



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**INHIBICIÓN BACTERIANA CON EXTRACTOS ETANÓLICOS Y  
ACEITES ESENCIALES DE HOJAS DE *Artemisia absinthium*  
(AJENJO) SOBRE CEPAS DE *Neisseria gonorrhoeae* AISLADAS  
EN EL CENTRO DE REFERENCIA DE INFECCIONES DE  
TRANSMISIÓN SEXUAL DE LA RED DE SAN ROMÁN, 2024**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. SHUMARA MISHAEL MACHACA CCACCA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGIA Y  
LABORATORIO CLÍNICO**

**PUNO - PERÚ**

**2024**



## Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**Inhibicion bacteriana con extractos etanolicos y aceites esenciales de hojas de Artemisia abisithium**

AUTOR

**Shumara Mishael Machaca Ccacca**

RECuento DE PALABRAS

**20998 Words**

RECuento DE CARACTERES

**117482 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**103 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**2.7MB**

FECHA DE ENTREGA

**Sep 10, 2024 7:44 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Sep 10, 2024 7:45 PM GMT-5**

### ● 10% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 9% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 5% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

Universidad  
Nacional  
del Altiplano



Firmado digitalmente por CAVERO  
ZEGARRA Diana Elizabeth FAU  
20145496170 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 10.09.2024 19:53:01 -05:00

Resumen



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

INHIBICIÓN BACTERIANA CON EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITES  
ESENCIALES DE HOJAS DE *Artemisia absinthium* (AJENJO) SOBRE CEPAS DE  
*Neisseria gonorrhoeae* AISLADAS EN EL CENTRO DE REFERENCIA DE  
INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL DE LA RED DE SAN ROMÁN, 2024

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. SHUMARA MISHAEL MACHACA CCACCA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

APROBADA POR:

PRESIDENTE:

Dr. DANTE JONI CHOQUEHUANCA PANCLAS

PRIMER MIEMBRO:

Dra. YOURI TERESA DEL CARPIO CONDORI

SEGUNDO MIEMBRO:

M.Sc. JUAN PABLO HUARACHI VALENCIA

DIRECTOR / ASESOR:

Mg. DIANA ELIZABETH CAVERO ZEGARRA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 13/09/2024

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLINEA: Diagnostico y Epidemiologia



V<sup>o</sup>B<sup>o</sup> Dra. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS  
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN-FCCBB



## DEDICATORIA

A Dios por estar en cada momento de alegría y de desafío, su amor infinito y por brindarme sabiduría divina que han sido mi refugio en las tormentas y mi fuerza en los momentos de debilidad.

A mis queridos padres expresando mi eterna gratitud por su amor incondicional, su constante protección y su constante sacrificio que han sido la luz que ilumina mi camino en cada paso que doy.

A aquellos amigos y familiares que siempre han estado a mi lado, en los buenos y en los malos momentos, les dedico estas palabras con todo mi corazón. Su apoyo incondicional, su ánimo y su compañía han sido un regalo invaluable en mi vida.

**Shumara Mishael Machaca Ccacca**



## AGRADECIMIENTOS

Deseo manifestar mi profundo agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado de alguna forma en la elaboración de este trabajo de investigación:

A la Universidad Nacional del Altiplano, por ser una casa de estudio líder de la región Puno que me dio la bienvenida y las oportunidades que me ha brindado.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas que con sus conocimientos y anécdotas motivaron mis retos y el camino de formación profesional.

A mi asesor de tesis Dra. Diana Cavero Zegarra y al Dr. Juan José Pauro Roque por haberme brindado su capacidad y guiado en el desarrollo de mi trabajo de investigación y a los distinguidos miembros del jurado por brindarme su valioso tiempo y orientación.

También quiero agradecer al Lic. Yhony Rafael Coaquira Toro por guiarme en el proceso y orientarme en el camino de mi ejecución del proyecto. A los Biólogos del Instituto Nacional de Salud, al Blgo. Juan Ramírez Illescas, Blga. Faviola Valdivia Guerrero y Blga. Maritza Mayta Barrios por brindarme su conocimiento, apoyo oportuno y motivación a seguir. A los Licenciados Biólogos del Hospital Carlos Monge Medrano por la motivación y consejos.

A mis padres por estar siempre apoyándome en todos mis proyectos y siempre motivándome a seguir.

**Shumara Mishael Machaca Ccacca**



# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	
<b>ACRÓNIMOS</b>	
<b>RESUMEN</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	14
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1. OBJETIVO GENERAL</b> .....	16
<b>1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	16
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>2.1. ANTECEDENTES</b> .....	17
<b>2.2. MARCO TEÓRICO</b> .....	21
2.2.1. Medicina herbolaria .....	21
2.2.2.1. Ajenjo ( <i>Artemisia absinthium</i> ).....	23
2.2.2.2. Procesos de obtención de extracto de la planta.....	33
2.2.2.3. Métodos de extracción .....	35
2.2.3. Prueba de inhibición bacteriana .....	37
2.2.3.1. Susceptibilidad antimicrobiana .....	37
2.2.3.2. Ceftriaxona.....	39
2.2.4. Infecciones de transmisión sexual causado por agentes microbianos....	40
2.2.4.1. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	45



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	ZONA DE ESTUDIO.....	51
3.2.	DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO .....	52
3.3.	POBLACION Y MUESTRA.....	53
3.4.	MÉTODO DE CAMPO .....	55
	3.4.1. Obtención del material vegetal.....	55
3.5.	MÉTODO DE LABORATORIO.....	55
	3.5.1. Obtención de las muestras de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	55
	3.5.2. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	56
	3.5.3. Aislamiento e identificación de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	57
3.6.	EVALUACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Artemisia absinthium</i> AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% EN <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	59
3.7.	EVALUACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA DE ACEITES ESENCIALES DE <i>Artemisia absinthium</i> AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% EN <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	61
	3.7.3. Variables que evaluar en la investigación.....	64
3.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	64

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.	INHIBICIÓN BACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Artemisia absinthium</i> AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% FRENTE A <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	65
4.2.	INHIBICIÓN BACTERIANA DE ACEITES ESENCIALES DE <i>Artemisia absinthium</i> AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% EN <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	73



<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>81</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>82</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	<b>83</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>92</b>

**ÁREA:** Ciencias Biomédicas.

**SUB LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:** Diagnóstico y Epidemiología.

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 13 de septiembre del 2024.





## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1</b> Zonas de recolección de muestras de pacientes, durante los meses de febrero a abril del año 2024.....	52
<b>Figura 2</b> Promedios de halos de inhibición de concentraciones de extracto etanólico.....	66
<b>Figura 3</b> Frecuencia de susceptibilidad de halos de inhibición en concentraciones de extracto etanólico .....	68
<b>Figura 4</b> Promedios de halos de inhibición de concentraciones de aceite esencial...	74
<b>Figura 5</b> Frecuencia de susceptibilidad de halos de inhibición en concentraciones de extracto etanólico .....	76
<b>Figura 6</b> La planta <i>Artemisia absinthium</i> .....	94
<b>Figura 7</b> Obtención de aceite esencial de la planta <i>Artemisia absinthium</i> .....	95
<b>Figura 8</b> Concentraciones del 10% al 100% de extracto etanolico y aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> .....	95
<b>Figura 9</b> Preparación de medios de cultivo: Agar Chocolate y Agar Thayer Martin	95
<b>Figura 10</b> Tinción Gram de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	96
<b>Figura 11</b> Características culturales de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	96
<b>Figura 12</b> Prueba de la oxidasa a <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	97
<b>Figura 13</b> Pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	97
<b>Figura 14</b> Proceso de sembrado y colocación de control positivo ceftriaxona.....	98
<b>Figura 15</b> Inoculación de concentraciones de extracto etanolico y aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> .....	98
<b>Figura 16</b> Halos de inhibición de extracto etanólico de <i>Artemisia absinthium</i> .....	98
<b>Figura 17</b> Halos de inhibición de aceites esenciales de <i>Artemisia absinthium</i> .....	99



<b>Figura 18</b>	Constancia de ejecución de proyecto de investigación .....	100
<b>Figura 19</b>	Constancia de extracción de aceite esencial .....	101



## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1</b> Antibióticos usados frente a <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	49
<b>Tabla 2</b> Punto de corte CMI frente a <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	50
<b>Tabla 3</b> Diseño experimental para la susceptibilidad antimicrobiana de extracto etanólico y aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> .....	53
<b>Tabla 4</b> Halos de inhibición (mm) según concentraciones de extracto etanólico....	65
<b>Tabla 5</b> Susceptibilidad de halos de inhibicion con extracto etanólico de <i>Artemisia absinthium</i> .....	67
<b>Tabla 6</b> Halos de inhibición (mm) con aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> .....	73
<b>Tabla 7</b> Susceptibilidad de halos de inhibición con aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> .....	75
<b>Tabla 8</b> Prueba de Shapiro Wilks.....	92
<b>Tabla 9</b> Datos de prueba de Kruskal Wallis de extracto etanólico de <i>Artemisia absinthium</i> .....	92
<b>Tabla 10</b> Tabla de contingencia de susceptibilidad de extracto etanólico aplicando Chi Cuadrado .....	93
<b>Tabla 11</b> Prueba de Kruskal Wallis en aceite esencial <i>Artemisia absinthium</i> .....	93
<b>Tabla 12</b> Tabla de contingencia de susceptibilidad de aceite esencial aplicando Chi Cuadrado .....	94



## ACRÓNIMOS

<b>AE:</b>	Aceites Esenciales
<b>EE:</b>	Extracto Etanólico
<b>DE:</b>	Desviación Estándar
<b>CV:</b>	Coefficiente de variación
<b>CERITS:</b>	Centro de Referencia de Infecciones de Transmisión Sexual
<b>CRO:</b>	Ceftriaxona
<b>CMI:</b>	Concentración Mínima Inhibitoria
<b>ITS:</b>	Infección de Transmisión Sexual
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>UFC:</b>	Unidad Formadora de Colonias
<b>mm:</b>	Milímetros
<b>Kg:</b>	Kilogramos
<b>et al:</b>	y colaboradores
<b>N-1, N-2, N-3....:</b>	Muestras.



## RESUMEN

La prevalencia de *Neisseria gonorrhoeae* es un problema a nivel mundial, nacional y regional que ha desarrollado resistencia a gran mayoría de antibióticos que son usados terapéuticamente. El objetivo planteado es determinar la inhibición bacteriana mediante extractos etanólicos y aceites esenciales de hojas de *Artemisia absinthium* al 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100% sobre *Neisseria gonorrhoeae* aisladas del Centro de Referencia de Infecciones de Transmisión Sexual de la Red San Román. El diseño fue experimental, tipo de estudio explicativo, se evaluaron 19 muestras de *Neisseria gonorrhoeae*. El método aplicado fue siembra por estrías en medios de cultivo, para su confirmación mediante tinción Gram, prueba de catalasa, oxidasa y pruebas bioquímicas; y para la susceptibilidad antimicrobiana con extracto etanólico y aceites esenciales se usó el método de difusión con discos basándose en método Kirby – Bauer y para la lectura se aplicó la escala de susceptibilidad de ceftriaxona y la escala de Duraffourd. Los resultados obtenidos con extracto etanólico de *Artemisia absinthium* señalan que el de 100% fue el de mayor inhibición (19.68 mm) seguido por el de 80% (16.72 mm), 60% (13.61 mm), 40% (10.60 mm), 20% (8.23 mm) y 10% (6.66 mm) ( $P=0.0001$ ); mientras que con el aceite esencial de *Artemisia absinthium* se obtuvo una inhibición al 10% de 8.62 mm, al 20% de 11.19 mm; al 40% de 14.22 mm, al 60% 17.45 mm, al 80% 20.32 mm y al 100% de 23.25 mm ( $P=0.0001$ ). Se concluye que la inhibición con extracto etanólico de *Artemisia absinthium* al 100% generó 19.68 mm (78.95% de inhibición Duraffourd), mientras que con el aceite esencial de *Artemisia absinthium* fue de 23.25 mm (84.21% de sensibilidad Duraffourd), teniendo como control la ceftriaxona (25.86 mm).

