



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

ACTA

TG-2024-02-33

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. IXORA REQUENA y Prof. FERNANDO LINARES, Reunidos en:

a la hora: 2 pm Salón de Reunión Depto. Paraguri y Manabulo.

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

EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANOLICOS DE OCIMUM BASILICUM CONTRA CEPAS DE Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa Y Escherichia coli URO PATOGENA.

Del Bachiller Casares Santiago Felix Ramon C.I.: 26203199, como requisito parcial para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN	☒
-----------	----------	-----------------------------	------------------------------	-------------------------------------

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 27 días del mes de Marzo de 2024

Prof. IVÁN AMAYA
Miembro Tutor

Prof. IXORA REQUENA
Miembro Principal

Prof. FERNANDO LINARES
Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ
Coordinador comisión Trabajos de Grado



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS
Avenida José Méndez o/c Columbo Silva- Sector Barrio Ajuru- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.
Teléfono (0285) 6324976



ACTA

TG-2024-02-33

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. IXORA REQUENA y Prof. FERNANDO LINARES, Reunidos en:

a la hora: 2 pm

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

EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANOLICOS DE OCIMUM BASILICUM CONTRA CEPAS DE Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa Y Escherichia coli URO PATOGENA.

Del Bachiller Zambrano Varón Luis Alejandro C.I.: 26269001, como requisito parcial para optar al Título de **Licenciatura en Bioanálisis** en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

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

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 20 días del mes de Marzo de 2024

Prof. IVÁN AMAYA
Miembro Tutor

Prof. IXORA REQUENA
Miembro Principal

Prof. FERNANDO LINARES
Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ
Coordinador comisión Trabajos de Grado





UNIVERSIDAD DE ORIENTE

NÚCLEO BOLIVAR

ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD

"DR. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA

**EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE EXTRACTOS
ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE *OCIMUM BASILICUM* CONTRA
CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *PSEUDOMONAS
AERUGINOSA* Y *ESCHERICHIA COLI* UROPATÓGENA.**

Tutor:

Lcdo. Iván Amaya

Trabajo de Grado presentado por:

Br. Casares Santiago, Félix Ramon

C.I. No. 26.203.199

Br. Zambrano Varón, Luis Alejandro

C.I. No. 26.269.001

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

Ciudad Bolívar, marzo 2024

ÍNDICE

ÍNDICE	iv
AGRADECIMIENTOS	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
DEDICATORIA	ix
DEDICATORIA	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	14
OBJETIVOS	16
Objetivo general:	16
Objetivos Específicos:.....	16
METODOLOGÍA	17
Tipo de Estudio.	17
Recolección de la planta e identificación botánica:	17
Preparación del macerado para la obtención del extracto etanólico:	17
Preparación de la decocción para obtención del extracto acuoso:	18
Confección de los discos:.....	18
Control de calidad:	19
Preparación de los discos de sensibilidad:	20
Preparación de Agar:.....	21
Discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico:	22
Discos de sensibilidad impregnados con extracto acuoso:	23
RESULTADOS	24
Preparación de la decocción.....	24
Preparación del macerado.	26
Medición del pH de los extractos.....	26

Preparación de las distintas diluciones a partir de la solución madre.	27
Esterilización y auto clavado de los discos de sensibilidad	27
Impregnación de los discos de sensibilidad.	28
Inoculación en agar.	28
Antibiogramas por discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico de <i>Ocimum Basilicum</i>	30
Extracto acuoso de <i>Ocimum Basilicum</i> directo sobre el agar con el asa calibrada...	31
DISCUSION	33
Antibiogramas con Extracto Etanólico:	33
Zonas de inhibición:	33
Respuesta de <i>Staphylococcus aureus</i> ante el extracto etanolico:.....	33
Respuestas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Escherichia coli</i> ante el extracto etanolico:	34
Extracto acuoso en agar.....	35
Falta de susceptibilidad:	35
Efectos dependientes de la concentración:	36
Comparación entre el extracto etanólico y acuoso:.....	36
Compuestos bioactivos:	36
Extracto etanólico:	37
Extracto acuoso:.....	37
Diferencias en la composición:.....	37
Solubilidad de los compuestos:	37
Extracto etanólico:	38
Extracto acuoso:.....	38
Extracción de compuestos fenólicos:	38
Extracto etanólico:	38
Extracto acuoso:.....	39
Sensibilidad a la temperatura:	39
Extracto etanólico:	39

Extracto acuoso:.....	39
Actividad antioxidante y antimicrobiana:	39
Extracto etanólico:	39
Extracto acuoso:.....	40
RECOMENDACIONES	41
Optimización de los métodos de extracción:	41
Identificación y aislamiento de compuestos activos:	41
Relaciones concentración-respuesta:	41
Enfoques sinérgicos:	41
Estudios comparativos con antibióticos convencionales:	42
Normalización de extractos:.....	42
Exploración de otros patógenos:	42
CONCLUSIÓN	43
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	44

AGRADECIMIENTOS

Dios, gracias por brindarme salud y vida para poder lograr mis objetivos y metas, gracias por haberme rodeado de las mejores personas y por haberme puesto siempre gente de buena Fe, gracias por realmente todas las cosas buenas que me han pasado a lo largo de mi vida y los años transcurridos hasta lograr mi gran objetivo personal.

A mi madre y a mi padre, gracias a su educación y siempre estar presente en mi vida soy quien soy hoy por día, gracias a ustedes veo con claridad el camino que tengo por delante, siempre con los pies en la tierra y sin perder el rumbo. Gracias, mamá, gracias, papá. Gracias por todo.

A mis hermanos. Los momentos con ustedes forman parte de mí, compartir mi vida con la suya hace que todo sea mas ameno, que Dios les de mucha salud para seguir compartiendo nuevas experiencias juntos. Gracias por siempre estar para mí.

A mi pareja Paola Sequeda y a la familia Malavé, llegaron a complementar mi vida y reforzar los valores que me enseñaron mis padres, gracias por estar y ser parte de la familia. Ustedes también forman parte de esta meta, Muchas gracias.

Por ultimo y no menos importante, agradecer a mi tutor y padrino de promoción, Iván Amaya, por el tiempo y los conocimientos brindados, gracias por inspirar siempre a nuevos estudios y mantener esa chispa de curiosidad para aprender y ser cada día mejores profesionales y personas.

Felix Ramon Casares Santiago

AGRADECIMIENTOS

Con gratitud en el corazón deseo expresar mis sinceros agradecimientos a todos aquellos que han sido parte fundamental en este camino universitario y en la culminación de esta tesis.

A Dios, fuente de fortaleza y guía, por iluminar mi camino y darme la fuerza para superar todos los desafíos en esta travesía académica.

A la Universidad de Oriente, por brindarme la oportunidad de formarme académicamente y expandir mis horizontes intelectuales. Al laboratorio de microbiología y al personal, por abrirme las puertas de sus instalaciones y permitirme realizar mis investigaciones en un entorno propicio para el aprendizaje y la experimentación. A nuestro tutor de tesis, Iván Amaya, por su invaluable orientación, paciencia y apoyo constante a lo largo de este proceso, guiándonos hacia la culminación de este importante proyecto académico.

A los distinguidos profesores de la universidad, cuyo conocimiento y dedicación han sido una inspiración para alcanzar mis metas académicas y profesionales.

A mi apreciada familia y amigos, por su inquebrantable apoyo, comprensión y aliento en los momentos más desafiantes, siendo mi roca y sostén en cada paso de este viaje.

A todos ustedes, mi más profundo agradecimiento. Este logro no habría sido posible sin su inestimable colaboración y aliento en el camino.

Luis A, Zambrano Varón

DEDICATORIA

Esta meta alcanzada va dedicada para ti Liduby Santiago y Felix Casares, padres ejemplares, la razón de mi vida, e intachable guía para la misma. Ustedes son plenos merecedores de toda la honra y orgullo que puede causar cada paso que doy en mi vida.

Felix Ramon Casares Santiago

DEDICATORIA

A dios y a la virgen del valle, mi eterna gratitud fuentes de inspiración y fortaleza en mi caminar

A mis queridos padres, Carlos Zambrano y Naryeth Varon, cuyo apoyo inquebrantable y sacrificio han sido la piedra angular de mi éxito. Su amor incondicional y sabiduría han sido mi inspiración y guía a lo largo de mi viaje universitario.

A mis abuelos, Yoli Gonzales y José Zambrano que siempre me apoyan en este camino desde el inicio

A mis abuelitos Alicia boca negra y Braulio varón, que en paz descanse siempre los llevo en mi corazón con su alegría iluminando mis días.

A mi pareja, Eloisa Prado cuyo amor, paciencia y aliento constante han sido mi fuente de fortaleza en cada desafío. A mis amigos y personas maravillosas que he conocido en la universidad, gracias por compartir este camino conmigo y por brindarme momentos de alegría y apoyo incondicional.

A la universidad de oriente, por brindarme las herramientas el apoyo necesario para alcanzar mis metas educativas, por fomentar mi crecimiento intelectual y por inspirarme a superar desafíos y perseguir mis sueños con perseverancia y determinación.

Luis A, Zambrano Varón

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El ser humano desde su origen ha usado la medicina natural como herramienta para buscar calma a las afecciones que han existido a lo largo de la historia y que con ella en el transcurso del tiempo ha dado un sinnúmero de beneficios para la humanidad. Según la OMS, la medicina tradicional es una parte importante y con frecuencia subestimada de los servicios de salud. La albahaca se ha utilizado durante mucho tiempo en la medicina popular como antiinflamatorio y analgésico y para el tratamiento de síntomas como cefalea, diarrea, estreñimiento, indigestión y tos. El descubrimiento de estudios de productos naturales con ingredientes que tienen actividad antibacteriana intrínseca y/o que pueden usarse en combinación con antibióticos estándar, puede resultar una alternativa viable para la producción de nuevos fármacos efectivos contra microorganismos multirresistentes.

OBJETIVO: Demostrar el efecto Antimicrobiano in vitro de extractos acuosos y etanólicos de *Ocimum basilicum* contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

MÉTODOS: Estudio será de tipo Experimental con un diseño Multifactorial.

RESULTADOS: Al exponer el extracto acuoso y etanólico de *Ocimum Basilicum* y sus diferentes diluciones 1:10, 1:20, 1:40, durante 24 horas a sus temperaturas ideales, se observó un desarrollo normal de las bacterias, y no inhibición-resistencia en las distintas soluciones de *Ocimum Basilicum* respectivamente.

CONCLUSIONES: El extracto acuoso y etanólico de *Ocimum Basilicum* mediante el método de decocción y macerado no demostró ninguna actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. A pesar de las propiedades prometedoras que se le atribuye a dicha hoja en otros aspectos de la salud. Teniendo en cuenta que es complicado controlar la cantidad de principio activo que se extrae por decocción, macerado y los mecanismos potenciales de estas actividades farmacológicas, ya que no se han explorado completamente, en esta investigación se pretendió reproducir en condiciones controladas y de manera estandarizada la extracción etanólica y acuosa mediante la decocción y maceración de las hojas de *Ocimum basilicum*, dado que es la forma popular de preparación de la planta por las personas en sus hogares.

