivos problemas, en ningún caso la concentración de DMSO superó la máxima tolerable por cada bacteria<sup>(62)</sup>. El control negativo (blanco control), se preparó añadiendo 200 µL de medio a los pocillos de la columna 1.

Tras 24 horas de incubación a 37 °C en agitación orbital se observó la turbidez de los cultivos. De aquellos pocillos en los que no se observó crecimiento visible, se tomaron alícuotas (100 µL) para efectuar un recuento de bacterias viables en placas de agar nutritivo o BHI con el fin de establecer la CMI (mínima concentración de producto a la cual no hubo crecimiento) y CMB (mínima concentración de producto que produjo la muerte del 99,9% de la población inicial).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación botánica de la especie *Lasiocephalus ovatus* Schltl.

Un espécimen de la planta *Lasiocephalus ovatus* Schltl. identificada botánicamente por el Ing. Xavier Cornejo fue depositado con el número de colección 024A en el herbario GUAY, Facultad de Ciencias naturales, Universidad de Guayaquil, Ecuador (Anexo 7).

### Rendimiento del aceite esencial

Partiendo de 4.400 g de hojas frescas de *L. ovatus* usando la técnica de hidrodestilación con la trampa de Clevenger se extrajo 2,2 mL de aceite obteniéndose un rendimiento de 0,05%. No existen reportes en la bibliografía acerca del rendimiento de aceite de esta especie, sin embargo, rendimientos similares se han obtenido del proceso de extracción del aceite esencial de otra especie del género *Lasiocephalus*, en este sentido Rondón *et al.*, en 2005 reportan que las partes de *L. longepenicillatus* en enero de 2004 (temporada seca) y la misma especie, recolectada en el mismo lugar en julio de 2004 (estación lluviosa) produjeron 1 mL de aceite (0,06%) y 0,8 mL de aceite (0,05%), respectivamente.<sup>(62)</sup>

### Composición química del aceite esencial

El aceite esencial fue analizado por Cromatografía de Gases (GC) y Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS). El total de los compuestos (31) fueron caracterizados por comparación de cada MS con datos de la Librería Wiley GC/MS y también de sus índices de retención. En la **Tabla 3** se muestra el porcentaje de los componentes más abundantes de aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltl. detectados, siendo el mayoritario el camphor (40,48%) seguido de 5,5-dimetil-2-etil-1,3-ciclopentadieno (11,90%), *para*-menta-1,5-dien-8-ol (5,23%) y 1,6-dimetilhepta-1,3,5-trieno (4,69%).

Las investigaciones sobre la composición de aceites esenciales de especies del género *Lasiocephalus* son escasas, en este sentido un estudio realizado por De Bernardi *et al.*, en 1990 indicó la presencia de los compuestos  $\beta$ -patchouleno,  $\beta$ -cariofileno y humuleno en el aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus*, siendo el único estudiado en esta especie<sup>(63)</sup>. Por otra parte,  $\alpha$ -pineno, mirceno, n-decanal, 1-trideceno, carvacrol, (-)- $\alpha$ -gurjuneno,  $\beta$ -bourboneno,  $\gamma$ g-curcumeno, germecreno D y trans- $\beta$ -farneseno fueron reportados en la especie *L. longepenicillatus*.<sup>(62)</sup>

Los componentes de los aceites volátiles pueden variar según el clima, tipo y manejo de suelo, luz solar, temperatura y humedad de diferentes ecosistemas.<sup>(64)</sup>

Estudios del extracto hexánico de los tallos de la planta entre los compuestos que conforma se aislaron (9) compuestos como furano eremofilanos raros,  $\beta$  sitosterol, amirina, y  $\alpha$  amirenona, fueron elucidadas por IR, UV, MS.<sup>(65)</sup> Por otra parte, las hojas de *C. reflexum* H.B.K. (sinónimo de *L. ovatus* Schldl.)<sup>(15)</sup> se utilizan en forma de decocción como un remedio depurativo y diurético en la medicina popular local, y por vía tópica para el tratamiento de algunas afecciones inflamatorias de la piel. En una investigación en la que se evaluaron las actividades anti-oxidantes *in vitro* y fotoprotector *in vivo* de un extracto etanólico de las hojas de *Culcitium reflexum* H.B.K. se reportó la presencia de una gran cantidad de compuestos fenólicos, especialmente flavonoles. Los principales constituyentes identificados fueron kaempferol, quercetina y sus derivados glucosilados y algunos derivados de ácido cinámico. El extracto etanólico de *C. reflexum* posee un fuerte efecto antioxidante o de barrido de radicales libres. La aplicación tópica de extracto de *C. reflexum* en forma de gel ha demostrado ser una protección *in vivo* significativa contra el eritema de la piel inducido por UVB en voluntarios humanos sanos.<sup>(15)</sup>

**Tabla 3. Componentes mayoritarios y minoritarios del *Lasiocephalus ovatus* Schldl.**

Compuestos	%
<b>5,5-dimethyl-2-ethyl-1,3-cyclopentadiene</b>	<b>11,90</b>
1,2,5,5-tetramethyl- 1,3-cyclopentadiene	1,42
<i>alfa</i> -thujene	1,26
<i>alfa</i> -pinene	1,90
thuja-2,4(10)-diene	0,44
camphene	4,53
thuja-2,4(10)-diene	0,53
<b>1,6-dimethylhepta-1,3,5-triene</b>	<b>4,69</b>
<i>ortho</i> -Cymene	1,90
limonene	0,67
<i>gamma</i> -terpinene	0,72
linalool	1,01
filifolone	0,97
isophorone	0,45
chrysanthenone	1,33
<b>camphor</b>	<b>40,48</b>
<i>cis</i> -chrysanthenol	0,47
<b><i>para</i>-mentha-1,5-dien-8-ol</b>	<b>5,23</b>
terpinen-4-ol	1,35
<i>para</i> -cymen-8-ol	1,33

shisofuran		0,59
<i>cis</i> -chrysanthenyl acetate		1,01
isobornyl acetate		4,24
myrtenyl acetate		0,54
<i>trans</i> -myrtanol acetate		0,46
<i>E</i> -caryophyllene		0,62
( <i>Z</i> )- <i>beta</i> -farnesene		1,65
isobornyl isovalerate		0,54
Bornyl angelate		3,57
caryophyllene oxide		0,90
intermedeol		0,69
<b>Total de componentes identificados</b>	<b>31</b>	<b>97,39 %</b>

Los terpenos son una clase de sustancias químicas que se hallan en los aceites esenciales, resinas y otras sustancias aromáticas de muchas plantas, como los pinos y muchos cítricos. En los aceites esenciales se encuentran principalmente monoterpenos (C10), aunque también son comunes los sesquiterpenos (C15) y los diterpenos (C20). Pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos. Según los grupos funcionales que tengan pueden ser: Alcoholes (mentol, bisabolol) y fenoles (timol, carvacrol), aldehídos (geranial, citral) y cetonas (alcanfor, thuyona), ésteres (acetato de bornilo, acetato de linalilo, salicilato de metilo, compuesto antiinflamatorio parecido a la aspirina), éteres (1,8-cineol) y peróxidos (ascaridol), hidrocarburos (limoneno,  $\alpha$  y  $\beta$  pineno).<sup>(37)</sup>

Uno de los principales mecanismos de acción propuestos para los terpenoides, consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana, mediante tres posibles vías: aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos efectos produce la muerte en la célula bacteriana.<sup>(66)</sup>

### **Actividad antibacteriana del aceite esencial**

La actividad antibacteriana del aceite esencial fue evaluada frente a cuatro importantes cepas bacterianas Gram positivas y Gramnegativas de interés clínico, mediante el método de microdilución en caldo, como se indicó en la metodología.