**Palabras claves:** Aceite esencial, *Artemisia absinthium*, Extractos etanólicos y *Neisseria gonorrhoeae*.



## ABSTRACT

The prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* is a global, national and regional problem that has developed resistance to the vast majority of antibiotics used therapeutically. The objective was to determine the bacterial inhibition by ethanolic extracts and essential oils of *Artemisia absinthium* leaves at 10%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% on *Neisseria gonorrhoeae* isolated from the Reference Center for Sexually Transmitted Infections of the San Román Network. The design was experimental, explanatory type of study, 19 samples of *Neisseria gonorrhoeae* were evaluated. The method applied was streaking in culture media, for confirmation by Gram staining, catalase test, oxidase and biochemical tests; and for antimicrobial susceptibility with ethanolic extract and essential oils, the disk diffusion method based on the Kirby-Bauer method was used and for reading the ceftriaxone susceptibility scale and the Duraffourd scale were applied. The results obtained with ethanolic extract of *Artemisia absinthium* indicate that 100% was the one with the greatest inhibition (19.68 mm) followed by 80% (16.72 mm), 60% (13.61 mm), 40% (10.60 mm), 20% (8.23 mm) and 10% (6.66 mm) ( $P=0.0001$ ); while with the essential oil of *Artemisia absinthium* an inhibition was obtained at 10% of 8.62 mm, at 20% of 11.19 mm; at 40% 14.22 mm, at 60% 17.45 mm, at 80% 20.32 mm and at 100% 23.25 mm ( $P = 0.0001$ ). It is concluded that the inhibition with 100% ethanolic extract of *Artemisia absinthium* generated 19.68 mm (78.95% Duraffourd inhibition), while with the essential oil of *Artemisia absinthium* it was 23.25 mm (84.21% Duraffourd sensitivity), having ceftriaxone as control (25.86 mm).

**Keywords:** Essential oil, *Artemisia absinthium*, Ethanolic extracts and *Neisseria gonorrhoeae*.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

Las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) representan un desafío significativo para la salud pública, siendo transmitidas con alta frecuencia mediante el contacto sexual (OMS, 2016). Entre las ITS más destacadas se encuentran las causadas por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, las cuales prevalecen con un alto porcentaje de casos y, en muchas ocasiones, pueden ser asintomáticas. Además de estas, existen más de treinta microorganismos capaces de provocar ITS, afectando a individuos de todas las edades, con una incidencia especialmente elevada en jóvenes adultos (Malpartida, 2020).

En el contexto específico de la población Juliaqueña, el riesgo de contagio se ve exacerbado por actividades como la minería informal y el comercio dentro de la ciudad, que atraen a poblaciones con malas intenciones. Asimismo, la presencia de locales de entretenimiento como discotecas y tragotecas sin licencias de funcionamiento aumenta la exposición a situaciones de riesgo. En el Centro de Salud de Referencia para ITS (CERITS), es común observar pacientes que acuden con síntomas graves, a menudo automedicados o con recetas proporcionadas por farmacias locales, lo que puede llevar a diagnósticos erróneos y a una terapia inadecuada (Aquino, 2017).

La resistencia antibiótica en *Neisseria gonorrhoeae* representa una preocupación adicional, con cepas multirresistentes que han surgido debido al uso inapropiado de antibióticos. Esta resistencia dificulta el tratamiento eficaz de la gonorrea, lo que puede tener graves implicaciones para la salud reproductiva y la salud pública en general (Ortiz et al., 2021). Cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes a penicilina, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclina, macrólidos, y más recientemente, a cefalosporinas y azitromicina, por sí solas o combinadas (Hlatshwayo et al., 2019).



Ante este panorama, es imperativo explorar nuevas alternativas terapéuticas para combatir la gonorrea y reducir su incidencia. En este contexto, el presente proyecto de investigación se propone evaluar la eficacia de las plantas medicinales de la región Puno como una posible solución para el elevado porcentaje de resistencia antibacteriana. Se buscará también sensibilizar a la comunidad sobre las ITS y promover el uso de la medicina herbolaria como una opción accesible y complementaria a los tratamientos convencionales (Aquino, 2017).

El Perú cuenta con una rica diversidad de plantas medicinales que han sido utilizadas tradicionalmente con propósitos terapéuticos. Entre estas plantas, destaca *Artemisia absinthium*, que contiene compuestos químicos con potencial actividad antimicrobiana. Estudios previos han demostrado que los extractos de esta planta poseen propiedades antifúngicas, antivirales y bactericidas, lo que sugiere su posible utilidad en el tratamiento de la gonorrea (Gonzalez, 2004; Ibarra & Paredes, 2013).

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la inhibición bacteriana mediante extractos etanólicos y aceites esenciales de hojas de *Artemisia absinthium* sobre *Neisseria gonorrhoeae* aisladas del Centro de Referencia de Infecciones de Transmisión Sexual de la Red San Román, 2024.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la acción antibacteriana mediante halos de inhibición de los extractos etanólicos de *Artemisia absinthium* al 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100% en *Neisseria gonorrhoeae* aisladas en el CERITS de la Red San Román, 2024.
- Evaluar la acción antibacteriana mediante halos de inhibición de aceites esenciales de *Artemisia absinthium* al 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100% en *Neisseria gonorrhoeae* aisladas en el CERITS de la Red San Román, 2024.





## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

Jurado et al. (2023) en Liofilchem (España), mencionan de potencial antimicrobiano de siete aceites esenciales; los resultados que reportaron los aceites de *Pinus sylvestris* y *Citrus limon* revelaron una mayor actividad bactericida. También, *Cymbopogon martini*, *Cinnamomum cassia* y *Origanum vulgare* exhibió una actividad antimicrobiana prometedora con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)  $\leq 0.5$  mg/ml contra *Streptococcus suis*, pero *Origanum vulgare* exhibió una alta actividad de dispersión de biopelículas, lo que también fue confirmado por estudios de microscopía electrónica. Para concluir, los aceites esenciales (AE) de *Pinus sylvestris*, *Citrus limon* y *Origanum vulgare* estudiados en este trabajo exhibieron actividades bactericidas y anti-biofilm contra gonococos y estreptococos.

Ma et al. (2023) en Alberta (Canadá), investigaron el grado de rendimiento de la difusión en gradiente con la dilución en agar para *Neisseria gonorrhoeae* frente a tetraciclina, penicilina, cefixima, ciprofloxacina, ceftriaxona y azitromicina. Los resultados reportados fueron 90% sensibles a la azitromicina, cefixima y ceftriaxona; además, encontraron una susceptibilidad disminuida a la ciprofloxacina, la penicilina y la tetraciclina. La concordancia categórica y esencial fueron simples entre los dos métodos para la penicilina con categoría de 86%; acuerdo esencial de 77.7% y la tetraciclina CA con 47%, EA 55.9%; los agentes antimicrobianos con errores fuera de los límites permisibles incluyeron azitromicina (error muy mayor: 18.42%; error mayor: 7.73%) y tetraciclina (error muy mayor: 6.17%).



Golparian et al. (2010) en (Suecia) dieron a conocer su investigación, con el objetivo de explorar y caracterizar *Neisseria gonorrhoeae* con susceptibilidad y resistencia a las cefalosporinas orales de espectro extendido; y antibiogramas. Los resultados que obtuvieron en 9.1% (30) puntos de corte del Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST) y mostraron 0.3% de cepas resistente a ceftriaxona y cefixima. Del mosaico detectaron 24% de alelos y el cambio de penA A501 y 11% de los aislamientos correspondientes, y en una prevalencia ascendente al paso de los años. Concluyó que las magnitudes de susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* disminuyó significativamente y la resistencia aumentó frente a las CES en el paso de los años. Por otro lado, Fifer et al. (2018) en Inglaterra ejecutaron una investigación con el fin de conocer si el brote de *Neisseria gonorrhoeae* presentaba diseminación clonal en la cepa HL-Azir y determinación de mecanismos a nivel molecular frente a azitromicina. Por ende, reportaron como resultado 37 aislamientos correspondientes de HL-AziR a ST9768, además, hubo una mutación previamente aislamientos de ST9768 que poseen alelo-23S RNA mutado. Asimismo, concluyeron que frente a azitromicina se presentó selección de hasta dos copias mutadas del dicho gen del Adenosín Ribonucleico 23S, en el fenotipo HL-AziR se llevaron 3 a 4 copias ya mutantes.

Wind et al. (2015) en Amsterdam (Países Bajos), evaluaron combinaciones utilizando el método de Etest transversal y una dilución en agar. No encontraron equilibrio en las 65 combinaciones sinergia ni antagonismo para ninguna de las 65 combinaciones de dos antibióticos utilizando Etest, la media geométrica de FICI estuvo dentro del rango 0.8 y 2.0. Además, el índice de concentración inhibidora fraccional (FICI) en medio de azitromicina y ceftriaxona oscila en 1.19 y en la dilución en agar 0.55. La diferencia entre los dos métodos no dio lugar a una discrepancia en la interpretación de la sinergia. La cepa F89 fue resistente a la ceftriaxona, en busca de sinergia se probó



todas las combinaciones y no obtuvo ello. Lo más importante es que la concentración mínima inhibidora de ceftriaxona no declinó del límite en ninguna concentración de azitromicina.

Malmir et al. (2015) en Bafata (Guinea-Bissau) utilizaron el método de dilución en agar con el fin de evaluar el efecto antibacteriano del extracto de hoja de *Terminalia macroptera* (Tml) frente a nueve cepas que se obtuvieron de muestras clínicas de *Neisseria gonorrhoeae*, además, incluyeron cepas de origen resistentes y susceptibles a antibióticos como la penicilina y tetraciclina. Como resultado indicaron que el extracto etanólico de hoja de *Terminalia macroptera* posee actividad antibacteriana contra *Neisseria gonorrhoeae* y las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) fueron entre 100 y 200 µg/ml, en seguida aplicaron otro método que es la partición de líquido-líquido dividiendo en cinco fracciones el extracto etanólico, como resultado todos mostraron actividad anti- *Neisseria gonorrhoeae* y la más activa fue la fracción de éter dietílico con valores de 25 y 50 µg/ml.

Tito (2021) en Huancayo priorizó evaluar sobre cepas de *Neisseria gonorrhoeae* con efecto antibacteriano de las plantas *Origanum vulgare* (orégano) y *Caesalpinia spinosa* (tara). Utilizó concentraciones de 10% a 100%, realizando medición de halos en las placas Petri, donde empleó 14 grupos; de extractos etanólicos 12 grupos, la mitad para cada planta ósea 6 con dos grupos control de ceftriaxona. El resultado mostró que la ceftriaxona posee de manera significativa una efectividad mayor que la del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* y *Origanum vulgare*; sin embargo, al 100%.  $P=0.03$  el extracto etanólico del *Origanum vulgare* presentó diferencia estadística significativa; en cambio el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* en todas las concentraciones presentó diferencias estadísticas significativas  $P=0.004$ , 0.03, 0.04, 0.002 y 0.01.