PALABRAS CLAVES: *Ocimum basilicum*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, Medicina tradicional.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The human being since its origin has used natural medicine as a tool to seek calm to the affections that have existed throughout history and with it in the course of time has given endless benefits to humanity. According to OMS, traditional medicine is an important and often underestimated part of health services. Basil has long been used in folk medicine as an anti-inflammatory and analgesic and for the treatment of symptoms such as headache, diarrhea, constipation, indigestion and cough. The discovery of natural product studies with ingredients that have intrinsic antibacterial activity and/or can be used in combination with standard antibiotics may prove to be a viable alternative for the production of new drugs effective against multidrug-resistant microorganisms.

OBJECTIVE: To demonstrate the in vitro antimicrobial effect of aqueous and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* strains.

METHODS: Experimental study with a multifactorial design.

RESULTS: Upon exposure of the aqueous and ethanolic extract of *Ocimum Basilicum* and its different dilutions 1:10, 1:20, 1:40, for 24 hours at their ideal temperatures, normal bacterial growth was observed, and no inhibition-resistance in the different solutions of *Ocimum Basilicum* respectively.

CONCLUSIONS: The aqueous and ethanolic extract of *Ocimum Basilicum* by the decoction and macerate method did not show antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. Despite the promising properties attributed to this leaf in other aspects of health. Considering that it is complicated to control the amount of active principle extracted by decoction, maceration and the potential mechanisms of these pharmacological activities, since they have not been fully explored, in this research it was intended to reproduce under controlled conditions and in a standardized way the ethanolic and aqueous extract by decoction and maceration of the leaves of *Ocimum basilicum*, since it is the popular way of preparation of the plant by people in their homes.

KEY WORDS: *Ocimum basilicum*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, Traditional medic.

INTRODUCCIÓN

El concepto de Medicina Tradicional, "indígena", "alternativa", "étnica", "folklórica", "marginal" o "no oficial", distingue el conjunto de conocimientos, creencias y prácticas curativas practicadas, en mayor o menor grado, en todas las culturas del mundo antes del advenimiento de la llamada medicina "occidental", "científica", "moderna", "oficial" o alopática. Esta Medicina Tradicional, así conceptuada, constituye la suma de dos niveles de atención: un nivel real, al que denominamos medicina natural, y que comprende la utilización de recursos curativos, igualmente naturales (animales, vegetales y minerales) y, un nivel cultural al que denominamos medicina mágico-religiosa, y que comprende un conjunto de prácticas rituales. Ambos niveles, son inseparables en el marco de la cultura, y la restitución de la salud implica necesariamente la actuación del médico en los dos niveles. (Delgado, 1999).

En cuanto a la etnomedicina, es definida como el conocimiento cultural de una sociedad sobre el manejo de la salud y los tratamientos para enfermedades, en donde incluye el proceso culturalmente apropiado para buscar atención médica y los signos y síntomas culturalmente definidos de la enfermedad que plantean un problema de salud. Los sistemas etnomédicos suelen estar estrechamente relacionados con los sistemas de creencias y las prácticas religiosas. La curación puede incluir rituales y tratamientos naturales extraídos del entorno local. Los especialistas en sanación en un sistema etnomédico son individuos conocedores que se someten a formación o aprendizaje. Algunos ejemplos de curanderos etnomédicos son parteras, doulas, herbolarios, boneteros, cirujanos y chamanes, cuya etnomedicina existía en tradiciones culturales de todo el mundo antes de la biomedicina. La etnomedicina no se enfoca en la medicina "tradicional", sino que permite la comparación transcultural de los sistemas médicos. (Lewis *et al.*, 2022).

Por otra parte, los Fito medicamentos o medicamentos fitoterápicos, como su nombre lo indica, son aquellos medicamentos formulados a partir de extractos de una determinada planta o combinación de estas en una presentación farmacéutica (“fito” procede del griego phyton que significa planta). Se definen como medicamentos cuya sustancia activa (mezcla compleja de Fito componentes o compuestos naturales que pueden tener un efecto aditivo o sinérgico en su efecto farmacológico principal) se obtiene a partir de vegetales de origen terrestre o acuático mediante procedimientos específicos y que presentan un uso clínico justificado por los estudios correspondientes. (Jara *et al.*, 2021)

La medicina natural y tradicional forma parte del acervo cultural de la humanidad, y se ha desarrollado en muchos países con características propias, en franca tendencia a los recursos disponibles en ellos, sobre la base, además, de la idiosincrasia de sus habitantes; por tanto, es el resultado de una evolución lenta, pero avalada por la experiencia práctica mediante el empleo de las plantas para la alimentación del hombre y la curación de diversas enfermedades. Esta experiencia fue transmitida de generación en generación, a tal punto, que, en la actualidad, en pleno siglo XXI, son denominadas plantas de uso tradicional, lo cual continuará hasta el fin de los tiempos. (MEDISAN, 2014)

El ser humano desde su origen ha usado la medicina natural como herramienta para buscar calma a las afecciones que han existido a lo largo de la historia y que con ella en el transcurso del tiempo ha dado un sinnúmero de beneficios para la humanidad hasta la modernidad, partiendo desde lo que entendemos en occidente como medicina natural o medicina alopática (convencional), ambas encuentran sus bases en Hipócrates, médico de la antigua Grecia, considerado padre de la medicina (Benítez y Marcè, 2019)

En cuanto a la promoción de la integración de la medicina tradicional al sistema oficial de salud se basa en el supuesto o certeza de que grupos culturalmente distintos (los indígenas sobre todo) mantienen creencias y prácticas en relación a la salud y a la enfermedad que dificultan la difusión del sistema oficial y que la situación de pobreza extrema les impide acceder a tratamientos provenientes de la medicina occidental; por lo tanto, condiciones culturales y económicas se esgrimen como razones para que las poblaciones indígenas sigan recurriendo a sus propios agentes de salud, las que obviamente son condiciones que habría que cambiar. (Eyzaguirre, 2017)

Según la Organización Mundial de la Salud, la medicina tradicional es una parte importante y con frecuencia subestimada de los servicios de salud. En algunos países, la medicina tradicional o medicina no convencional suele denominarse medicina complementaria. Históricamente, la medicina tradicional se ha utilizado para mantener la salud, prevenir y tratar enfermedades, en particular enfermedades crónicas. (OMS, 2013).

En el mundo de la medicina son muchos los factores biológicos y afecciones que pueden causar grandes problemas al organismo humano, dentro de las principales causas de estas afecciones se encuentra el género bacteriano *Staphylococcus* que está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas, catalasa positiva. (García *et al.*, 2014)

En los humanos, causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas y su principal impacto es ocasionado por las cepas de *S. aureus*, que son sumamente resistentes a la meticilina (MRSA) y otros antibióticos que antes eran eficaces contra el tratamiento de las infecciones. (Manzo *et al.*, 2014)

En cuanto a la variedad en especies muchas son patógenas cuando existe predisposición e inmunosupresión en el huésped o en presencia de cuerpos extraños. Por lo general, cada especie tiende a ocupar una localización anatómica específica en el huésped que coloniza. Entre las especies que colonizan al humano, las de mayor importancia clínica son: *S. aureus* y *S. lugdunensis*; en tanto que en animales se encuentra además de *S. aureus* a *S. intermedius*. (García *et al.*, 2014)

Los estafilococos causan enfermedades por invasión directa de los tejidos, a veces por producción de exotoxinas. La invasión tisular directa es el mecanismo más común para la enfermedad estafilocócica, incluyendo las siguientes:

- Infecciones cutáneas
- Neumonía
- Endocarditis
- Osteomielitis
- Artritis infecciosa (séptica).

Los estafilococos a veces producen múltiples exotoxinas. Algunas tienen efectos locales, otras desencadenan la liberación de citocinas por parte de ciertos linfocitos T, lo que produce efectos sistémicos graves (p. ej., lesiones de la piel, shock, insuficiencias orgánicas, muerte). (Bush *et al.*, 2023).

Según el Centro de Enfermedades Contagiosas (Communicable Disease Center, CDC) SARM significa, *Staphylococcus aureus* Resistente a la Meticilina, un tipo de bacteria potencialmente peligrosa que es resistente a ciertos antibióticos y puede causar infecciones de la piel y de otro tipo. El SARM se propaga mediante el contacto directo con la infección de otra persona, tocando superficies o elementos contaminados con la bacteria o compartiendo objetos personales, tales como toallas o máquinas de afeitar, que hayan tocado la piel infectada. (CDC, 2009)

Con el pasar del tiempo muchas cepas de estafilococos han podido producir penicilinasas, enzimas que inactivan varios antibióticos beta-lactámicos. Estas cepas son resistentes a penicilina G, ampicilina, amoxicilina y penicilinas antiseudomónicas (p. ej., piperacilina). Las cepas extrahospitalarias a menudo son sensibles a penicilinas resistentes a penicilinasas, a cefalosporinas, a carbapenémicos, a tetraciclinas, a los macrólidos, las fluoroquinolonas, la asociación trimetoprima/sulfametoxazol (TMP/SMX), a la gentamicina, la vancomicina y la teicoplanina. (Bush et al., 2023).

En los Estados Unidos, han aparecido cepas de *S. aureus* resistente a la vancomicina (SARV) y de *S. aureus* con sensibilidad intermedia a la vancomicina (SASIV, vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*). Estos microorganismos requieren tratamiento con linezolid, tedizolid, quinupristina/dalfopristina, daptomicina, TMP/SMX, delafloxacina, oritavancina o ceftarolina. (Bush et al., 2023).

Para el año 2022 en Perú la muestra vegetal fue el *Ocimum basilicum* (albahaca) y la muestra biológica fue la cepa de *Staphylococcus aureus*, los extractos utilizados fueron a concentraciones del 50%, 75% y 100%. El extracto etanólico de *Ocimum basilicum* al 50% obtuvo halos de inhibición sobre *Staphylococcus aureus*, de 9,93+10,33 mm, presentando sensibilidad al extracto esta bacteria. El extracto al 75% obtuvo halos de inhibición sobre *Staphylococcus aureus*, de 11,10+11,48 mm, presentando sensibilidad al extracto esta bacteria. El extracto etanólico al 100% obtuvo halos de inhibición sobre *Staphylococcus aureus*, de 13,27+13,64 mm, presentando sensibilidad al extracto esta bacteria, siendo a un p valor <0,005. Se concluye que el extracto etanólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) a las concentraciones del 100%, 75% y 50% presentan actividad antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus*. (Frías y Olano, 2022).

Del mismo modo, en continuación con la variedad de bacterias en estudio, se encuentra *Pseudomonas aeruginosa*, el cual es un patógeno ubicuo, oportunista y bastante persistente en el medio ambiente. Esta bacteria tiene forma de bastón aproximadamente de 0,5-1 μm in diámetro y de 1,5-5 μm de largo. Cuentan con un flagelo polar que le confiere la motilidad necesaria. Se considera a esta especie como bacteria aerobia facultativa debido a la capacidad que tiene para crecer en medios anaerobios tomando el nitrógeno o arginina como terminal de aceptación de protones. (Zarza *et al.*, 2019).