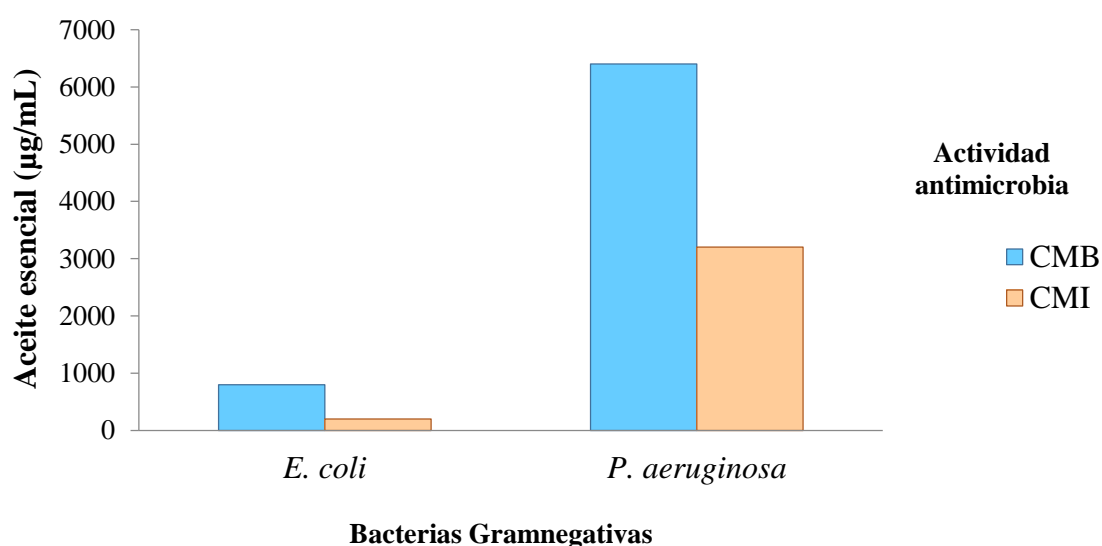
Como puede observarse en la **Tabla 4** y **Gráfico 1**, el aceite de *L. ovatus* mostró actividad antimicrobiana frente a las bacterias Gram negativas ensayadas *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, inhibiendo en mayor proporción el crecimiento de *E. coli* con CMI

de 200-400 µg/mL y CMB de 800 µg/mL, ya que la CMI y CMB detectada frente a *P. aeruginosa* fue 3200-6400 µg/mL y 3200-6400 µg/mL, respectivamente.

**Tabla 4. Concentración Mínima Bactericida (CMB) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. frente a *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853.**

BACTERIAS GRAM NEGATIVA	ACEITE ESENCIAL (µg/mL)	
	CMB	CMI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	800	200-400
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6400	3200-6400

**Grafico 1. Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial *L. ovatus* Schltdl. frente a *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853.**



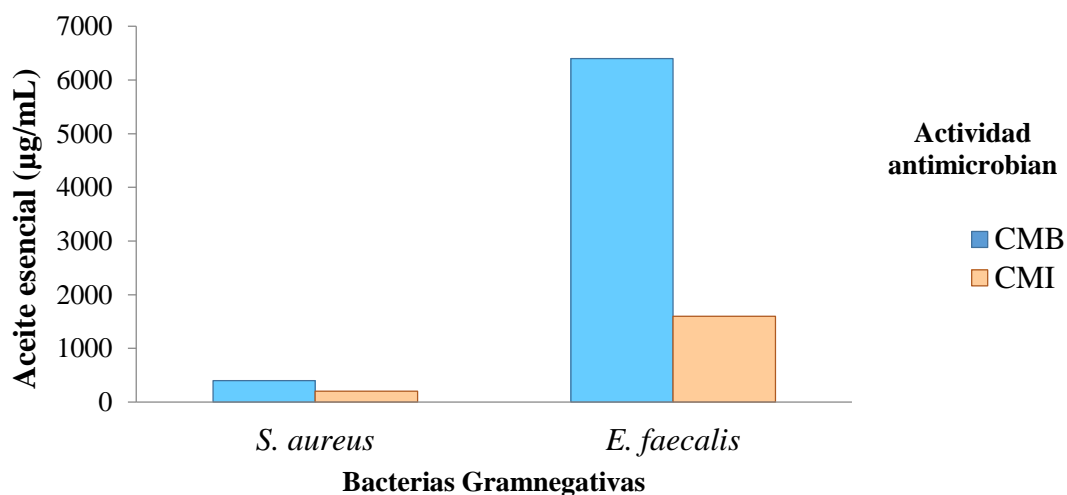
De la misma manera la actividad antibacteriana del aceite esencial fue evaluado frente a cepas Grampositivas. En la **Tabla 5** y **Gráfico 2** se evidencian las CMIs y CMBs que mostró el aceite frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y se puede apreciar que la actividad inhibitoria que mostró el aceite sobre el crecimiento de *S. aureus* fue superior (CMI 200-400 µg/mL y CMB 400 µg/mL) a la encontrada sobre la proliferación bacteriana de *E. faecalis* (CMI 1600-3200 µg/mL y CMB 6400 µg/mL).



**Tabla 5. Concentración Mínima Bactericida (CMB) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial *Lasiocephalus ovatus* Schltdl frente a *S. aureus* ATCC 25923 y *E. faecalis* ATCC 29212.**

BACTERIAS GRAM POSITIVAS	ACEITE ESENCIAL (µg/mL)	
	CMB	CMI
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	400	200-400
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	6400	1600-3200

**Grafico 2: Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial *L. ovatus* Schltdl. frente a *S. aureus* ATCC 25923 y *E. faecalis* ATCC 29212.**



Algunos autores consideran la actividad antimicrobiana alta cuando los valores de CMI son inferiores a 100 µg/mL, moderada de 100 a 500 µg/mL, débil de 500 a 1000 µg/mL, o ninguna cuando es superior a 1000 µg/mL.<sup>(67)</sup>

La actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. evidenciada en esta investigación puede deberse a la presencia de algún constituyente mayoritario o a la acción sinérgica de sus principales constituyentes; el camphor (alcanfor) fue el componente mayoritario encontrado en el análisis de este aceite. El camphor es una sustancia blanca, cristalina, con un fuerte olor y sabor picante, derivada de la madera del alcanfor (*Cinnamomum camphora*) y otros árboles relacionados de la familia del laurel. El árbol del alcanfor es nativo de China, India, Mongolia, Japón y Taiwán, existen muchas aplicaciones farmacéuticas para el alcanfor tales como analgésicos tópicos, antisépticos, antiespasmódicos, antipruriginosos, antiinflamatorios, antiinfecciosos, rubefacientes, anticonceptivos,

expectorantes leves, descongestionantes nasales, supresores de la tos, etc. Se absorbe fácilmente a través de la piel y también se puede administrar por inyección, inhalación e ingestión. También tiene propiedades mucolítico, regenerador celular, neurotóxico.<sup>(68,37)</sup>