Gonzalez (2004) en Chachapoyas (Amazonas) determinó el efecto diurético y antipirético de un infuso de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo) en *Rattus rattus* var, *albinus*. Las dosis probadas son 100, 200 y 400 mg/kg; la furosemida como control positivo con 10 mg/kg y con 25 mg/kg de paracetamol. Como resultado, mostró efectos diuréticos y antipiréticos a 400 mg/kg en la dosis más alta probada. La fiebre fue previamente ocasionada con solución al 15% de levadura seca en cloruro de sodio al 0.9% como fuente de lipopolisacárido. El nivel de significancia fue  $P \leq 0.05$ . Las observaciones en el laboratorio son los mejores efectos diuréticos y antipiréticos con la dosis de infusión utilizada de 400 mg/kg.

Quispe & Barrios (2018) en Arequipa, realizaron la concentración del efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Artemisia absinthium* L (Ajeno) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados que obtuvieron en relación con la concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales mostraron un efecto a 6.25  $\mu$ l/ml, equivalente al 0.63%. Por otro lado, el método de recubrimiento determinó que la concentración bactericida mínima fue de 12.5  $\mu$ l/ml, correspondiente al 1.25% del aceite esencial. La susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones del 0.16% al 100% de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. mostró zonas de inhibición que variaron entre 3.1 y 19.5 mm, con la excepción de la concentración del 0.16%, que no presentó halos de inhibición representativos. En los discos con etanol absoluto no se observaron halos de inhibición, y al comparar con la eritromicina, no se encontró ninguna concentración de aceite esencial que igualara su efecto antibacteriano, ya que el halo máximo obtenido con el aceite esencial al 100% fue de 19.5 mm, mientras que la eritromicina generó un halo de 29.1 mm de diámetro de halo.

De la Cruz (2020) en Trujillo, evaluó el efecto bactericida del extracto oleoso de *Artemisia absinthium* a concentraciones de 100%, 75 %, 50%, 25%, y un control neutro



contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina 1µg, por lo que hicieron 11 réplicas por cada grupo de estudio utilizando con el método de Kirby Bauer. Como resultado mencionó que a concentraciones del 25% y al 50% no tenían ningún efecto inhibitor bacteriano. Para la concentración del 75% hubo obstrucción media de 13.18 mm DS: 0.98; IC con un 95% de 12.52 a 13.84 mm y para el 100% fue de 21.4 mm DS: 1.12, IC 95% con 20.62, IC al 22.11 mm de efecto inhibitor. Pero no tuvieron efecto como la oxacilina que tiene efecto: 42.5 mm; por ende, estadísticamente por la prueba de Levene mostró homogeneidad de varianzas ( $P > 0.05$ ).

Aquino (2017) en Puno, determinó la actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial, con mayor inhibición frente a *Escherichia coli* de *Chenopodium ambrosioides* con 20 µl, superando los valores de referencia del control positivo. La planta *Artemisia absinthium* L. presentó mayor sensibilidad con 81.3% a *Staphylococcus aureus* en 1ml. Con eso refiriéndose estadísticamente significativo, pero el que no mostró ninguna significancia fue *Caiophora cirsiifolia* frente a las bacterias. Y la letalidad tóxica con DL50 mostraron 30.08 µg/ml *Chenopodium ambrosioides*, 51.62 µg/ml *Artemisia absinthium* L. y 64.92 µg/ml *Caiophora cirsiifolia*.

## 2.2. MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. Medicina herbolaria

La medicina herbal representa el método más ancestral de cuidado de la salud, empleando plantas y extractos herbales por sus propiedades terapéuticas. Se destaca su relevancia a lo largo de la historia hasta la actualidad, como una alternativa para tratar enfermedades. Se enfatiza su utilidad para la población como una opción de tratamiento, y se revela el modelo integrado en Cuba, donde influye tanto la preferencia de la población por esta medicina como la política



estatal en materia de salud (Lima et al., 2019). Los investigadores están comenzando a considerar cada vez más la medicina herbal tradicional debido a su baja toxicidad y su efectividad en el tratamiento de diversas enfermedades (Wu et al., 2023).

El empleo de plantas con propiedades medicinales es una práctica extendida a nivel global, siendo utilizadas como alternativas a los muchos productos farmacéuticos, lo que se conoce como fitoterapia. Mediante el uso de extractos derivados de estas plantas, se puede conservar y mejorar la salud mediante un proceso de preparación estandarizado, que ofrece una alternativa terapéutica estable (Zambrano et al., 2015).

La fitoterapia o herborismo juega un rol significativo en la medicina, y su relevancia está en aumento debido a la contribución de productos naturales a los servicios de Atención Primaria de la Salud. Los fabricantes de medicamentos modernos derivados de plantas, incluidos en numerosos programas de desarrollo clínico, se esfuerzan por cumplir con rigurosos estándares de calidad en su elaboración (Horák et al., 2015).

Perú cuenta con una rica historia y una cultura activa en Medicina Tradicional. Aproximadamente 1408 especies vegetales se utilizan con propósitos medicinales tanto en comunidades nativas como urbanas. En este sentido, el Estado Peruano, a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, ha lanzado una convocatoria para promover la investigación dirigida a combatir diversas patologías (Horák et al., 2015).

Entre las prioridades de esta convocatoria se encuentra el desarrollo de fitofármacos para tratar enfermedades, especialmente en un contexto donde hay



escasa evidencia científica sobre las plantas medicinales peruanas. Esta situación resalta la importancia de tres plantas nativas que muestran un perfil de efecto biológico (Moncada & Salazar, 2020).