Según el Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, *Pseudomonas aeruginosa* se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, en el agua (ríos, lagos, depósitos, duchas, etc.), en los suelos húmedos, en los vegetales y en los materiales húmedos (alimentos, fómites); también puede formar parte de la flora microbiana normal saprófita de las zonas húmedas de la piel (axilas, conducto auditivo, región perineal y mucosas). La transmisión se produce principalmente a través del contacto de la piel lesionada o reblandecida y de las mucosas con el agua o con los objetos contaminados. En el ámbito sanitario, constituyen una fuente de infección para los pacientes el instrumental quirúrgico, los respiradores, los catéteres o las manos del personal sanitario contaminadas, entre otros. (INSST, 2022).

La capacidad que tiene *P. aeruginosa* de causar un amplio margen de infecciones es debido a muchos factores que se agrupan en 2 variantes. El primer Factor de patogenicidad asociado a la célula bacteriana influye en gran medida el flagelo que confiere motilidad a la célula y el lipopolisacárido (LPS). El flagelo de *P. aeruginosa* contiene la proteína flagelar FliD, que le confiere a la bacteria la capacidad de adherirse en la mucosa de las vías respiratorias. En segundo lugar, están los Factores de patogenicidad secretados por la célula bacteriana en donde la bacteria es capaz de producir una cápsula extracelular de alginato, un polímero lineal de ácido manurónico y ácido glucurónico y forma parte de la biopelícula secretada por la

bacteria como mecanismo de evasión para los anticuerpos y la fagocitosis de las células inmunológicas. (Zarza *et al.*, 2019).

P. aeruginosa es un patógeno oportunista que rara vez causa enfermedad en individuos sanos; en el caso de producirse esta, suele manifestarse como, Infecciones dérmicas (foliculitis), Neumonía producida por la inhalación de bioaerosoles de agua o fluidos contaminados, Otitis externa (otitis del nadador), Infección ocular, entre otros. En numerosos casos es responsable de infección nosocomial, afectando principalmente a individuos inmunocomprometidos, con quemaduras graves, heridas quirúrgicas, neutropenia o con infecciones pulmonares subyacentes. (INSST, 2022).

Al mismo tiempo, *Pseudomonas aeruginosa* exhibe muchos mecanismos de resistencia, incluyendo enzimas que modifican a los antimicrobianos como β -lactamasas y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, la adquisición plásmidos que codifican para genes de resistencia, permeabilidad limitada para los antimicrobianos y la posibilidad de generar una bomba dependiente de energía que expulsa al antimicrobiano fuera de la bacteria. Cuatro bombas activas pertenecientes a la resistencia a división por nodulación (RND) han sido descritas en las bacterias gramnegativas que participan activamente en la resistencia antimicrobiana, (MexAB-OprM, MexXY/ OprM, MexCD-OprJ y MexEF-OprN). Se han identificado en *P. aeruginosa* mutaciones en genes cromosomales que le confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos. Dichas mutaciones se encuentran en los genes involucrados en la síntesis de péptidoglucano (ampD, dacB, and ampR). (Zarza *et al.*, 2019).

En el año 2015 en la Universidad del Zulia, Rivas *et al.*, determinaron la composición química del aceite esencial (AE) del *Ocimum basilicum*, por medio de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM), y se evaluó su actividad antibacteriana. El AE se obtuvo por hidrodestilación, posteriormente se efectuó un

análisis por CG-EM. La actividad antibacteriana se evaluó utilizando cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* y *Staphylococcus aureus*. La acción antibacteriana se cuantificó midiendo el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de discos Whatman No 5 impregnados con el AE (50 mg/mL). La concentración inhibitoria mínima (CIM), fue determinada por dilución del AE en el intervalo comprendido entre 50 y 200 µg/mL. Fueron identificados 14 constituyentes, representando el 77,22% del aceite. El isoestragol (58,33%), humuleno (5,71%), eucaliptol (4,09%), β-linalol (2,71%), cis-β-ocimeno (2,00%) y alcanfor (1,63%) fueron los mayores compuestos volátiles. El aceite mostró actividad bacteriostática leve contra todos los microorganismos ensayados, presentando halos de inhibición entre 8 a 12 mm de diámetro, mientras que la CIM estuvo entre 100 – 200 µg/mL. Las bacterias gran positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*), fueron las más susceptibles al AE. (Rivas *et al.*, 2015).

Ahora bien, es momento de hablar de *Escherichia coli* donde este es conocido como un bastón Gramnegativo (bacilo) de la familia Enterobacteriaceae. La mayoría de las *E. coli* son comensales normales que se encuentran en el tracto digestivo. Las cepas patógenas de este organismo se distinguen de la flora normal por poseer factores de virulencia, como exotoxinas. (Spickler, 2009).

Las cepas de *E.coli* pueden causar diversas enfermedades como la septicemia, la infección del aparato urinario y diarreas. Las bacterias del tipo uro patógenas, son especialmente virulentas debido a su capacidad para producir adhesinas, las cuales se unen a las células que recubren la vejiga y el aparato urinario superior. (López, 2021).

La *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas. *E.*

coli productora de toxina Shiga produce toxinas conocidas como toxinas Shiga por su semejanza con las toxinas producidas por *Shigella dysenteriae*. (OMS, 2018).

Las cepas de *E. coli* que producen diarreas, aunque inicialmente fueron clasificaron en 7 grupos, actualmente se consideran 6 grupos denominados: EPEC (*E. coli* enteropatógena), ECET (*E. coli* enterotoxígena), ECEH (*E. coli* enterohemorrágica), ECEI (*E. coli* enteroinvasiva), ECEA (*E. coli* enteroagregativa) y UPEC (*E. coli* uropatógena). (López, 2021).

Además, se ha comprobado científicamente la actividad antibacteriana de la albahaca (*Ocimum basilicum*). Siendo *Escherichia coli* la más susceptible. Sin embargo, queda en el vacío las dosis de aplicación y uso. Dicha susceptibilidad se mide con los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento para compararla con la de un antibiótico conocido por su eficacia contra esta bacteria. Se ha demostrado que *Escherichia coli* puede causar una variedad de enfermedades en el ser humano incluyendo: infecciones en vías urinarias, diarrea, entre otros. (Calderón y Torres, 2014).

Para el año 2014 Calderón y torres determinaron el efecto antibacteriano del extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, a fin de dar el sustento científico al conocimiento popular. trabajaron en una muestra constituida por 15 placas petri con cepas de *Escherichia coli* y material vegetal hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*) en fresco. Los resultados muestran un efecto positivo de la actividad antibacteriana para las dosis de 5g, 10g y 20g del extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, cuyo efecto antibacteriano para la dosis de 5g de extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) fue de 38 %, para 10g fue de 43.5 %, y para 20g fue de 46.5 %. Donde luego concluyeron que el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* disminuye significativamente por efecto de las tres dosis (5g, 10g

y 20g) de extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) procedente de la comunidad de Taquia de la Región Amazonas; siendo la dosis de 20g la que tuvo mayor actividad antibacteriana. (Calderón J y Torres E, 2014).

Cada vez es más frecuente la asociación de diferentes mecanismos de resistencia para la misma familia de antibióticos en una misma cepa. Esto hace que el perfil fenotípico sea difícil de interpretar y el tratamiento muy difícil de abordar. Se ha descrito una cepa de *E. coli* causante de sepsis urinaria de evolución fatal que producía 2 carbapenemasas (VIM-1 y KPC-3), una beta-lactamasa AmpC plasmídica (CMY-2) y una beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE), SHV-12. (Alos, 2014).

Por otro lado, la resistencia antimicrobiana se define como la capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de los antibióticos; es una característica inherente de la bacteria o puede ser una capacidad adquirida durante el proceso infeccioso. (Giono *et al.*, 2020).

La resistencia a los antibióticos en patógenos bacterianos humanos existía antes del uso de estos fármacos por el hombre y su prevalencia era baja. Los estudios realizados con bacterias obtenidas en los años previos al descubrimiento de los antibióticos o con bacterias de poblaciones humanas que no habían tenido acceso a ellos lo demuestran. Desde el uso masivo de los antibióticos se ha constatado a nivel mundial un aumento muy importante de la prevalencia de la resistencia. (Alos, 2014).

Así mismo, las bacterias pueden presentar resistencia a los antibióticos como resultado de mutaciones cromosomales e intercambio de material genético de otras bacterias o fagos (virus que utilizan bacterias para su desarrollo y reproducción), a través de mecanismos como:

1. Transformación: consiste en la transferencia o incorporación por una bacteria de ADN libre extracelular procedente de la lisis de otras bacterias.
2. Transducción: transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra mediante un bacteriófago (virus que infecta bacterias).
3. Transposición: movimiento de una sección de ADN (transposón) que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros genes casete unidos en equipo para expresión de un promotor en particular.
4. Conjugación: consiste en el intercambio de material genético entre dos bacterias (donante y receptor), a través de una hebra sexual o contacto físico entre ambas.

La resistencia bacteriana puede ser natural o intrínseca y adquirida, y debe ser analizada desde varios puntos de vista (farmacocinético, farmacodinámico, poblacional, molecular y clínico). (Calderón y Aguilar, 2016).

El lema de la Organización Mundial de la Salud (OMS) respecto a la resistencia a los antimicrobianos es “ninguna acción hoy, ninguna cura mañana”, ya que se estima que la resistencia bacteriana ocasionará 10 millones de muertes por año para el 2050 y una reducción de 2 y 5 % del producto interno bruto en algunos países. Con base en su informe de riesgos, durante el Foro Económico Mundial de 2013 se situó este problema de salud a la par de la proliferación de armas de destrucción masiva y la crisis económica mundial. (Giono, *et al.*, 2020).

Por esta razón, las plantas medicinales se han utilizado tradicionalmente en la medicina popular debido a sus reconocidos efectos curativos naturales. Se estima que alrededor de dos tercios de la población mundial utilizan la medicina tradicional para sus necesidades médicas primarias. La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es uno de los principales cultivos herbáceos del mundo que ha mostrado componentes que pueden

ser beneficiosos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, trastornos inflamatorios y disminución del riesgo de cáncer (Farías *et al.*, 2022).

La albahaca es una planta aromática y medicinal, herbácea, anual que presenta tallos erectos y ramificados, de abundantes ramas, hasta de un metro de altura. Las hojas de 2 a 5 cm son opuestas y juntas entre sí, largamente pecioladas, ovadas, lanceoladas y ligeramente dentadas, dan un olor floral a jazmín que se desprende por simple frotamiento; la epidermis contiene pelos secretorios. Las hojas son de color verde intenso, dispuestas en el tallo en forma opuesta, enteras, glabras, ovaladas, acuminadas, con bordes ligeramente dentados, peciolo de 1 a 2 cm de largo; lámina foliar de 2 a 7 cm y de 1 a 4 cm de ancho. Los valores pueden cambiar según la variedad. Las flores son blancas o ligeramente purpúreas, dispuesta en espigas alargadas, axilares en la parte superior del tallo o en los extremos de la rama. Los frutos, de forma ovoide, están formados por cuatro aquenios (tetraquenios) pequeños y lisos, indehiscentes, con el pericarpio separado del tegumento de la semilla, que pueden llegar a medir 1 mm de diámetro. La semilla es dura, pequeña y está envuelta en una sustancia mucilaginosa que se hincha en contacto con el agua. (Agexport, 2021).