Según la revisión bibliográfica realizada, este es el primer estudio que muestra la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. de Ecuador. Con estos resultados, esperamos contribuir al estudio de especies del género *Lasiocephalus* de Ecuador, de los cuales muchos se utilizan desde la antigüedad por la población ecuatoriana; por lo que se sugiere ampliar el estudio de la actividad antimicrobiana del aceite esencial frente a otros agentes patógenos con el fin de conocer su espectro de acción. De este modo ayudar para tratar, guiar, promover la investigación y desarrollo (I+D) de nuevos antibióticos, como menciona la OMS para combatir el creciente problema mundial de la resistencia a los antimicrobianos.<sup>(23)</sup>

Según la bibliografía consultada, este es el primer estudio que muestra la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltdl. de Ecuador.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

1. Se obtuvo la ficha de la identificación botánica la especie vegetal como *Lasiocephalus ovatus* Schltld. Un espécimen el número de colección (024 A), las cuales fueron depositadas en el herbario GUAY, de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Ecuador.
2. Se realizó la extracción del aceite esencial de la especie vegetal en estudio mediante la técnica de Hidrodestilación, obteniéndose un rendimiento de 0,05% *Lasiocephalus ovatus* Schltld. El aceite fue obtenido en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
3. Se analizó la composición química del aceite esencial mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, lo cual fue en el Instituto de Investigación; Grupo de Productos Naturales y Química Medicinal, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Los componentes principales del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltld. identificados fueron el camphor (40,48%); 5,5-dimetil-2-etil-1,3-ciclopentadieno (11,90 %) y *para*-mentha-1,5-dien-8-ol (5,23 %), entre otros en un total de 31 compuestos.
4. Se determinó la actividad antibacteriana del aceite esencial y se determinó la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus faecalis* el efecto del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* Schltld (Arquitectura) presenta una actividad inhibitoria moderada sobre el crecimiento para las cuatro bacterias, de este modo inhibiendo en mayor proporción el crecimiento de *E. coli* y *S aureus*, con CMIs de 200-400 µg/mL. La inhibición bacteriana mostrada frente a *E. faecalis* y *P. aeruginosa* fue menor, con CMIs de 1600-3200 µg/mL y 3200-6400 µg/mL, respectivamente.

## **Recomendaciones**

1. Al momento de congelar y descongelar las cepas bacterianas es importante una adecuada manipulación.
2. Una adecuada esterilidad al manipular cepas bacterianas evita contaminación.
3. Para obtener resultados exactos es necesario realizar la reproducibilidad de los ensayos, lo que permitirá descartar algunos errores sistemáticos y evitar resultados falsos positivos o negativos.
4. Se recomienda realizar no solo otros ensayos de actividad antimicrobiana frente a una amplia gama de bacterias y hongos de interés clínico sino realizar estudios de otras propiedades para detectar el potencial biológico del aceite de la especie vegetal en estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gayathiri K, Sangeetha M, Sharanya VK, Prakash GS, Vimalavathini R, Sudheer JG, Kumar SKA. Review: Potential pharmacological uses of natural products from Laminaceae. *Int J Pharma Res Rev* [Internet]. 2016 Abr [2016 Jun 12; citado 2017 Jun 04];5(5):21-34. Disponible en: <https://www.ijpr.in/Data/Archives/2016/may/0604201601.pdf>
2. Dias DA, Urban S, Roessner U. A Historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites* [Internet]. 2012 Abr [2012 Mar 31; citado 2017 Jun 04];2(2):303-336. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2218-1989/2/2/303/htm> Nota [Doi: 10.3390/metabo2020303].
3. Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D, Vardar-Unlu G, Sokmen A. 2004: Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chemistry* [Internet]. 2013 Feb [2013 Feb 19; citado 2017 Jun 05];84(4):519–525. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/223460813\\_Antimicrobial\\_and\\_antioxidative\\_activities\\_of\\_the\\_essential\\_oils\\_and\\_methanol\\_extract\\_of\\_Salvia\\_cryptantha\\_Montbret\\_et\\_Aucher\\_ex\\_Benth\\_and\\_Salvia\\_multicaulis\\_Vahl](https://www.researchgate.net/publication/223460813_Antimicrobial_and_antioxidative_activities_of_the_essential_oils_and_methanol_extract_of_Salvia_cryptantha_Montbret_et_Aucher_ex_Benth_and_Salvia_multicaulis_Vahl)
4. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - a review. *Food and Chemical Toxicology* [Internet]. 2007 Sep [2008 Feb 29; citado 2017 Jun 05];46(2):446–475. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541>. Nota [Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>].
5. Mišić D, Žižović I, Stamenić M, Ašanin R, Ristić M, Petrović SD, Skala D. 2008: Antimicrobial activity of celery fruit isolates and SFE proces modeling. *Biochem Eng J* [Internet]. 2008 Jun [2008 Nov 1; citado 2017 Jun 07];42(2):148–152. Disponible en: [http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46454858/j.bej.2008.06.00820160613-23531-1n7uu28.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1501121846&Signature=gPOI07VdBhelZtYRsSbwvwr6n1c%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DAntimicrobial\\_activity\\_of\\_celery\\_fruit\\_i.pdf](http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46454858/j.bej.2008.06.00820160613-23531-1n7uu28.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1501121846&Signature=gPOI07VdBhelZtYRsSbwvwr6n1c%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DAntimicrobial_activity_of_celery_fruit_i.pdf) Nota [Doi: 10.1016/j.bej.2008.06.008].

6. Hinneburg I, Dorman HJD, Hiltunen R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry [Internet]. 2005 Ene [2005 Mar 16; citado 2017 Jun 07];97(2006):122-129 Disponible en: <https://wenku.baidu.com/view/da633428a216147917112892.html>
7. Gragg GM, Newman DJ. Natural Products: A continuing source of novel drug leads. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) [Internet]. 2008 Feb [2013 Feb 18; citado 2017 Jun 08];1830(6):3670-3695. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23428572>. Nota [Doi: 10.1016].
8. Vallespi RMC, Morales MDLAF, García CL, Torralba MP, Gutiérrez DSM. Química bioorgánica y productos naturales [Internet]. 2017 Jun. Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia. 2013 [citado 2017 Jun 08]. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=wUdGAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Qu%C3%ADmica+bioorg%C3%A1nica+y+productos+naturales.+Universidad+Nacional+de+Educaci%C3%B3n+a+Distancia+&ots=9dskI6nz2I&sig=A0d9fb8gq47Ww-MNRe7l6-HzTQg#v=onepage&q=Qu%C3%ADmica%20bioorg%C3%A1nica%20y%20productos%20naturales.%20Universidad%20Nacional%20de%20Educaci%C3%B3n%20a%20Distancia&f=false>
9. Mendonça-Filho RR. Bioactive phytochemicals: new approaches in the phytosciences [Internet]. Edición 1. 2006. [revisado 2010 Nov 18; citado 2017 Mar 11]. Disponible en: [http://www.survivalusa.com/docs/firstaid/Wiley - Modern Phytomedicine - Medicine From Plants.pdf](http://www.survivalusa.com/docs/firstaid/Wiley_-_Modern_Phytomedicine_-_Medicine_From_Plants.pdf)
10. Croteau R, Kutcahn TM, Lewis NG. Natural products (Secondary Metabolites) [Internet]. Edición 17. Royal Society of Chemistry; 2000 [revisado 2012 Oct 17; citado 2017 Mar 11]. Disponible en: <http://www.science.lecture.ub.ac.id/files/2012/04/plant-biosynthesis1.pdf>
11. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. J. Food Microbiol [Internet]. 2004 Ag 01 [revisado 2004 Jun 07; citado 2017 Mar 11];94(3):223-53. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001680>
12. Christaki E, Bonos E, Giannenas I, Florou-Paneri P. Aromatic plants as a source of bioactive compounds. Multidisciplinary Digital Publishing Institute [Internet]. 2012 Sep 20 [revisado 2012 Ags 29; citado 2017 Jul 09];2(3):228-43. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2077-0472/2/3/228>. Notas doi:10.3390/agriculture2030228.