### 2.2.2.1. Ajenjo (*Artemisia absinthium*)

Desde tiempos antiguos, las plantas han sido empleadas para tratar enfermedades infecciosas, y algunas de ellas han pasado a ser tratamientos convencionales para diversas afecciones. Dado los efectos secundarios y la creciente resistencia de los microorganismos patógenos a los antibióticos y otros fármacos disponibles, se ha puesto un énfasis considerable en los extractos y compuestos biológicamente activos obtenidos de especies vegetales utilizadas en la fitoterapia (Batiha et al., 2019).

*Artemisia absinthium*, popularmente llamada ajeno, es una planta medicinal perenne de arbusto importante, originaria de Asia, el Medio Oriente, Europa y el norte de África. Pertenece al género *Artemisia*, uno de los géneros más destacados y ampliamente distribuidos dentro de la familia Asteraceae, que abarca más de 500 especies diversas clasificadas como plantas herbáceas o pequeños arbustos anuales, perennes y bienales (Batiha et al., 2019).

*Artemisia absinthium*, cuenta con una variedad de nombres vernáculos en diferentes idiomas y culturas. Se conoce como jengibre verde, ajeno en español; ajeno en inglés; Apsinthion en griego; Genepi en latín; Vermú en francés; Anjenjo en México; Absinthium en Hemopatía; Wermut en alemán; Yang ai en chino; Majtari, Mastiyarah,



Majriy Karmala en hindi; nigayomogi en japonés y Afsanteen en árabe (Ahmad et al., 2010).

- **Etiología:** Algunos lingüistas sugieren que la palabra "*absinthium*" tiene raíces en el persa spand o aspand, que también se refiere a una hierba amarga.

- **Clasificación taxonómica de “Ajenjo”**

**Reino** : Plantae

**División** : Magnoliophyta

**Clase** : Magnoliopsida

**Orden** : Asterales

**Familia** : Asteraceae

**Género** : *Artemisia*

**Especie** : *Artemisia absinthium* (Nin et al., 1995).

- **Características:** La raíz de *Artemisia absinthium* es persistente, con un tallo sólido, largo, leñoso y frondoso, que posee un sabor cálido y aromático. El tallo alcanza una altura de entre 2 y 2.5 pies, de tono blanco y cubierto en su mayoría por finos y sedosos pelos. Las hojas, de alrededor de 3 pulgadas de largo y 1.5 de ancho, presentan una coloración blanca en ambos lados, con segmentos delgados y sin forma. Los tallos de las hojas tienen un ligero borde alado, y estas pueden reducirse a tres, o incluso a una subdivisión lineal en los tallos de las flores. La floración ocurre desde principios de verano hasta principios de otoño. Las cabezas de las flores son de forma corta, casi redondeada, y se cuelgan en una panícula erguida y frondosa. Las





diminutas flores cuelgan hacia abajo y tienen un tono amarillo verdoso. Tanto las hojas como las flores son notablemente amargas y poseen un aroma característico, similar al de la tujona (Batiha et al., 2020).

- **Uso:** Se han identificado varios compuestos secundarios y otros productos a partir de *Artemisia absinthium*, siendo el aceite esencial extraído de las glándulas de las partes superiores el más significativo. Gracias a las elevadas concentraciones de terpenos volátiles, especialmente en las hojas y flores, el aceite esencial de esta planta posee un aroma potente (Omer et al., 2007).

Es empleada por sus propiedades antiparasitarias y para aliviar la anorexia y la indigestión. Las partes superiores de la planta se incluyen en numerosas formulaciones herbales para el estómago, en suplementos dietéticos y en bebidas alcohólicas, como la absenta, la cual está experimentando un renovado interés en todo el mundo (Ahamad et al., 2014).

- **Composición y propiedad:** Los aceites esenciales son mezclas complejas y naturales de compuestos volátiles, reconocidos por su intenso aroma, que se producen como metabolitos secundarios en plantas aromáticas. Normalmente se obtienen mediante procesos de vaporización o hidrodestilación, aunque hay varios métodos adicionales disponibles, como el uso de dióxido de carbono líquido o microondas. Sin embargo, la destilación con agua hirviendo o vapor a diferentes presiones sigue siendo el método principal para su extracción (Batiha et al., 2020).



En la naturaleza los aceites esenciales desempeñan una función significativa en la defensa de las plantas, actuando como agentes antibacterianos, antivirales, antifúngicos e insecticidas. Además, pueden disminuir el apetito de los herbívoros por las plantas. Al mismo tiempo, algunos de estos aceites pueden atraer insectos, promoviendo la polinización y la dispersión de semillas, mientras que repelen a otros insectos no deseados (Abad et al., 2012). Los aceites esenciales son complejas amalgamas naturales que pueden albergar entre 20 y 60 elementos, con variaciones significativas en sus concentraciones. Se distinguen por presentar 2 o 3 componentes predominantes en concentraciones relativamente altas (entre el 20% y el 70%), en contraste con otros elementos que se encuentran en proporciones mínimas. En general, estos componentes principales determinan las propiedades biológicas del aceite esencial. Dichos componentes abarcan dos grupos con distintos orígenes biosintéticos: uno mayoritariamente constituido por terpenos y otro por compuestos aromáticos y alifáticos, todos ellos caracterizados por su bajo peso molecular (Abad et al., 2012).