Se ha señalado que en Venezuela se conocen 21 géneros de esta familia, con aproximadamente 80 especies distribuidas en todo el territorio nacional; es un grupo importante de plantas que contienen aceites esenciales ricos en diferentes constituyentes, tales como linalol, geraniol, citral, eugenol y timol, entre otros (Colivet *et al.*, 2011).

La albahaca es originaria del Sudeste Asiático y África Central donde se ha cultivado durante unos 5.000 años, pero actualmente es comercializada en varias regiones del mundo por su uso culinario y medicinal. Diferentes partes de la planta tales como sus hojas, semillas y flores son utilizadas como anti-espasmódico,

carminativos, digestivos, estomacales y en el tratamiento de dolores de cabeza. Al respecto, la planta de albahaca presenta múltiples componentes, como polisacáridos (manosa, galactosa, glucosa, fructosa, ramnosa, arabinosa y ácido galacturónico), pequeñas fracciones de proteínas y de lípidos; dentro de la composición de ácidos grasos se destaca el ácido graso α -linolénico, con un porcentaje del 69%, seguido del palmítico 16,2% y del linoleico 9,7%. Además, la albahaca se caracteriza por su alto valor nutricional, al poseer vitamina C, E, K, A, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9 y minerales como, Fe, Ca, Mg, P, Mn, Na, K y Zn. También, contiene varios metabolitos secundarios, entre ellos, compuestos bioactivos volátiles como el linalol, estragol, eucaliptol, tau-cadiol, metil eugenol, cariofileno, entre otros. (Farías *et al.*, 2022).

Dicho brevemente, los Extractos Acuosaos son productos hidrosolubles que contienen en forma mayoritaria principios activos polares, aunque también pueden encontrarse, en concentraciones menores, compuestos de polaridad intermedia o baja tales como son los aceites esenciales en el caso de drogas vegetales aromáticas. Las concentraciones de los principios activos en el extracto dependen de la cantidad que contenga la droga vegetal y del coeficiente de solubilidad de cada componente o principio activo en el medio en el que se encuentra. Estos extractos pueden ser utilizados en formulaciones de uso interno y de uso externo. (Proyar, 2021).

La Región Amazonas posee una gran diversidad de plantas medicinales, la albahaca (*Ocimum basilicum*) es una de ellas, la cual viene siendo usada en las comunidades de Bagua Chica, Colcamar, Lámud, y Longar por los agentes de la medicina tradicional para prevenir o curar: cólicos, para dilatar el cuello uterino en el parto, el calentamiento durante el parto y las infecciones del tracto urinario (ITU). Para la ITU, estas comunidades utilizan 3 ramas de albahaca en infusión y toman $\frac{3}{4}$ de taza. Esta planta es muy conocida por su aroma y por su uso como especia en la

cocina. Las hojas, flor y el tallo son sus partes más usadas. (Sakkas y Papadopoulou, 2017).

Las hojas de albahaca contienen aceite esencial en un porcentaje de 0,2-1 %, siendo los principales componentes linalol y estragol (metil chavicol), así como ocimeno, citral, alfa-pineno, canfeno, beta-pineno, geraniol y geranial. Los principales componentes del aceite de albahaca varían ampliamente, según los factores genéticos, los orígenes geográficos, el estado nutricional, las partes extraídas de la planta (tallo, hoja y flor) y los métodos de extracción. Sin embargo, debido a las variaciones de la composición de la planta y del aceite, se han descrito varios quimio tipos con los componentes básicos de linalool y estragol, ya sea solos o en forma de mezcla, así como en combinación con linalool y eugenol o estragol y metilo. eugenol. Por ejemplo, se han informado seis quimios tipos para *O. basilicum* y tres para *O. gratissimum*. Hay dos tipos principales de aceite de albahaca, que están muy extendidos en el comercio: el tipo Reunión, compuesto principalmente de estragol (80 %), y el tipo europeo procedente de Francia, Italia, Egipto y Sudáfrica, compuesto principalmente de linalool. (35-50%) y estragol (15-25%). (Sakkas y Papadopoulou, 2017).

La albahaca se ha utilizado durante mucho tiempo en la medicina popular como antiinflamatorio y analgésico y para el tratamiento de síntomas como cefalea, diarrea, estreñimiento, indigestión y tos. Tiene un efecto antioxidante, por lo que se ha utilizado como especia en la cocina, como aditivo en productos a base de tomate de alta acidez, y como un inhibidor de la contaminación por bacterias resistentes a los ácidos en alimentos, particularmente en productos de pastelería, productos cárnicos enlatados y embutidos.

En cuanto a la toxicidad del aceite de albahaca, se ha informado que el metil eugenol y el estragol son los responsables del daño citotóxico y la cancerogénesis, y

según el Consejo de Europa, el primero no debe ser detectable y el segundo no debe superar el límite de 0,05 % mg. /kg en productos alimenticios. (Sakkas y Papadopoulou, 2017).

Para el año 2014, en Perú, se realiza un estudio completamente aleatorizado con 4 tratamientos y 1 grupo testigo, con 3 repeticiones. Cuyo objetivo general fue determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, a fin de dar el sustento científico al conocimiento popular. Se trabajó en una muestra constituida por 15 placas Petri con cepas de *Escherichia coli* y material vegetal hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*) en fresco. Los resultados muestran un efecto positivo de la actividad antibacteriana para las dosis de 5g, 10g y 20g del extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, cuyo efecto antibacteriano para la dosis de 5g de extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) fue de 38 %, para 10g fue de 43.5 %, y para 20g fue de 46.5 %. En conclusión, el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* disminuye significativamente por efecto de las tres dosis (5g, 10g y 20g) de extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum*) procedente de la comunidad de Taquia de la Región Amazonas; siendo la dosis de 20g la que tuvo mayor actividad antibacteriana. (Calderón y Torres, 2014).

En conclusión, el descubrimiento de productos naturales de ingredientes que tienen actividad antibacteriana intrínseca y/o que pueden usarse en combinación con antibióticos estándar, puede resultar una alternativa viable para la producción de nuevos fármacos efectivos contra microorganismos multirresistentes. (Araújo *et al.*, 2016).

JUSTIFICACIÓN

Ocimum basilicum L. (Lamiaceae), también conocida como albahaca, es una hierba aromática utilizada ampliamente por su aroma distintivo y para dar sabor a los alimentos. Las hojas se pueden usar frescas o secas como especia. Los aceites esenciales extraídos de las hojas y flores frescas se pueden utilizar como aditivos aromáticos alimentarios y en productos farmacéuticos y cosméticos (Javanmardi *et al.* 2002).

La albahaca se ha utilizado durante mucho tiempo en la medicina popular como antiinflamatorio y analgésico y para el tratamiento de síntomas como cefalea, diarrea, estreñimiento, indigestión y tos. (Araújo *et al.*, 2016).

Muy poco se conoce sobre una producción de esta hierba aromática en Venezuela, aun cuando se puede observar en los mercados, como una de las especies más solicitadas por los consumidores. Su desarrollo bajo cultivo se ve limitado por diversos factores bióticos y abióticos que afectan el logro de buenos rendimientos y un producto de buena calidad; tales limitaciones podrían ser solventadas haciendo uso de técnicas de manejo adecuado, incluyendo la aplicación de compuestos que le permitan a la planta tolerar diversos estreses.

Actualmente no existen estudios en la localidad que demuestren que el *Ocimum basilicum* tenga acción antimicrobiana de amplio o corto espectro, por lo tanto, realizar este estudio beneficia en gran manera a la comunidad en pro a tener resultados positivos.

Por lo antes expuesto, en este trabajo se estudiará el mecanismo de acción antimicrobiano que pudiese llegar a poseer la planta de la albahaca contra bacterias

gram negativas mediante el método estandarizado de extractos acuosos y etanolicos, evaluando dosis y formas diferentes de aplicación.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Demostrar el efecto Antimicrobiano in vitro de extractos acuosos y etanolicos de *Ocimum basilicum* contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Objetivos Específicos:

- Estandarizar la obtención de decocción para la preparación del extracto acuoso de *Ocimum Basilicum*.
- Estandarizar la obtención de macerado para la preparación del extracto etanolico de *Ocimum Basilicum*.
- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto acuoso y etanolico de *Ocimum Basilicum* según concentración contra *Staphylococcus aureus*.
- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto acuoso y etanolico de *Ocimum Basilicum* según concentración contra *Pseudomonas aeruginosa*.
- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto acuoso y etanolico de *Ocimum Basilicum* según concentración contra *Escherichia coli*.

METODOLOGÍA

Tipo de Estudio.

El estudio será de tipo Experimental con un diseño Multifactorial.

Recolección de la planta e identificación botánica:

Las hojas frescas de *Ocimum Basilicum* fueron recolectadas en el mes de octubre del año 2023 en el estado Bolívar, Ciudad Bolívar, municipio Angostura del Orinoco, Venezuela. La planta fue identificada por habitantes de la localidad, quienes la conocían y afirmaron que la usaban para fines medicinales, las especies de la planta la logramos identificar por el uso de un software denominado PlantNet, esta aplicación nos ayudó a confirmar que las hojas recolectadas eran pertenecientes a las especies en estudio del género *Ocimum* (albahaca), las mismas fueron transportadas al laboratorio a temperatura ambiente, sin desecar, exponer al sol o lavar hasta el momento de la extracción acuosa y etanólica.

Preparación del macerado para la obtención del extracto etanólico:

Las hojas de *Ocimum basilicum* recolectadas fueron sometidas a un proceso de lavado con agua corriente, a fin de eliminar cualquier impureza. Luego se enjuagaron con abundante agua destilada, se escurrieron y se secaron en estufa a 70°C durante 1 días. Posteriormente se procedió a la trituration foliar con las manos, obteniendo 30 g de hojas trituradas, el cual fue disuelto en 50mL de etanol al 96% en agitación continua por 72 horas.

De nuestra solución etanólica pura, de concentración conocida, se realizaron diluciones hasta 1/40, utilizando envases estériles para su conservación, se rotularon y se seleccionaron al azar para la posterior preparación de los discos de sensibilidad, entre ellas la solución pura y las diluciones 1/10; 1/20 y 1/40.

Preparación de la decocción para obtención del extracto acuoso:

Las hojas de *Ocimum basilicum* fueron lavadas con agua destilada previamente a su preparación. El extracto se preparó con las hojas frescas, y se extrajo por decocción con 30 gr de hojas de la planta y 500 ml de agua destilada, en un matraz de Erlenmeyer durante 15 min a 100°C, para obtener los extractos acuosos de hojas de *Ocimum basilicum*. El método de extracción fue seleccionado en base a la literatura que indica que es una de las principales formas de preparación en la medicina popular. Los extractos acuosos obtenidos después de la filtración, se reservó en un envase estéril en la nevera de 14 a 24 °C grados y se medirá el pH con papel tornasol.