13. The Plant List. The Plant List [Internet]. [citado 2017 Julio 10]. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Lasiocephalus>
14. Silva-Moure K, Torrecilla P, Lapp M. Taxonomía de *Lasiocephalus* willd. ex schldl. (asteraceae) en Venezuela. *Ernstia* [Internet]. 2014 Dic [actualización 2014 Feb 13; citado 2017 Jul 11];23(2):91-116. Disponible en: <http://www.revistaernstia.org.ve/index.php/ernstia/article/view/69>
15. Aquino R, Morelli S, Tomaino A, Pellegrino M, Saija A, Grumetto L, Bonina F. Antioxidant and photoprotective activity of a crude extract of *Culcitium reflexum* H.B.K. leaves and their major flavonoids. *J Intercult Ethnopharmacol*, [Internet]. 2002 Feb [citado 2017 Jul 12] 79(2):183–19. Disponible en: [http://www.academia.edu/28759883/Antioxidant\\_and\\_photoprotective\\_activity\\_of\\_a\\_crude\\_extract\\_of\\_Culcitium\\_reflexum\\_H.B.K.\\_leaves\\_and\\_their\\_major\\_flavonoids](http://www.academia.edu/28759883/Antioxidant_and_photoprotective_activity_of_a_crude_extract_of_Culcitium_reflexum_H.B.K._leaves_and_their_major_flavonoids). Notas [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00379-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00379-8).
16. Cerón C. Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos. *Botánica Económica de los Andes Centrales* [Internet]. 2006 [citado 2017 Julio 10];285-93. Disponible en: <http://docplayer.es/21058895-Carlos-e-ceron-martinez.html>
17. Ruales C, Guevara JE. La flora patrimonial de Quito descubierta por la expedición de Humboldt y Bonpland en el año 1802. *Avances en ciencias e ingenierías* [Internet]. 2010 Ags 12 [actualizado 201 Ags 25; citado 2017 Jun 10];2(3):B54-B63. Disponible en: <http://www.usfq.edu.ec/avances/articulos/B54-2-3-2010>.
18. White A. Hierbas del Ecuador: plantas medicinales. [Internet]. Quito: Editor Libro Mundi; 1982 [actualización 1985; citado 2017 Jun 11]. Disponible en: <http://www.worldcat.org/title/hierbas-del-ecuador-plantas-medicinales-herbs-of-ecuador-medicinal-plants/oclc/15724800?referer=di&ht=edition>
19. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, AlMazroa MA. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* [Internet]. 2012 Dic 15 [2013 Ene 04; citado 2017 Jun 11];380(9859): 2095-2128. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673612617280>
20. Genevieve L, Pagalilauan MD, Ajit P, Limaye MD. Infections in transplant patients. *Med. Clin. North. Am.* [Internet]. 2013 Jul [citado 2017 Jun 11];97(4):581–600. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025712513000436> Nota <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2013.03.002>.

21. World Health Organization. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Edición OMS. Editor OMS; 2016 Sep 29 [citado 2017 May 5]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
22. World Health Organization. El primer informe mundial de la Organización Mundial de la salud (OMS) sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo [Internet]. Edición OMS. Editor OMS; 2014 Oct 03 [citado 2017 May 5]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
23. World Health Organization. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. Edición OMS. Editor OMS; 2017 Feb 27 [citado 2017 May 5]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
24. Switzerland G. Estrategia de Cooperación de país, de la OPS/OMS en Ecuador, periodo 2010-2014. Organización Mundial de la salud (OMS) [Internet] 2009 Sep [citado 2017 Jul 5]. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/165671/1/ccs\\_ecu\\_es.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/165671/1/ccs_ecu_es.pdf)
25. Guzmán-Blanco M, Labarca JA, Villegas MV, Gotuzzo E. Extended spectrum  $\beta$ -lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. Braz J Infect Dis [Internet]. 2014 Ags [citado 2017 Jul 15];18(4):421-433. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-86702014000400421&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-86702014000400421&script=sci_abstract).
26. Pallmay B. Perfil de resistencia bacteriana a infección de vías urinarias en pacientes embarazadas atendidas en el servicio de ginecología y obstetricia del Hospital Provincial General Docente Riobamba. Período enero 2010 – diciembre 2011 [tesis médico general Internet]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo; 2012 [citado 2017 Julio 12]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/120/1/UNACH-EC-MEDI-2013-0016.pdf.pdf>
27. Acuña LG. Evolución de la terapia antimicrobiana: lo que era, lo que es y lo que será. Rev Chilena Infectol [Internet]. 2003 [actualización 2009 Ags 03; citado 2017 Jul 12];20(1):S7 – S10. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v20s1/art01.pdf>.
28. Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Rev Med Chile Supl [Internet]. 2010 Oct [citado 2017 Jul 12];138(10):1288-1293. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872010001100014](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100014)