El intenso y aromático olor presente en algunas especies del género *Artemisia* se atribuye principalmente a la elevada concentración de terpenos volátiles, que son componentes clave de sus aceites esenciales, especialmente presentes en las hojas y flores (Omer et al., 2007). La composición química de estos aceites esenciales ha sido objeto de extensos estudios en diversas especies de *Artemisia* en todo el mundo. Se ha observado que existe una notable variabilidad



intraespecífica en los constituyentes terpénicos de los aceites esenciales de estas plantas. En algunos casos, esta variación en los componentes volátiles puede estar relacionada con la ontogenia o el crecimiento de la planta en diferentes altitudes. Factores como la temporada de cosecha, el tipo de fertilizante y el pH del suelo, así como las condiciones y etapas de secado, la ubicación geográfica, el quimiotipo o subespecie, la parte seleccionada de la planta o su genotipo, y el método de extracción, todos influyen en la calidad y rendimiento de los aceites esenciales de las especies de *Artemisia* (Abad et al., 2012).

Además, presentan propiedades que se resaltan en la planta:

**Antioxidante:** Los antioxidantes son un conjunto de sustancias que contribuyen a preservar la salud celular al contrarrestar los efectos de los radicales libres, los cuales son moléculas inestables producidas de forma natural por el organismo (Ali et al., 2013).

Por lo tanto, los antioxidantes naturales son indispensables para el adecuado funcionamiento del cuerpo humano. Diversos estudios han destacado la capacidad antioxidante de *Artemisia absinthium*. Los elementos fenólicos, como el ácido gálico, ácido cumárico, ácido vainílico, ácido siríngico y ácido salicílico clorogénico, así como los flavonoides como la quercetina y la rutina, presentes en *Artemisia absinthium*, han demostrado el potencial de esta planta para combatir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Craciunescu et al., 2012). Estos componentes disminuyen



la peroxidación lipídica, medido por sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), y restauran los antioxidantes endógenos como el superóxido dismutasa (SOD) y el glutatión (GSH) (Batiha et al., 2020).

**Antiinflamatorio:** La inflamación es la reacción natural del organismo para protegerse y sanar después de una lesión. Su propósito es resguardar el cuerpo de sustancias dañinas y promover la regeneración del tejido afectado. Los extractos de *Artemisia absinthium* muestran propiedades antiinflamatorias que podrían vincularse a sus metabolitos secundarios, como los flavonoides y compuestos sesquiterpénicos, así como a su capacidad para inhibir reguladores inflamatorios como bradiquininas, histamina, prostaglandinas y serotonina (Kostadinovic et al., 2012). Además de suprimir la expresión de mediadores proinflamatorios como el óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), la prostaglandina E-2 (PGE2), la ciclooxigenasa-2 (COX-2), el factor nuclear kappa-B (NF- $\kappa$ B) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Batiha et al., 2020).

**Anticancerígeno:** El cáncer es una condición en la cual las células del cuerpo se multiplican de manera descontrolada, formando un tumor que puede diseminarse a distintas partes del organismo (Dhyani et al., 2022; Sharifi et al., 2021). El efecto anticancerígeno del extracto de *Artemisia absinthium* se atribuye a la activación de la vía de señalización MEK/ERK de la proteína quinasa activada por mitógenos/quinasa regulada por señales extracelulares. Esta activación a su vez estimula la vía mitocondrial de activación de



caspasas y regula las proteínas de la familia Bad y Bcl-2, lo que conduce a la apoptosis de las células cancerosas humanas MCF-7 y MDA-MB231 (Shafi et al., 2012).

**Neuroprotector:** Los trastornos neurocerebrales, particularmente los de naturaleza neurodegenerativa, abarcan diversos síndromes cerebrales progresivos que impactan la memoria, el pensamiento, el comportamiento y las emociones. Se ha comprobado que *Artemisia absinthium* posee efectos neuroprotectores frente al daño cerebral inducido por reperfusión, gracias a su acción tanto nicotínica como muscarínica (Amin et al., 2022).

El mecanismo protector del extracto etanólico de *Artemisia absinthium* podría relacionarse con su actividad anticolinesterasa, así como con su capacidad para modificar el comportamiento de las ratas mediante la restauración casi completa de la actividad de enzimas como la acetilcolinesterasa (AChE) y la monoaminoxidasa (MAO). El dímero sesquiterpenoide caruifolina D, presente en *Artemisia absinthium*, podría ser empleado en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson debido a su capacidad inhibitoria sobre la producción de mediadores neuroinflamatorios en células microgliales BV2, así como sobre la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conduce a efectos inhibitorios sobre la activación de proteínas como la quinasa C (PKC) y la quinasa N-terminal c-Jun (JNK) (Batiha et al., 2020).



**Hepatoprotector:** El extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* mejora la función del hígado y reduce los marcadores de estrés oxidativo. Además, mantiene la morfología estructural de la membrana hepatocelular, lo que se traduce en una disminución de la actividad sérica de aspartato aminotransferasa (ASAT) y alanina aminotransferasa (ALAT). Los posibles mecanismos hepatoprotectores incluyen la inhibición de las enzimas microsomales hepáticas responsables del metabolismo de fármacos, la actividad antioxidante para eliminar radicales libres y el bloqueo de los canales de calcio (Mohammadian et al., 2016).

**Antidiabético:** La diabetes, una enfermedad metabólica caracterizada por niveles elevados de glucosa en la sangre (hiperglucemia), es crónica y requiere tratamiento de por vida una vez diagnosticada, ya que no tiene cura. Los extractos de *Artemisia absinthium* han demostrado tener un efecto de sensibilización a la insulina al estimular la proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK) y promover la translocación del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) a la superficie celular del músculo. En ratas diabéticas tratadas con *Artemisia absinthium*, se observa un cambio en la vía metabólica hacia la utilización de carbohidratos como fuente principal de energía, lo que ayuda a preservar las proteínas y los lípidos, e incluso aumenta su producción, lo que a su vez previene la pérdida de peso corporal (Daradka et al., 2014).