De igual manera, de nuestra solución pura, se realizaron diluciones hasta 1/40, utilizando envases estériles para su conservación, se rotularon y se seleccionaron al azar para la posterior preparación de los antibiogramas, entre ellas la solución pura y las diluciones 1/10; 1/20 y 1/40.

Confección de los discos:

Para la elaboración de los discos, también se usaron todos los implementos de bioseguridad para evitar cualquier tipo de contaminación (bata de laboratorio, guantes de látex y tapabocas) tal como lo establece las normas ISO 15189 2007 en su apartado 5.3 “Instalaciones y condiciones ambientales”.

Fueron seleccionados discos de sensibilidad vencidos, los cuales se lavarán 3 veces con agua destilada y se llevarán a la autoclave a 1.5 libras por 15 minutos, este proceso se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología y parasitología “Sócrates medina”, lugar que posee las condiciones controladas e idóneas de humedad y temperatura. Después de este proceso se llevaron al horno por 24 horas para secar por completo los discos y así poder inactivar por totalmente los antibióticos de estos discos (López y Mejías, 2023).

En una cámara de flujo, se prepararon 25 discos con la solución madre y cada dilución, cada disco será impregnado respectivamente con 25 λ de cada una de las soluciones, luego se llevarán a la estufa a 35 °C por 24 horas hasta secarse.

Control de calidad:

Se realizó una inspección visual para el control de calidad de los discos, verificando la forma, el diámetro y la cantidad de hebras de papel, rechazando cualquier disco que presente anomalías como mal corte o rasgaduras y no pudieran cumplir con la función para la cual fueron diseñados. Los discos rechazados serán descartados.

Los discos aceptados se dispusieron de manera ordenada en placas de Petri, se taparon con cinta de comprobación de esterilidad teniendo en cuenta la manera de colocar los discos dentro de las placas de Petri, se ubicaron de forma que permita contarlos y de esa manera tener mayor control. Luego de que sean ordenados se esterilizarán con calor seco a la autoclave tipo estufa a 140 °C por un lapso de 2 horas.

Preparación de los discos de sensibilidad:

Fueron seleccionadas al azar la solución pura y las diluciones 1/10; 1/20; 1/40, para la posterior preparación de los discos de sensibilidad.

Una vez preparada la dilución sobre los discos estériles y luego que estos perdieran el calor de la estufa, se impregno cada papel con la solución, formándose entonces los discos de sensibilidad. Se mantuvo higienizado el espacio y se verificó el uso de los implementos de laboratorio, para así evitar cualquier tipo de contaminación cruzada y garantizar la calidad. Para llevar a cabo esta etapa se esterilizo la punta de una pinza, con el calor directo de la llama del mechero, la función de esta fue mover los discos, con el fin de acomodarlos en las placas de Petri a disposición.

Se utilizó una micropipeta calibrada, previamente graduada con la cantidad de solución requerida en función de la capacidad de absorción de cada disco, de igual manera se utilizaron puntas amarillas descartables para mayor precisión, debido a que la cantidad a descargar sobre los discos fue pequeña.

Primero se prepararon e identificaron 4 placas de Petri con las soluciones correspondientes de extracto etanólico, con la micropipeta con punta amarilla se tomó solución madre y se impregnaron los discos de la primera placa, luego se repitieron los pasos anteriores con las respectivas diluciones 1/10; 1/20; 1/40 y se vació sobre cada uno de los discos de las placas siguientes. Una vez que todos los discos del lote estaban impregnados, se procedió al secado por calor tapando las placas de Petri y envolviendo con papel film, luego fueron depositadas dentro de la estufa del laboratorio a temperatura controlada de 35 °C por 24 horas.

Al culminar el proceso de secado, se almacenaron los discos en la nevera a temperaturas 5 a 8 °C. Al momento de usarlos se debió dejar reposar tapados fuera de la nevera, hasta llegar a temperatura ambiente.

Para llevar a cabo los ensayos en donde se estudió la reproducibilidad en los discos de sensibilidad elaborados, se prepararon previamente los insumos. Entre ellos, las placas de Petri servidas con el medio de cultivo, agar Müller-Hinton, las cuales permanecieron preservadas en refrigeración a una temperatura no mayor a 15°C.

Preparación de Agar:

Para realizar el estudio del antibiograma existen varios métodos, pero el estandarizado y que usaremos en el presente trabajo es el método por difusión de Agar, mejor conocido como método de Kirby- Bauer, donde el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) lo recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. (Picazo, 2000).

En el método de Kirby Bauer, el microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban por 16-18 horas a 35-37°C. Durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al germen en estudio. El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) de acuerdo al (NCCLS), (Aulacio, 2002).

Discos de antibióticos, son discos de papel filtro, los cuales están impregnados con una concentración definida de *Ocimum Basilicum* y estos fueron utilizados para la evaluación semicuantitativa de la susceptibilidad *in vitro* de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* Uro patógena a dichos agentes antimicrobi

Los halos de inhibición son aquella zona ubicada alrededor de un disco de antibiótico presente en una placa inoculada, en la cual no se presenta crecimiento bacteriano (IQUIMICAS, 2014). La medición de los halos se realiza por la parte trasera de la placa de Petri, previamente incubada, donde se procede a determinar el tamaño de la circunferencia que se encuentra alrededor del disco de antibiótico a través de un instrumento de medición (García, 2014).

En cuanto a la inoculación se procede a la introducción de un agente infeccioso en un organismo, o lugar, que carece del agente patógeno (Cerra *et al.*, 2013). Cultivar un microorganismo significa promover intencionalmente su desarrollo en un medio de cultivo predeterminado y condiciones establecidas.

Discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico:

Se inoculó sobre una placa de Müller Hinton una dilución del complejo *Staphylococcus aureus*, y usando una pinza estéril, se tomaron los discos impregnados con las diluciones, partiendo por la solución madre de extracto etanólico, se colocaron en el centro de cada placa, rotulada con su respectivo título de dilución, y se llevó a la estufa a una temperatura controlada de 35°C durante 24 horas y pasado el tiempo se observó si hay o no susceptibilidad.

Este procedimiento se repitió con las demás bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Discos de sensibilidad impregnados con extracto acuoso:

Se inoculó sobre una placa de Müeller Hinton una dilución del complejo *Staphylococcus aureus*, y usando una pinza estéril, se tomaron los discos impregnados con las diluciones, partiendo por la solución madre de extracto acuoso, se colocaron en el centro de cada placa, rotulada con su respectivo título de dilución, y se llevó a la estufa a una temperatura controlada de 35°C durante 24 horas y pasado el tiempo se observó si hay o no susceptibilidad.

Este procedimiento se repitió con las demás bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

RESULTADOS

El nombre de la planta fue identificado con el software PlantNet, donde se confirmó que eran auténticas hojas de *Ocimum Basilicum*, una planta herbácea, anual, hasta de 50cm de altura, muy aromática, tallo anguloso y muy ramificado. Las hojas de fueron recolectadas en el mes de diciembre en el sector Barrio Ajuro, Ciudad Bolívar, municipio Angostura del Orinoco, Estado Bolívar, Venezuela. Posteriormente, se transportaron al laboratorio a temperatura ambiente en un recipiente estéril hasta el momento de la preparación de los extractos.



Preparación de la decocción.

Se preparó con hojas frescas de la planta, que fueron previamente lavadas con agua destilada. Utilizando 30 gramos de las hojas y 500 ml de agua destilada en un matraz de Erlenmeyer sobre una plancha de calentamiento, durante 15 min a 100°C; se obtuvo después de ese tiempo, 480ml de extracto acuoso de las hojas de *Ocimum Basilicum*.



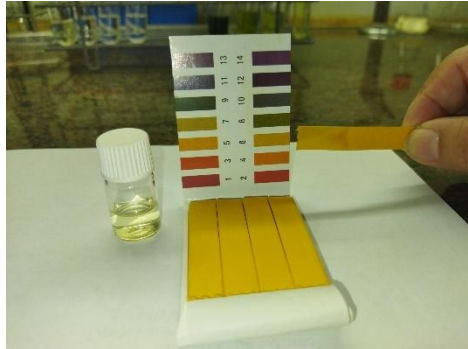
Preparación del macerado.

Se preparó con 30 gr de hojas previamente trituradas, se agregaron con 50 ml de etanol al 96% dentro un envase hermético, forrado de papel aluminio para evitar la exposición a la luz solar. Esto se dejó macerar por 72 horas, con agitación continua, para obtener posteriormente el extracto etanólico de *Ocimum Basilicum*. Luego este extracto se separó en tubos de ensayo y se centrifugó para utilizar el sobrenadante en la preparación de las diluciones respectivas.



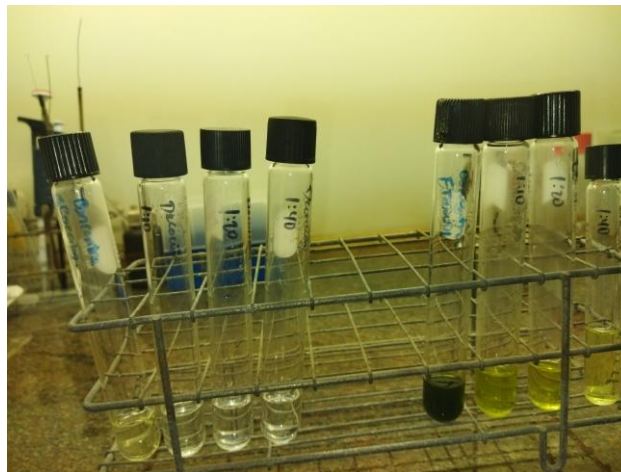
Medición del pH de los extractos.

El pH de ambos extractos fue medido con papel tornasol, dando resultado de 7 para el extracto acuoso y 4 para el extracto etanólico.



Preparación de las distintas diluciones a partir de la solución madre.

Se prepararon diluciones de los siguientes títulos 1/10; 1/20 y 1/40 para ambos extractos.



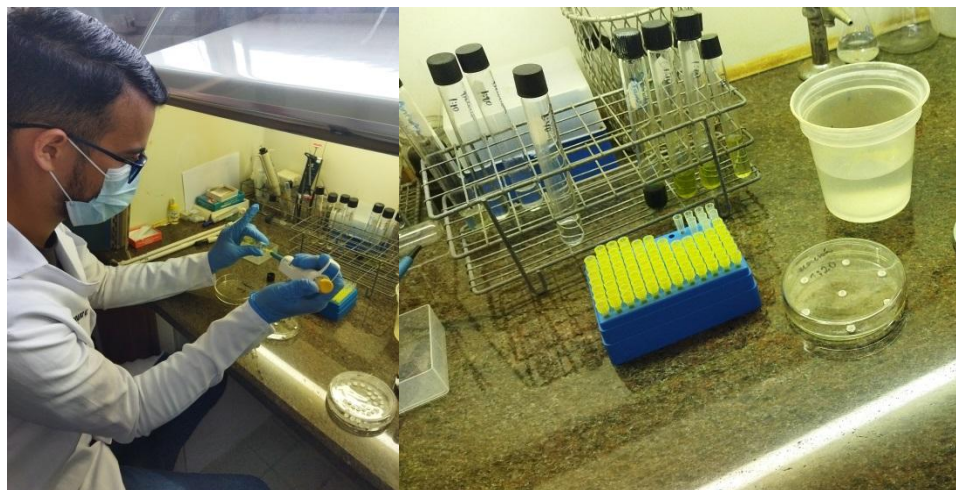
Esterilización y auto clavado de los discos de sensibilidad

Se lavaron los discos 3 veces con agua destilada y se llevó a la autoclave dentro de una placa de Petri. Para asegurar la inactivación de esos antibióticos y correcto secado de los discos se llevaron al horno.