29. Mustafa G, Arif R, Atta A, Sharif S, Jamil A. Bioactive compounds from medicinal plants and their importance in drug discovery in Pakistan. *Matrix Sci. Pharma* [Internet]. 20107 Feb [actualizado 2014 Abr 09; citado 2017 Jul 12];1(1):17-26. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Ghulam\\_Mustafa22/publication/315832271\\_Bioactive\\_Compounds\\_from\\_Medicinal\\_Plants\\_and\\_Their\\_Importance\\_in\\_Drug\\_Discovery\\_in\\_Pakistan/links/58ea5a9caca2729d8cd598c6/Bioactive-Compounds-from-Medicinal-Plants-and-Their-Importance-in-Drug-Discovery-in-Pakistan.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ghulam_Mustafa22/publication/315832271_Bioactive_Compounds_from_Medicinal_Plants_and_Their_Importance_in_Drug_Discovery_in_Pakistan/links/58ea5a9caca2729d8cd598c6/Bioactive-Compounds-from-Medicinal-Plants-and-Their-Importance-in-Drug-Discovery-in-Pakistan.pdf)
30. Domingo D, Lopez-brea M. Plantas con acción antimicrobiana. *Rev Esp Quimioter* [Internet]. 2003 Ene 01 [citado 2017 Julio 12];16(4):392. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/28066457\\_Plantas\\_con\\_accion\\_antimicrobiana](https://www.researchgate.net/publication/28066457_Plantas_con_accion_antimicrobiana)
31. Calvo J, Martinez-Martinez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. [Internet]. 2009 Ene [citado 2017 Julio 12];27(1):44-52. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X08000177>  
Nota doi:10.1016/j.eimc.2008.11.001.
32. Fernández JL, Chacón MI. Especies vegetales aromáticas de la Provincia de Sumapaz y la cuenca del río Chicamocha en Colombia [Internet]. Edición 1. Bogotá: Editor Cruz Helena Torres León; 2012 Feb [actualizado 2016 May 17; citado 2017 Julio]. Disponible en: <http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/pubinv/JLF/2012%20EspVegAromaSumChiColom2012re.pdf>
33. Velázquez C, Cornejo P, Volkow P. Resistencia bacteriana de cultivos de orina en un hospital oncológico: seguimiento a diez años. *Salud Pública Mex* [Internet]. 2016 Ago [citado 2017 Jul 16];58(4):446-452. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342016000400446](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342016000400446)
34. Minga D, Ansaloni R, Verdugo A, Ulloa C. Flora del páramo de cajas [Internet]. Edición 1. Ecuador-Cuenca: Editor Imprenta Don Bosco; 2016 Jul 01 [citado 2017 Julio 13]; 1(1):29–38. Disponible en: [http://www.missouribotanicalgarden.org/Portals/0/staff/PDFs/ulloa/FloraParamoCajas\\_Libro.pdf](http://www.missouribotanicalgarden.org/Portals/0/staff/PDFs/ulloa/FloraParamoCajas_Libro.pdf)
35. Imbaquingo Burgos A. Caracterización de plantas útiles, uso, comercio y conservación, en la ciudad de Ibarra y propuesta de manejo sustentable [Internet]. Edición 1. Ibarra: Aida Elizabeth Imbaquingo Burgos; 2012 [citado 2017 Jul18]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2585/1/03%20RNR%20151%20TESIS.pdf>

36. Can Baser H, Buchbauer G. Handbook of essential oils science, technology, and applications. [Internet]. Edición 2. New York: editor CRC Press Book; 2016 [citado 2017 Jul 18]. Disponible en:  
<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=JXe9CgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Handbook+of+essential+oils+science,+technology,+and+applications&ots=kuO9c45sts&sig=CSAiTrHGQB1AbQxoGTKkXdXHoVA#v=onepage&q=Handbook%20of%20essential%20oils%20science%2C%20technology%2C%20and%20applications&f=false>
37. Arizpe M, Arizpe P. Tu Zona [Internet]. 1ra ed. Estados Unidos de Norteamérica: Balboa Press; 2012 [revisado 2012 Nov 10; citado 2017 July 5]. Disponible en:  
[https://books.google.com.ec/books?id=H7d6LiPMz4oC&pg=PT228&lpg=PT228&dq=Son+mezclas+de+varias+sustancias+qu%C3%ADmicas+biosintetizadas+por+las+plantas,+que+dan+el+aroma+caracter%C3%ADstico+a+algunas+flores,+%C3%A1rboles,+frutos,+hierbas,+especies,+semillas+y+a+ciertos+extractos+de+origen+animal.+Se+trata+de+productos+qu%C3%ADmicos+intensamente+arom%C3%A1ticos,+no+grasos+\(por+lo+que+no+se+enrancian\),+vol%C3%A1tiles+por+naturaleza+\(se+evaporan+r%C3%A1pidamente\)+y+livianos.+Las+plantas+elaboran+estos+aceites+con+el+fin+de+protegerse+de+las+enfermedades,+ahuyentar+insectos+depredadores+o+atraer+insectos+ben%C3%A9ficos+que+contribuyen+a+la+polinizaci%C3%B3n.&source=bl&ots=tLNHlrx8cr&sig=Dc9fCNG4xr5ciP6ihlRenPA8M3s&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjAqaGprfPUAhUIPiYKHQYwA-AQ6AEINTAE#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=H7d6LiPMz4oC&pg=PT228&lpg=PT228&dq=Son+mezclas+de+varias+sustancias+qu%C3%ADmicas+biosintetizadas+por+las+plantas,+que+dan+el+aroma+caracter%C3%ADstico+a+algunas+flores,+%C3%A1rboles,+frutos,+hierbas,+especies,+semillas+y+a+ciertos+extractos+de+origen+animal.+Se+trata+de+productos+qu%C3%ADmicos+intensamente+arom%C3%A1ticos,+no+grasos+(por+lo+que+no+se+enrancian),+vol%C3%A1tiles+por+naturaleza+(se+evaporan+r%C3%A1pidamente)+y+livianos.+Las+plantas+elaboran+estos+aceites+con+el+fin+de+protegerse+de+las+enfermedades,+ahuyentar+insectos+depredadores+o+atraer+insectos+ben%C3%A9ficos+que+contribuyen+a+la+polinizaci%C3%B3n.&source=bl&ots=tLNHlrx8cr&sig=Dc9fCNG4xr5ciP6ihlRenPA8M3s&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjAqaGprfPUAhUIPiYKHQYwA-AQ6AEINTAE#v=onepage&q&f=false)
38. Arraiza M. Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales [Internet]. 1er ed. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid; 2010 [revisado 2010 Mar 30; citado 2017 Jul 5]. Disponible en: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf>
39. Rojas J, Perea A, Stashenko E. Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos. Revista de la facultad de química farmacéutica [Internet]. 2008 Nov [Actualizado 2009; citado 2017 Jul 21];16(1):110-115. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a13.pdf>
40. Asquino N, García M, Mayol M, Andrade E, Bueno L. Aceites Esenciales: Una opción quimioterapéutica en Periodoncia [Internet]. Universidad de la República Uruguay. 2016 Nov [Recibido 2015 Sep 19; citado 2017 Jul 20];18(28):4-10. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v18n28/v18n28a02.pdf>

41. Lucana M, Huanca R. Estructura bacteriana. Revista de Actualización Clínica [Internet]. 2014 [actualizado 2015 Feb 02; citado 2017 Jul 20];49:2589-2593. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/raci/v49/v49\\_a01.pdf](http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/raci/v49/v49_a01.pdf)
42. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus* [Internet]. 1st ed. México D.F: Medigraphic.com; 2014 Feb [Recibido 2014 Ene 17; citado 2017 Jul 5]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
43. Dos A, Oliveira D, Freitas C, et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [Internet]. 2007 Dic [actualización 2008 Mar 11; citado 2017 Jul 23];43(6):413-423. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S167624442007000600005&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167624442007000600005&lng=en)
44. Vinasco M, López M. Scribd Inc [Internet]. 1ra ed. Pasto: Universidad Nacional Abierta y a Distancia-UNAD; 2011 Ene [citado 2017 Jul 23]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/114801559/Modulo-Microbiologia-en-PDF-1>
45. Bitstream [Internet]. 1ra pb: Universidad Central del Ecuador: Aguirre N. 2015 Abr [actualización 2016 Ene 14; citado 2017 Jul 23]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/3755/1/T-UCE-0015-117.pdf>
46. Ryan K, Ray C, et al. Microbiología médica [Internet]. 5ta ed. México: McGraw-Hill Education; 2011 [actualización 2017 Jul 24; citado 2017 Jul 24]. Disponible en: <https://docs.google.com/file/d/0B3LwG0yL873sMVY4WThHQi10dlE/edit>
47. Manassero N, Navarro M, Rocchi M, di Bella H, Gasparotto A, Ocaña A, et al. Análisis de 117 episodios de bacteriemia por enterococo: estudio de la epidemiología, microbiología y sensibilidad a los antimicrobianos. Revista Argentina de Microbiología [Internet]. 2016 Agos [actualización 2016 Dic 27; citado 2017 Jul 24];48(4):298-302. Disponible en: [http://ac.els-cdn.com/S0325754116300426/1-s2.0-S0325754116300426-main.pdf?\\_tid=49bb55b8-70ac-11e7-b2be-00000aab0f26&acdnat=1500927273\\_49d4ee56b67d8e6835587632689ffb5c](http://ac.els-cdn.com/S0325754116300426/1-s2.0-S0325754116300426-main.pdf?_tid=49bb55b8-70ac-11e7-b2be-00000aab0f26&acdnat=1500927273_49d4ee56b67d8e6835587632689ffb5c)
48. Morillo E. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de flacourtia indica (Burm. F.) Flacourtiaceae: [Tesis de Licenciada en bioanálisis]. Mérida: Universidad de los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis; 2016.
49. Luján DA. Pseudomonas aeruginosa: un adversario peligroso. Scientific Electronic Library Online [Internet]. 2014 Dic [actualización 2016 Abr 3; citado 2017 Jul 5];