Impregnación de los discos de sensibilidad.

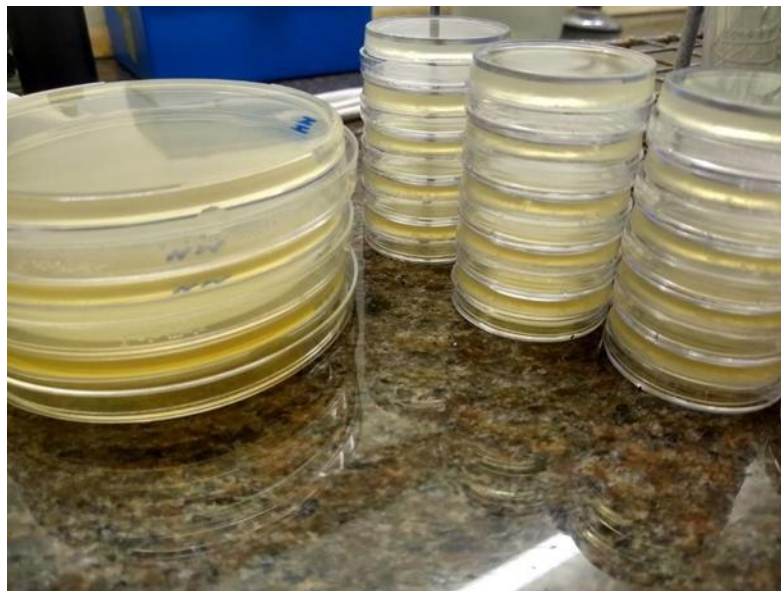
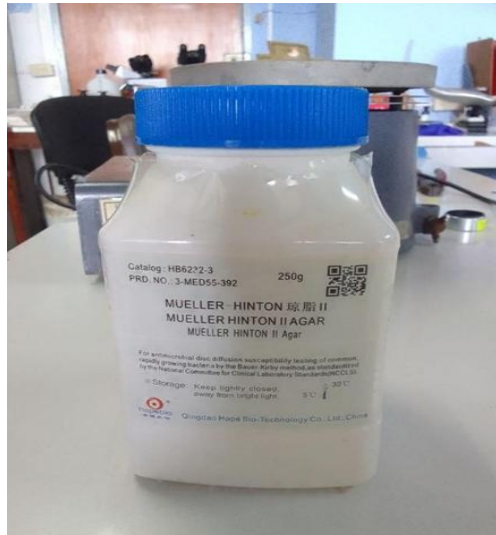
Se impregnaron 40 discos de sensibilidad con 25 μ l de la solución madre y de cada dilución correspondiente.



Inoculación en agar.

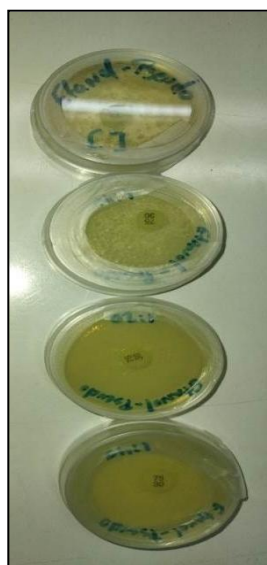
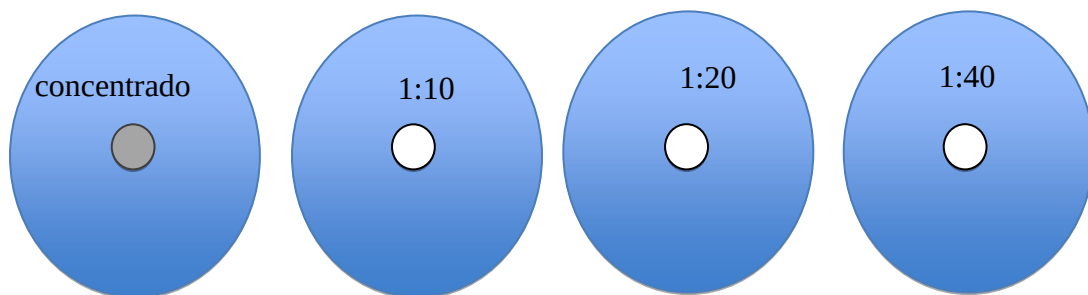
Se preparó agar Mueller Hinton con agar y agua destilada, se llevó a autoclave y al salir teniendo una temperatura de 51 C, se vertió sobre las placas y se dejó reposar

hasta solidificar. Una vez solido se inoculo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*



Antibiogramas por discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico de *Ocimum Basilicum*.

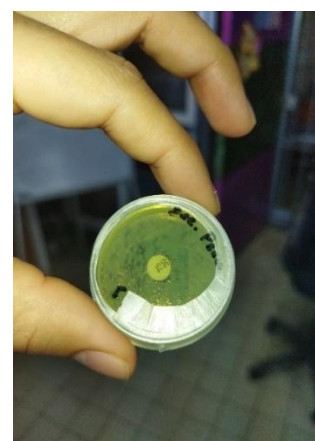
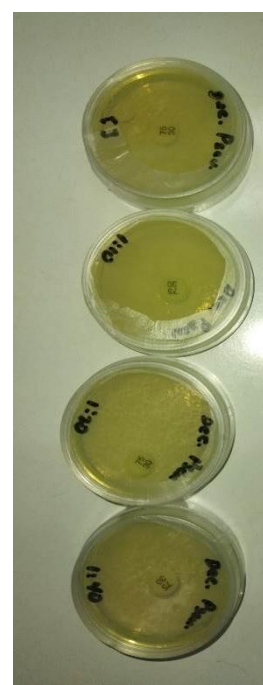
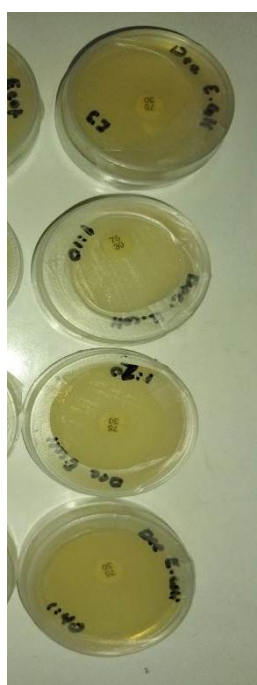
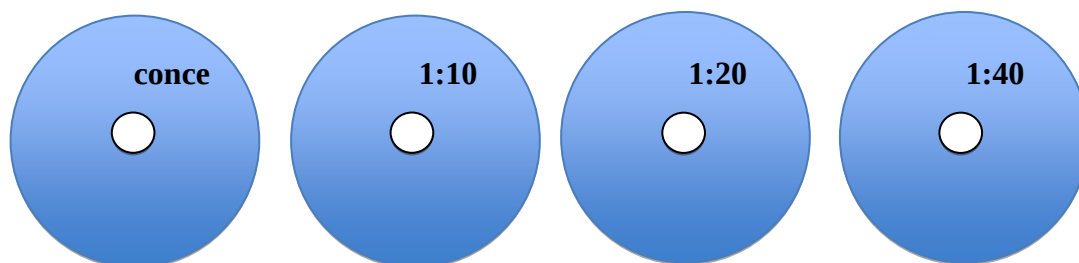
Se inoculó en 12 placas Müller-Hinton una dilución a 0,5 escala de McFarland de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, y se realizaron los antibiogramas usando 4 discos diferentes impregnados con el extracto etanólico puro y sus diferentes diluciones 1:10, 1:20, 1:40, se dejaron durante 16 horas para *Staphylococcus aureus* y 20 horas para *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Al pasar este tiempo se observó un desarrollo normal de las bacterias, y no hubo inhibición en las distintas soluciones de *Ocimum Basilicum*.





Extracto acuoso de *Ocimum Basilicum* directo sobre el agar con el asa calibrada.

Se inoculó en total sobre 12 placa de Müeller Hinton, una dilución de 0,5 escala de McFarland de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y usando un asa calibrada nueva se tomó 10 λ de cada solución, partiendo por la solución madre y las siguientes diluciones 1:10, 1:20 y 1:40, en el centro de la placa como si se tratara de discos de sensibilidad, se llevó a la estufa a una temperatura controlada de 35°C durante 16 horas para *Staphylococcus aureus* y 20 horas para *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, pasado el tiempo se observó que no hubo acción antimicrobiana.



DISCUSION

Antibiogramas con Extracto Etanólico:

Zonas de inhibición:

Los antibiogramas realizados con discos de sensibilidad impregnados con el extracto etanólico de *Ocimum basilicum* revelan conocimientos críticos. Se analizo las zonas de inhibición observadas para cada cepa bacteriana en diferentes diluciones (1:10, 1:20, 1:40; En donde, se observó un crecimiento espontaneo de cada una de las cepas bacterianas a estudiar y no se halló variación en el tamaño de las zonas, lo que indica no haber efectos antimicrobianos.

Respuesta de *Staphylococcus aureus* ante el extracto etanolico:

Al explorar la cepa de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico mediante el macerado, no se evidencio acción antimicrobiana ante los discos impregnados con las diluciones pertinentes (1:10, 1:20, 1:40). En cambio, por parte de Frías y Olano (2022) el resultado que obtuvieron al tener posibilidades de manejar el % de concentraciones del extracto etanólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) siendo estas concentraciones del 100%, 75% y 50%, presentan actividad antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus*, donde al 50% obtuvo halos de inhibición sobre *Staphylococcus aureus*, de 9,93+10,33 mm, al 75% obtuvo halos de inhibición sobre *Staphylococcus aureus*, de 11,10+11,48 mm y al 100% obtuvo halos de inhibición sobre *Staphylococcus aureus*, de 13,27+13,64 mm. (Frías y Olano, 2022).

Respuestas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* ante el extracto etanólico:

Al explorar la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* al extracto etanólico mediante el macerado, no se evidencio inhibición ante los discos impregnados con las diluciones pertinentes (1:10, 1:20, 1:40). Caso contrario para el estudio realizado por Rivas *et al.*, (2015) en el cual determinaron la composición química del aceite esencial (AE) del *Ocimum basilicum*, por medio de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM), y se evaluó su actividad antibacteriana. El AE lo obtuvieron por hidrodestilación, posteriormente se efectuó un análisis por CG-EM. La actividad antibacteriana se evaluó utilizando cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* y *Staphylococcus aureus*. La acción antibacteriana la cuantificaron midiendo el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de discos Whatman No 5 impregnados con el AE (50 mg/mL). La concentración inhibitoria mínima (CIM), fue determinada por dilución del AE en el intervalo comprendido entre 50 y 200 µg/mL. Fueron identificados 14 constituyentes, representando el 77,22% del aceite. El isoestragol (58,33%), humuleno (5,71%), eucaliptol (4,09%), β-linalol (2,71%), cis-β-ocimeno (2,00%) y alcanfor (1,63%) fueron los mayores compuestos volátiles. El aceite mostró actividad bacteriostática leve contra todos los microorganismos ensayados, presentando halos de inhibición entre 8 a 12 mm de diámetro, mientras que la CIM estuvo entre 100 – 200 µg/mL. Las bacterias gran positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*), fueron las más susceptibles al AE.

La actividad antibacteriana del extracto de albahaca puede ser atribuida en parte a la acción del isoestragol (anetol) entre otros compuestos. Pino et al (2012), sobre algunas de las bacterias, obtuvieron resultados similares al reportar que el aceite esencial de anís (*Pimpinella anisum*), está compuesto fundamentalmente por anetol (97,76%) y el resto de los componentes identificados fueron monoterpenos y

sesquiterpenos. Además, mostró actividad antibacteriana frente a *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. (Pino et al., 2012).

Por otra parte, De et al (2011), aislaron al anetol de un extracto de anís estrellado (*Illicium verum Hooker*) y evaluaron su actividad antibacteriana obteniendo valores de CMI en el siguiente orden: *S. aureus* > *E. coli* > *B. subtilis*, e indicaron que durante el aislamiento del anetol, otras fracciones también presentaron componentes secundarios con alguna actividad antimicrobiana, probablemente no debida al anetol. (De et al., 2011).

Asimismo, Runyoro et al (2010) y Beltrán et al (2013), reportaron que el linalol y el eucaliptol se caracterizan por presentar actividad antimicótica, antiséptica y antimicrobiana, especialmente a nivel de las bacterias, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (Runyoro et al., 2010) y (Beltrán et al., 2013).

Extracto acuoso en agar.

Falta de susceptibilidad:

En la observación de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* no fueron susceptibles al extracto acuoso. En el cual se observó un crecimiento normal de cada una de las cepas bacterianas a estudiar, no se halló variación en el tamaño de las zonas, lo que indica no haber efectos antimicrobianos. Por otra parte, Calderón y torres (2014) determinaron el efecto antibacteriano del extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum l.*) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, a fin de dar el sustento científico al conocimiento popular. trabajaron en una muestra constituida por 15 placas petri con cepas de *Escherichia coli* y material vegetal hojas de albahaca (*Ocimum basilicum l.*) en fresco. Los

resultados mostraron un efecto positivo de la actividad antibacteriana para las dosis de 5g, 10g y 20g del extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, cuyo efecto antibacteriano para la dosis de 5g de extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) fue de 38 %, para 10g fue de 43.5 %, y para 20g fue de 46.5 %. Donde luego concluyeron que el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* disminuye significativamente por efecto de las tres dosis (5g, 10g y 20g) de extracto acuoso de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) procedente de la comunidad de Taquia de la Región Amazonas; siendo la dosis de 20g la que tuvo mayor actividad antibacteriana. (Calderón J y Torres E, 2014).

Efectos dependientes de la concentración:

Teniendo en cuenta que es complicado controlar la cantidad de principio activo que se extrae por decocción, macerado y los mecanismos potenciales de estas actividades farmacológicas, ya que no se han explorado completamente, en esta investigación se pretendió reproducir en condiciones controladas y de manera estandarizada la extracción etanólica y acuosa mediante la decocción y maceración de las hojas de *Ocimum basilicum*, dado que es la forma popular de preparación de la planta por las personas en sus hogares, sin realizar extracciones ni procesos industriales, para evidenciar si la forma popular de consumo poseía efectos antimicrobianos *in vitro*.

Comparación entre el extracto etanólico y acuoso:

Compuestos bioactivos:

Extracto etanólico:

La extracción potencial de compuestos bioactivos lipofílicos en el extracto etanólico pueden incluir aceites esenciales, compuestos fenólicos y flavonoides conocidos por sus propiedades antimicrobianas.

Es importante mencionar cómo el disolvente etanólico es eficaz para extraer una amplia gama de compuestos hidrófobos, donde el uso y capacitación adecuada para el procedimiento puede resultar con porcentajes positivos contribuyendo a la eficacia antimicrobiana observada.

Extracto acuoso:

En la extracción de compuestos hidrofílicos del extracto acuoso, como polisacáridos, glucósidos y otros componentes solubles en agua, teniendo en cuenta que estos compuestos pueden tener diferentes bioactividades en comparación con los del extracto etanólico.

Diferencias en la composición:

La elección del disolvente en el proceso de extracción desempeña un papel fundamental en la determinación de la composición de los compuestos bioactivos de los extractos. Comparando específicamente los extractos etanólico y acuoso de *Ocimum basilicum*.

Solubilidad de los compuestos:

Extracto etanólico:

El etanol es un disolvente eficaz para extraer compuestos lipofílicos (liposolubles), incluidos aceites esenciales, compuestos fenólicos (como el ácido rosmarínico) y otros constituyentes hidrofóbicos.

Los aceites esenciales, que a menudo contribuyen al aroma característico de la albahaca, contienen terpenos, monoterpenoides y sesquiterpenoides conocidos por sus propiedades antimicrobianas.

Extracto acuoso:

El agua es particularmente eficaz para extraer compuestos hidrófilos (solubles en agua) como polisacáridos, glucósidos y ciertas proteínas.

Los polisacáridos pueden incluir carbohidratos complejos con propiedades inmunomoduladoras potenciales, pero generalmente están menos asociados con efectos antimicrobianos directos.

Extracción de compuestos fenólicos:**Extracto etanólico:**

Los compuestos fenólicos, como los flavonoides y los polifenoles, suelen ser abundantes en los extractos etanólicos debido a la capacidad del disolvente para romper las paredes celulares y liberar estos compuestos.

Los flavonoides, conocidos por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, contribuyen significativamente a la bioactividad de los extractos etanólicos.

Extracto acuoso:

Aunque algunos compuestos fenólicos pueden extraerse en la fase acuosa, la concentración puede ser menor en comparación con el extracto etanólico debido a diferencias en la solubilidad.

Sensibilidad a la temperatura:**Extracto etanólico:**

El uso de etanol permite la extracción a temperaturas más altas, facilitando la liberación de compuestos sensibles al calor. Esto es especialmente relevante para la extracción de aceites esenciales con componentes volátiles.

Extracto acuoso:

La extracción con agua se realiza generalmente a temperaturas más bajas para evitar la pérdida de compuestos volátiles. Esto puede limitar la extracción de ciertos compuestos bioactivos volátiles en comparación con el método etanólico.

Actividad antioxidante y antimicrobiana:**Extracto etanólico:**

Es probable que el extracto etanólico presente potentes actividades antioxidantes y antimicrobianas debido a la presencia de compuestos bioactivos como polifenoles y aceites esenciales.

Extracto acuoso:

Aunque los extractos acuosos pueden contener algunos antioxidantes, la actividad antimicrobiana global puede ser comparativamente menor debido a la concentración potencialmente reducida de compuestos lipofílicos.

En resumen, la elección del disolvente influye profundamente en la composición de compuestos bioactivos de los extractos de *Ocimum basilicum*. La extracción etanólica enfatiza los compuestos lipofílicos con potentes propiedades antimicrobianas y antioxidantes, mientras que la extracción acuosa favorece los componentes hidrofílicos con potenciales efectos inmunomoduladores. Comprender estas diferencias permite optimizar el proceso de extracción para aplicaciones terapéuticas específicas.

RECOMENDACIONES

Optimización de los métodos de extracción:

Explorar diversas técnicas de extracción para optimizar el rendimiento de los compuestos bioactivos de *Ocimum basilicum*. Esto incluye investigar diferentes disolventes, temperaturas de extracción y duraciones de tiempo para mejorar la eficiencia de la extracción y, posteriormente, mejorar la eficacia antimicrobiana.

Identificación y aislamiento de compuestos activos:

Realizar nuevos estudios para identificar y aislar compuestos bioactivos específicos responsables de los efectos antimicrobianos observados. Esto proporcionará un enfoque más específico para comprender los mecanismos de acción y las posibles sinergias entre los compuestos.

Relaciones concentración-respuesta:

Investigar las relaciones concentración-respuesta de los extractos etanólicos y acuosos frente a diferentes cepas bacterianas. Establecer las concentraciones óptimas que presenten efectos antimicrobianos potentes al tiempo que mantienen la estabilidad y la consistencia a lo largo del tiempo.

Enfoques sinérgicos:

Explorar los posibles efectos sinérgicos de la combinación de extractos etanólicos y acuosos. Investigar si una combinación de compuestos lipofílicos e

hidrofílicos conduce a una actividad antimicrobiana más robusta, superando potencialmente los mecanismos de resistencia en las bacterias.

Estudios comparativos con antibióticos convencionales:

Realizar estudios comparativos entre extractos de *Ocimum basilicum* y antibióticos convencionales. Evaluar las posibles sinergias o efectos aditivos al combinar extractos de hierbas con antibióticos, con el objetivo de mejorar la eficacia global y combatir la resistencia a los antibióticos.

Normalización de extractos:

Trabajar en la estandarización de los protocolos de extracción para garantizar la coherencia en la composición de los compuestos bioactivos. Esto es crucial para desarrollar fórmulas herbales fiables con efectos antimicrobianos predecibles.

Exploración de otros patógenos:

Ampliar el alcance de la investigación para incluir un espectro más amplio de patógenos. Investigar los efectos antimicrobianos de los extractos de *Ocimum basilicum* contra infecciones víricas y fúngicas para explorar su potencial como agente antimicrobiano versátil.

CONCLUSIÓN

Después de analizar los resultados de la investigación, se concluye que el extracto acuoso y etanólico de *Ocimum Basilicum* mediante el método de decocción y macerado no demuestra ninguna actividad anti microbiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. A pesar de las propiedades prometedoras que se le atribuyen a dicha hoja en otros aspectos de la salud, la obtención de estos extractos específicos no presenta efectos antimicrobianos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Delgado Súmar, H. E. 2014. Diciembre. *La Medicina Tradicional*. Edu.ec. Recuperado el 17 de octubre de 2023. [En línea]. Disponible: <https://www.flacsoandes.edu.ec/sites/default/files/%25f/agora/files/La%20Medicina%20Tradicional.%20Runamanta%201999..pdf> [Septiembre, 2023].

Etnomedicina. (2022, Octubre 30). <https://espanol.libretexts.org/@go/page/149258>.

Dr. Javier Jara, PhD. Irene Wood, Dra. Noelia Speranza. 2021. Fitomedicamentos: lugar en la terapéutica desde la mirada farmacológica. [En línea]. Disponible: https://www.boletinfarmacologia.hc.edu.uy/index.php?option=com_content&task=view&id=306&Itemid=91. [Septiembre, 2023].