- 48(4):465-74. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572014000400009](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000400009)
50. Moyano Zúñiga L. Terapia antibiótica en el tratamiento de las células bacterianas [tesis odontólogo en Internet]. Guayaquil: Universidad Estatal de Guayaquil; Facultad Piloto de Odontología; 2012. [citado 5 Jul 2017]. Disponible en:  
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2883/1/tesis%20luis%20moyano.pdf>
51. Molina J. Terapéutica [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM); 2015 May 16 [citado 2017 Jul 6]. Disponible en:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/terapeutica.html>
52. Paredes R, Roca J. Acción de los antibióticos: Perspectiva de la medicación antimicrobiana. Farmacología. Elsevier [Internet]. 2004 [actualización 2007 Jul 13; citado 2017 Jul 24];23(3):116-118. Disponible en:  
<http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/0/1660/28/1v0n1660a13108119pdf001.pdf>
53. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2009 Ene [citado 2017 Jul 6];27(1):44-52. Disponible en:  
<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-mecanismos-accion-los-antimicrobianos-S0213005X08000177>. Nota [Doi: 10.1016/j.eimc.2008.11.001].
54. Velázquez C, Cornejo P, Volkow P. Resistencia bacteriana de cultivos de orina en un hospital oncológico: seguimiento a diez años. Rev Invest Salud Pública [Internet]. 2016 Ago [actualización 2017 Jul 24; citado 2017 Jul 24];58(4):446-52. Disponible en:  
<http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/8025/10761>. Nota [Doi: <http://dx.doi.org/10.21149/spm.v58i4.8025>].
55. Hernández C, Blanco V, Motoa G, et al. Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia. Biomédica [Internet]. 2014 Abr [actualización 2013 Nov 5; citado 2017 Jul 24];34(1):91-100. Disponible en:  
<http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1667/2372>. Nota [Doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1667>].
56. Cabrera C, Gómez RF, Zúñiga AE. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Acta Med Valle [Internet]. 2007 Jun [citado 2017 Jul 24];38(2):149-58. Disponible en:  
<https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/60658/1/rc07034.pdf>

57. Hurtado de Barrera J. Guía para la comprensión holística de la ciencia [Internet]. Primera edición. Caracas – Venezuela: editor Universidad Nacional Abierta. Dirección de Investigaciones y Postgrado; 2010 [actualización 2012 Ener 26; citado 2017 Jul 24];34(1):91-100. Disponible en: <http://dip.una.edu.ve/mpe/017metodologiaI/paginas/Hurtado,%20Guia%20para%20la%20comprension%20holistica%20de%20la%20ciencia%20Unidad%20III.pdf>
58. Hernández S, Collado C, Lucio P. Metodología de la Investigación. [Internet]. Primera edición. México D.F: McGraw-Hill Interamericana; (2003) [actualización 2015 Ener 20; citado 2017 Jul 24];58(1):126-127. Disponible en: <http://dspace.ucbscz.edu.bo/dspace/bitstream/123456789/10878/3/9316.pdf>
59. Cordero V, Hernández J, Ortiz L. Introducción a la investigación. Manual del Estudiante. Instituto Profesional del Magisterio. Caracas: UPEL. 2005.32-34 p.
60. Olguín R, Rodríguez H. Cromatografía de Gases [Internet]. Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México; 2004 Jun [actualización 2006 Oct 12; citado 2017 Jun 27]. Disponible en: <http://200.45.54.140/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pdf>
61. Araujo L, Moujir LM, Rojas J, Rojas L, Carmona J, Rondón M. Chemical Composition and Biological Activity of *Coniza bonariensis* oil collected in Mérida, Venezuela Edición Nat Prod Commun [Internet]. 2013 Agt [citado 2017 Jun 27];8(8):1175-1178. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24079198>
62. Rondón M, Morales A, Buitrago D, Rojas J, Gualtieri M. Comparative study of the chemical composition of the essential oil of the *Lasiocephalus longepenicillatus* (Schultz-Bip. ex Sandw.) Cuatrec.(*Senecio longepenicillatus*) in two seasons of the year. Serviluz [Internet]. 2005 Nov 30 [actualizado 2014 Oct 15; citado 2017 Jun 27];13(4):440-442. Disponible en: <http://www.produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/ciencia/article/viewFile/9285/9273>
63. De Bernardi M, Vidari G, Vita-Finzi P, Abdo S, Marinoni G, Mellerio G. Medicinal plant metabolites. III: GS-MS analysis of the essential oil of *Lasiocephalus ovatus*. Revista Latinoamericana de Química. 1990;21(3-4):97-8. CODEN: RLAQA8 ISSN: 0370-5943.
64. Almeida RP, Souto RNP, Silva MHL, Maia JGS. Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of its dillapiole-rich essential oil. Chem. Biodivers. 2009;6:1427-34. DOI: 10.1002/cbdv.200800212
65. Cumandá J. Texto básico de farmacognosia [Internet]. 1era ed. Riobamba: CDR - Xerox; 2010 [citado 2017 Jun 24];1:1-100. Disponible en:

<https://es.scribd.com/document/254935563/Texto-basico-Farmacologia-de-los-vegetales-a-las-medicinas>

66. Maguna FP, Romero AM, Garro OA, Okulik NB. Actividad antimicrobiana de un grupo de terpenoides. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas [Internet]. 2006 [actualización 2007 Mar 14; citado 2017 Jul 24]. Disponible en: <http://200.45.54.140/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pdf>
67. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortes DAG, Nakamura CV, Dias BP. Screening of some plants used in the brailian folk medicine for the treatment of infectious diseases. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2002;97(7):1027-31. DOI: doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017.
68. Hamidpouri R, Hamidpour S, Hamidpour M, Shahlar M. Camphor (cinnamomum camphora), a traditional remedy with the history of treating several diseases. Int J Case Rep Imag [Internet]. 2013 Feb [actualización 2013 Nov 30; citado 2017 Jul 11]4(2):86-89. Disponible en: <http://www.ijcasereportsandimages.com/archive/2013/002-2013-ijcri/001-02-2013-hamidpour/ijcri-00102201311-hamidpour.pdf>

## ANEXOS

### Anexo 1. Algunos materiales y equipos de laboratorio



**Anexo 2.** Planta *Lasiocephalus ovatus* Schltldl (Arquitecta) comprada en el Mercado San Alfonso de la ciudad de Riobamba a los expendedores de plantas medicinales.





**Anexo 3.** Caldo nutritivo (CN) Nutrient Broth marca Difco™; Caldo tripticasa soya (TSB) Tryptic Soy Broth marca Difco™; Agar nutritivo (AN) Nutrient Agar marca Difco™; Infusión cerebro corazón (BHI) Brain Heart Infusion marca Himedia.

## Nutrient Broth

### Intended Use

Nutrient Broth is used for the cultivation of many species of nonfastidious microorganisms.

### Summary and Explanation

Nutrient Broth has the formula originally designed for use in the *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. It is not a recommended bacteriological medium in later editions of this publication. It is one of several nonselective media useful in routine cultivation of microorganisms.<sup>13</sup>

### Principles of the Procedure

This relatively simple formulation supports the growth of

(NCCLS),™™

Trypticase Soy Broth with 6.5% Sodium Chloride is used to differentiate the enterococcal species from the *S. bovis* group of streptococci by the 6.5% NaCl tolerance test.<sup>14</sup>

Trypticase Soy Broth supplemented with 5% Fildes Enrichment provides growth factors necessary for the cultivation of fastidious organisms.<sup>15</sup>

Tryptic Soy Broth without Dextrose, a modification of TSB, is a basal medium to which carbohydrates may be added for use in fermentation studies. Phenol red and other indicators may also be added.

### Principles of the Procedure

### Directions for Preparation from Dehydrated Product

1. Suspend 23 g of the powder in 1 L of purified water. Mix thoroughly.
2. Heat with frequent agitation and boil for 1 minute to completely dissolve the powder.
3. Autoclave at 121°C for 15 minutes.
4. Test samples of the finished product for performance using stable, typical control cultures.

### Formula

#### Difco™ Nutrient Broth

Approximate Formula* Per Liter	
Beef Extract	3.0 g
Peptone	5.0 g

\*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance criteria.

### Directions for Preparation from Dehydrated Product

1. Dissolve 8 g of the powder in 1 L of purified water.
2. Autoclave at 121°C for 15 minutes.
3. Test samples of the finished product for performance using stable, typical control cultures.

Dipotassium Phosphate	2.5 g
-----------------------	-------

\*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance criteria.

### Directions for Preparation from Dehydrated Product

1. Suspend the powder in 1 L of purified water:
  - Bacto™ Tryptic Soy Broth – 30 g;
  - BBL™ Trypticase™ Soy Broth – 30 g;
  - Bacto™ Tryptic Soy Broth without Dextrose – 27.5 g.
 Mix thoroughly.
2. Warm gently until solution is complete.
3. Autoclave at 121°C for 15 minutes.
4. Test samples of the finished product for performance using stable, typical control cultures.

foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

### Availability

#### Difco™ Nutrient Agar

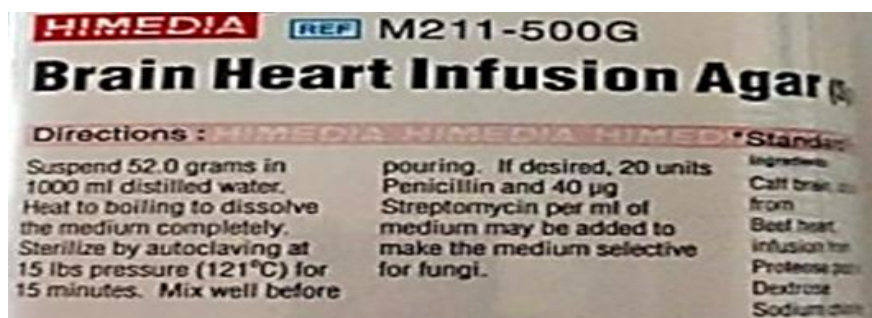
	ADAC	BAM	CCAM	COMPE	ISO	SMWW	USDA
Cat. No. 212000							
213000							
211665							

#### BBL™ Nutrient Agar

	ADAC	BAM	CCAM	COMPE	ISO	SMWW	USDA
Cat. No. 297801							

United States and Canada

Prepared Plates – Pks. of 10\*



**Anexo 4.** Preparación del material botánico: las partes aéreas de *Lasiocephalus ovatus* Schlttdl (Arquitectura) fueron troceadas, pesadas y licuadas.



**Anexo 5.** Proceso de extracción y aislamiento del aceite esencial mediante el método de hidrodestilación empleando la trampa de Clevenger.



**Anexo 6.** Cromatógrafo de gases HP 6890 acoplado a un espectrómetro de masas HP 5973.



**Anexo 7.** Ficha botánica de la planta *Lasiocephalus ovatus* Schldtl (Arquitectura) proporcionada por el especialista Biólogo, Xavier Cornejo.

**Herbario GUAY**  
Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad de Guayaquil

**Clase:** Equisetiopsida C. Agardh

**Subclase:** Magnoliidae Nývák ex. Takht.

**Superorden:** Asteranae Takht.

**Orden:** Asterales Link

**Familia:** Asteraceae Bercht. & J. Presl

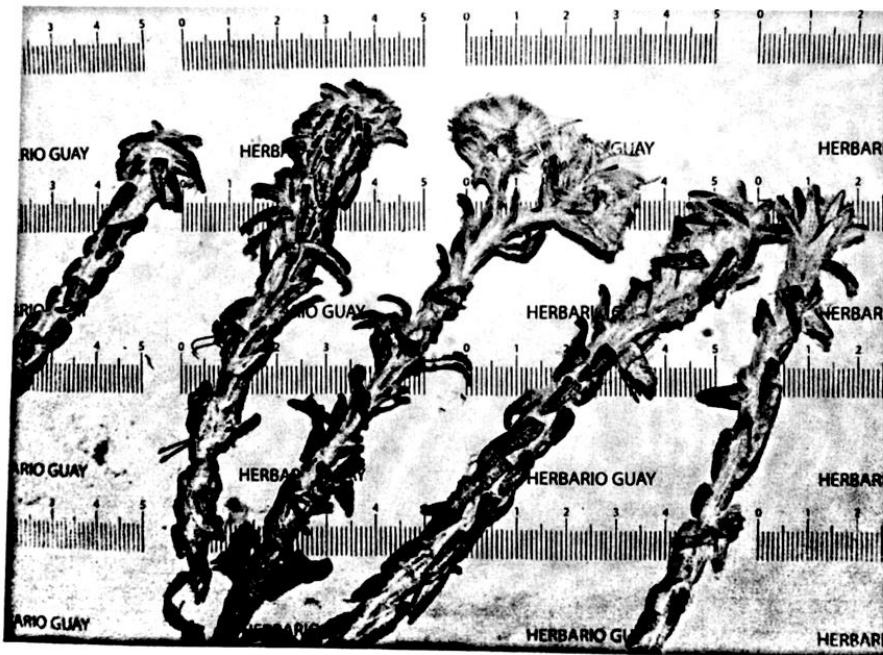
**Género:** *Lasiocephalus* Willd. ex Schldtl.