Benítez I.J., Marcè M. 2019. Julio. La historia de la Medicina Naturista. [En línea]. Disponible: <https://institut-igem.com/articulos/la-historia-de-la-medicina-naturista/>. [Octubre, 2023].

Carlos Francisco Eyzaguirre Beltroy. 2017. Agosto. El proceso de incorporación de la medicina tradicional y alternativa y complementaria en las políticas oficiales de salud. [En línea]. Disponible: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880047/el-proceso-de-incorporacion-de-la-medicina-tradicional-y-altern_CDkDGRx.pdf. [Octubre, 2023].

Organización mundial de la salud. 2013. Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional 2014-2023. [En línea]. Disponible: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf [Septiembre, 2023].

Silvia Giono-Cerezo, José I. Santos-Preciado, María del Rayo Morfín-Otero, Francisco J. Torres-López, María Dolores Alcántar-Curie. 2020. Marzo. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. [En línea]. Disponible: <https://www.scielo.org.mx/pdf/gmm/v156n2/0016-3813-gmm-156-2-172.pdf>. [Octubre, 2023].

Juan-Ignacio Alós. 2014. Diciembre. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. [En línea]. Disponible: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-resistencia-bacteriana-antibioticos-una-crisis-S0213005X14003413>. [Octubre, 2023].

Calderón Rojas G, Aguilar Ulate I. 2016. Diciembre. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. [En línea]. Disponible: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>. [Octubre, 2023].

Farías C., Cisternas C., Morales G., Muñoz L. & Valenzuela R. 2022. Agosto. Albahaca: Composición química y sus beneficios en salud. [En línea]. Disponible: <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182022000500502>. [Septiembre, 2023].

Agexport. 2021. Noviembre. Guía de cultivo de la albahaca. [En línea]. Disponible: <https://www.export.com.gt/documentos/guia-de-cultivos/guia-de-cultivo-de-albahaca.pdf>. [Octubre, 2023].

Colivet J.; G. Marcano G.; G. Belloso; D. Brito; E. Gómez E. 2011. Julio. Efecto antimicrobiano de extractos etanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. [En línea]. Disponible: <https://oaji.net/articles/2017/4924-1495373137.pdf> [Octubre, 2023].

Laboratorio Proyar. 2021. Extractos acuosos. [En línea]. Disponible: <https://proyar.com.ar/fitoterapia/extractos-acuosos>. [Octubre, 2023].

Sakkas H, Papadopoulou C. 2017. Marzo. Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils. J. Microbiol. Biotechnol. 2017;27:429-438. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.4014/jmb.1608.08024> [Septiembre, 2023].

Calderon Mestanza J. Torres Armas E. 2014. Junio. Efecto del extracto acuoso de la *Ocimum basilicum* l. (albahaca) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*. [En línea]. Disponible: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4814652.pdf> [Septiembre, 2023].

Araújo V., Pereira J., Freire H., Ramos A., Melo H., Nogueira L & Oliveira E. 2015. Octubre. *Ocimum basilicum*: Antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance, *Pharmaceutical Biology*, 54:5, 863-867, DOI:

10.3109/13880209.2015.1088551. [En línea]. Disponible: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.3109/13880209.2015.1088551?scroll=top&needAccess=true> [Octubre, 2023].

Manzo G., Flores H., Padilla M. 2014. Junio. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. [En línea]. Disponible: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf> [Diciembre, 2023].

García E., González R., Schettino P. 2014. Febrero. Características generales del *Staphylococcus aureus*. [En línea]. Disponible: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>. [Diciembre, 2023].

Bush L., Schmidt C., Pertejo M. 2023. Mayo. Infecciones por estafilococos. [En línea]. Disponible: <https://www.msdmanuals.com/es-ve/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-estafilococos>. [Diciembre, 2023].

Centro de Enfermedades Contagiosa. 2009. Marzo. Signos y síntomas de infección de la piel por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM).[Enlínea].Disponible:https://www.cdc.gov/mrsa/pdf/MRSA_Broch_SPAN.pdf . [Diciembre, 2023].

Zarza V., Mordani S., Maldonado A., Hernández D., Gálvez S., López R. 2019. Abril. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. [En línea].

Disponible: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182019000200180. [Diciembre, 2023].

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. 2022. Febrero. *Pseudomonas aeruginosa*. [En línea]. Disponible: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/pseudomonas-aeruginosa#bibliografia0>. [Diciembre, 2023].

Spickler Rovid A. 2009. Marzo. *E.Coli* enterohemorrágica. [En línea]. Disponible: <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/ecoli-es.pdf>. [Diciembre, 2023].

Organizacion Mundial de la Salud. 2018. Febrero. *E. coli*. [En línea]. Disponible: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>. [Diciembre, 2023].

López Sanz L. 2021. Junio. Estudio de factores de virulencia en *Escherichia coli*. [En línea]. Disponible: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/48444/TFG-M-N2387.pdf?sequence=1>. [Diciembre, 2023].

Frias M., Olano D. 2022. Mayo. Determinar la actividad antimicrobiana In vitro del extracto etanólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) frente *Staphylococcus aureus* – Chiclayo. 2022. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/834>. [Enero, 2024].

Calderón J., Torres E. 2014. Junio. Efecto del extracto acuoso de la *Ocimum basilicum* l. (albahaca) en el crecimiento bacteriano de

Escherichia coli. [En línea]. Disponible: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4814652>. [Enero, 2024].

Rivas, K., Rivas, C., Gamboa, L. 2015. Julio. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). [En línea]. Disponible: <https://www.redalyc.org/pdf/904/904444727006.pdf>. [Enero, 2024].

PINO, O; SÁNCHEZ, Y; ROJAS, M; ABREU, Y; CORREA, T (2012). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L. Revista de Protección Vegetal. Vol. 27, No 3, 181-187. [En línea]. Disponible: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000300007. [Marzo, 2024].

DE, M; DE, K; MUKHOPADHYAY, R; MIRÓ, M; BANERJEE, A.B (2001). Actividad antimicrobiana de *Illicium verum* Hook. f. Ars Pharmaceutica. Vol. 42, No 3-4, 209-220. [En línea]. Disponible: <https://www.ugr.es/~ars/abstract/42-209-01.pdf>. [Marzo, 2024].

BELTRÁN, M; CANTILLO, M; VIVAS, A (2013). Actividad antibacteriana de los aceites obtenidos de *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom*, *O. album*, *O. thyriflorum*, para uso potencial en fitocosmética. Revista de Investigaciones Andina. Vol. 27, No 15, 798-810. [En línea]. Disponible: <https://www.redalyc.org/pdf/2390/239028092006.pdf>. [Marzo, 2024].

RUNYORO, D; NGASSAPA, O; VAGIONAS, K; ALIGIANNIS, N; GRAIKOU, K; CHINO, I (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. *Food Chemistry*. Vol. 119, No 1, 311-316. [En línea]. Disponible:<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814609008401>. [Marzo, 2024].

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE <i>OCIMUM BASILICUM</i> CONTRA CEPAS DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> , <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> Y <i>ESCHERICHIA COLI</i> UROPATÓGENA.
---------------	--

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CVLAC / E MAIL
Casares Santiago, Felix Ramon	CVLAC: 26.203.199 E MAIL: felixcasares18@gmail.com
Zambrano Varón, Luis Alejandro	CVLAC: 26.269.001 E MAIL: luiszambrano242@gmail.com

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Ocimum basilicum.

Staphylococcus aureus.

Pseudomonas aeruginosa.

Escherichia coli.

Medicina tradicional

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

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

RESUMEN (ABSTRACT):

INTRODUCTION: The human being since its origin has used natural medicine as a tool to seek calm to the affections that have existed throughout history and with it in the course of time has given endless benefits to humanity. According to OMS, traditional medicine is an important and often underestimated part of health services. Basil has long been used in folk medicine as an anti-inflammatory and analgesic and for the treatment of symptoms such as headache, diarrhea, constipation, indigestion and cough. The discovery of natural product studies with ingredients that have intrinsic antibacterial activity and/or can be used in combination with standard antibiotics may prove to be a viable alternative for the production of new drugs effective against multidrug-resistant microorganisms.

OBJECTIVE: To demonstrate the in vitro antimicrobial effect of aqueous and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* strains.

METHODS: Experimental study with a multifactorial design.

RESULTS: Upon exposure of the aqueous and ethanolic extract of *Ocimum Basilicum* and its different dilutions 1:10, 1:20, 1:40, for 24 hours at their ideal temperatures, normal bacterial growth was observed, and no inhibition-resistance in the different solutions of *Ocimum Basilicum* respectively.

CONCLUSIONS: The aqueous and ethanolic extract of *Ocimum Basilicum* by the decoction and macerate method did not show antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. Despite the promising properties attributed to this leaf in other aspects of health. Considering that it is complicated to control the amount of active principle extracted by decoction, maceration and the potential mechanisms of these pharmacological activities, since they have not been fully explored, in this research it was intended to reproduce under controlled conditions and in a standardized way the ethanolic and aqueous extract by decoction and maceration of the leaves of *Ocimum basilicum*, since it is the popular way of preparation of the plant by people in their homes.

KEY WORDS: *Ocimum basilicum*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, Traditional medic

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU(x)	JU
Lcdo. Iván Darío Amaya	CVLAC:	12.420.648			
	E_MAIL	iamaya@udo.edu.vo			
	E_MAIL				
Lcdo. Fernando Linares	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	24.850.713			
	E_MAIL	fernando.lch17@gmail.com			
	E_MAIL				
Dra. Ixora Requena	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	10.062.328			
	E_MAIL	ixorarequena@gmail.com			
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2024	03	20
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis. Efecto antimicrobiano in vitro de extractos Acuósos y Etanólicos de <i>Ocimum basilicum</i> contra cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Seudomonas Aeruginosa</i> y <i>Escherichia coli</i> Uropatógena.	MS.word

ALCANCE:

ESPACIAL: Escuela de Ciencias de la Salud "DR. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA", Laboratorio de Parasitología

TEMPORAL: 10 años

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Licenciatura en Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO:

Departamento de Bioanálisis

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

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

Estimado Profesor Martínez:

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

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

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *[Firma]*
FECHA 05/8/09 HORA 5:20

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

[Firma]
JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario



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

JABC/YOC/marujá

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



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

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

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

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

AUTOR(ES)

Felix Casares
Br. Casares Santiago Felix Ramon
CL26203199
AUTOR

Luis Zambrano
Br. Zambrano Varón Luis Alejandro
C.I. 26269001
AUTOR

JURADOS

[Signature]
TUTOR: Prof. IVÁN AMAYA
C.I.N. 1292069

EMAIL: IAAMYN@udo.edu.ve

[Signature]
JURADO Prof. IXORA REQUENA
C.I.N. 19062328

EMAIL: ixorarequena@gmail.com

[Signature]
JURADO Prof. FERNANDO LINARES
C.I.N. 24952713

EMAIL: fernando.Lch17@gmail.com

P. COMISIÓN DE TRABAJO DE GRADO



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS

Avenida José Méndez o/c Columbo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.
Teléfono (0285) 6324976