**Nombre científico:** *Lasiocephalus ovatus* Schldtl.

**Nombre vernáculo:** Arquitectura

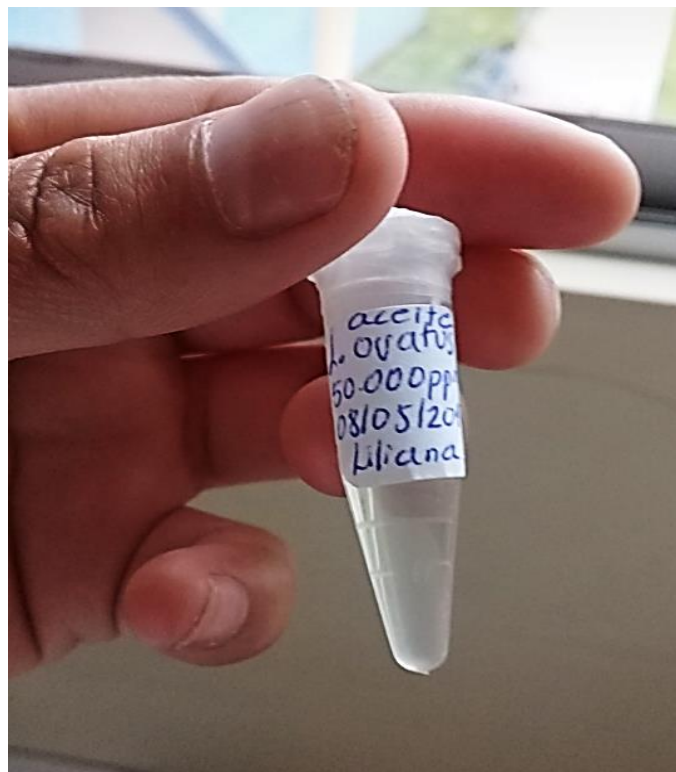
**Registro GUAY:** 024 A

**Descripción taxonómica:** Subarbusto, tallo cubierto con una densa pubescencia lanosa; hojas con disposición polística, lámina lanceolada, oblonga hasta oblanceolada, 1-2.5 x 0.3-0.7 cm, base sésil hasta atenuada, margen entero, ápice algo agudo, densamente lanosas en el envés. Inflorescencia un capítulo terminal, de color amarillo claro.



Av. Juan Tanca Marengo y Av. Gómez Lince s.n.  
P.O. Box 09-01-10634  
Guayaquil-Ecuador

**Anexo 8. Preparación del Stock (50.000 ppm) del aceite esencial**



**Anexo 9.** Preinóculo: siembra de las cepas bacterianas en 20 mL de caldo TSB o BHI según la bacteria a usar e incubación de 37 °C por 18 horas.



**Anexo 10.** Diluciones seriadas en tubos y el inóculo para cada bacteria.

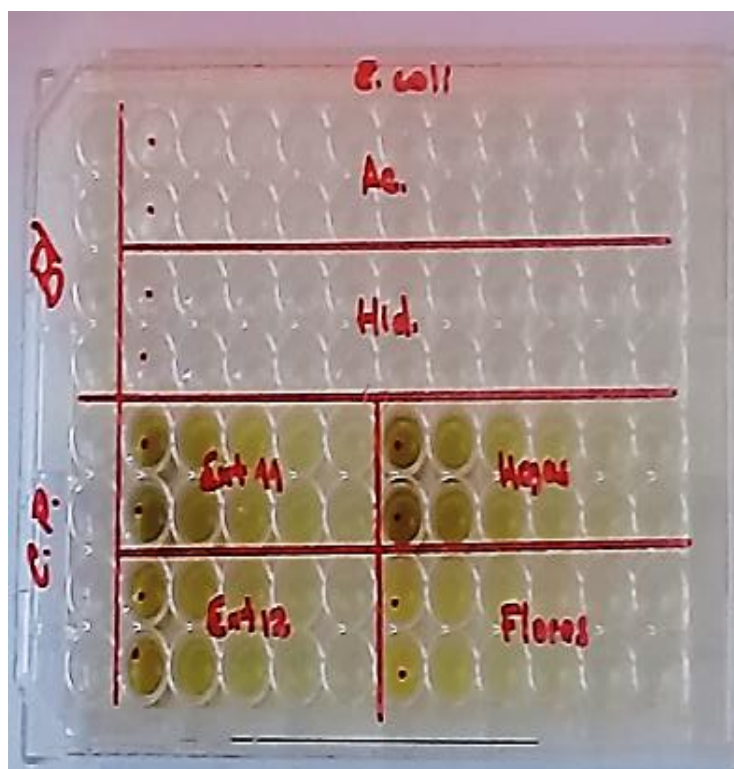




**Anexo 11:** Preparación de la microplaca con stock del aceite, C.N y diluciones seriadas en microplaca.



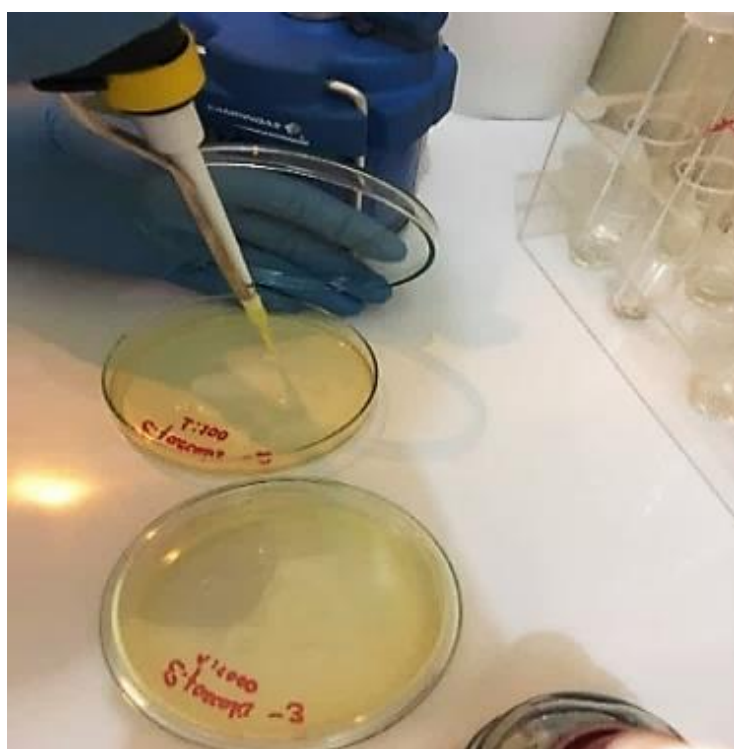
**Anexo 12:** Poner 100 ul del inoculo de la bacteria restante y se tiene la dilución completa en la microplaca de 96 pocillos.



**Anexo 13:** Incubación de 24h a 37<sup>0</sup> C y observación de la turbidez en microplaca.



**Anexo 14:** Preparación de agar nutritivo, rotulado de cajas monopetri e inoculación de muestras para recuento.



## CEPAS BACTERIANAS EN ESTUDIO.

**Anexo 15:** Observación de resultados, Recuento de *E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. faecalis*.