**Antipalúdico:** La artemisinina, una lactona sesquiterpénica que constituye el principal componente activo de *Artemisia annua*, se



emplea en el tratamiento de los parásitos del género *Plasmodium*, conocidos por su capacidad de absorber y digerir hemoglobina. Este proceso genera cantidades significativas de hemo libre activo y hierro ferroso libre ( $Fe^{2+}$ , los cuales se cree que son responsables de la especificidad parasitaria de la artemisinina. Los eritrocitos infectados transforman el exceso de hemo en hematina, sustancia tóxica para el parásito debido al daño oxidativo y la ruptura directa de la membrana celular. Sin embargo, los parásitos de la malaria han desarrollado un mecanismo de desintoxicación que involucra la biocristalización de la hematina en hemozoína cristalizada, una forma menos tóxica e inactiva. La artemisinina activada ha demostrado inhibir la formación de hemozoína al alquilar el hemo. Como resultado, tanto el activador como el blanco de acción de la artemisinina son el hemo libre y el producto de la degradación de la hemoglobina (Wang et al., 2019).

**Antibacterial:** Varios estudios han destacado el amplio espectro de efectos inhibidores de *Artemisia absinthium* contra diversos microorganismos, atribuyendo estos efectos a sus composiciones como es los aceites esenciales. Los extractos de etanol de *Artemisia absinthium* han mostrado capacidad para inhibir la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), con zonas de inhibición de 10 a 15 mm de diámetro, aunque no han demostrado potencial antibacteriano frente a *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* y *Bacillus subtilis* var. Níger ATCC 9372 (Dülger et al., 1999; Batiha et al., 2020).



Se ha observado una acción antimicrobiana eficaz de los extractos de *Artemisia absinthium*, especialmente contra bacterias patógenas grampositivas (Fiamegos et al., 2011). Algunos estudios han documentado que el extracto metanólico de *Artemisia absinthium* produce un efecto inhibitor contra diversas cepas bacterianas. Además, la aplicación tópica de un extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* en heridas infectadas ha revelado una notable acción antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* (Moslemi et al., 2012). Se ha sugerido que la acción antimicrobiana se debe a la sinergia entre los compuestos menores y principales presentes en *Artemisia absinthium*, como el  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, alcanfor, p-cimeno, y cariofileno. Además, Zanousi et al. (2016) identificaron a detalle el  $\beta$ -tujona, sabineno, *p*-cimeno 1,8-cineol, *cis*-crisantenol, alcanfor cariofileno y en especial  $\alpha$ -felandreno. La acción antibacteriana del aceite esencial extraído de *Artemisia absinthium* ha mostrado ser significativamente efectiva, incluso superando a la gentamicina en ciertos casos (Batiha et al., 2020).

**Antiviral:** Se ha informado que el extracto de *Artemisia absinthium* tiene efectos antivirales contra la hepatitis viral. Esto se debe a la presencia de varios compuestos bioactivos que inhiben la enzima integrasa del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1), interfiriendo con la conexión del ADN viral a la célula huésped. Se ha constatado que *Artemisia absinthium* alivia entre un 80% y un 90% de los síntomas de la hepatitis viral (Ansari et al., 2018). Asimismo, la administración oral de extracto de *Artemisia absinthium* durante 12





semanas a pacientes con hepatitis B ha mostrado un efecto antiviral potencial contra el virus de la hepatitis B (VHB), reduciendo significativamente los marcadores virales sin efectos adversos notables (Batiha et al., 2020).

**Antiprotozoaria:** *Artemisia absinthium* y sus extractos poseen propiedades antiprotozoarias. Los extractos de esta planta han mostrado actividad antiprotozoaria contra varios parásitos apicomplejos, como *Eimeria*, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Babesia* y *Theileria* (Batiha et al., 2020), así como contra otros protozoos parásitos, incluyendo *Trypanosoma cruzi*, *T. brucei* y *Leishmania infantum*. La coccidiosis, una infección común en el ganado causada por especies de *Eimeria*, es de gran importancia económica debido a su alta morbilidad (Habibi et al., 2016).

Se ha observado actividad anticoccidial en los extractos de *Artemisia absinthium* tanto en rumiantes como en aves de corral. Sin embargo, la efectividad de esta actividad depende del número de ooquistes y del tipo de *Eimeria* presente. Se ha registrado una reducción significativa en el número de ooquistes en pollos de engorde infectados con *Eimeria tenella* cuando se administró un extracto acuoso de *Artemisia absinthium* a una dosis de 3 mg/kg de alimento por día, lo que sugiere su potencial uso como tratamiento profiláctico para la coccidiosis moderada (Habibi et al., 2016).

#### 2.2.2.2. Procesos de obtención de extracto de la planta

Los principios activos pueden ser obtenidos mediante diversos



métodos, tales como extracción directa de la droga, procesos hemisintéticos o semisintéticos, y técnicas biotecnológicas (Gonzalez, 2004).

Los procesos de extracción se clasifican según el solvente utilizado. Se pueden distinguir dos principales categorías: extracción con agua, que incluye métodos como la infusión y la destilación utilizando vapor de agua (conocida como arrastre), y extracción con solventes orgánicos, que abarca técnicas como la maceración, lixiviación, percolación, extracción Soxhlet, digestión y el uso de fluidos supercríticos (Gonzalez, 2004).

**Maceración:** En este proceso, el material vegetal se sumerge en el solvente correspondiente, que puede ser etanol o agua. Se prefiere el etanol debido a que el contacto prolongado con el agua puede propiciar la formación de moho. El recipiente utilizado debe contar con una tapa que no sea afectada por el disolvente. El material vegetal permanecerá en el solvente durante un período de 2 a 14 días, con agitación ocasional. Luego, se filtra el líquido resultante, se exprime y se obtiene el extracto mediante algún tipo de evaporador (Gonzalez, 2004).

La técnica de lixiviación, también conocida como percolación, implica el uso de solventes orgánicos para preservar los compuestos termolábiles. En este proceso, el material vegetal se coloca en un embudo o recipiente cónico, a través del cual se hace pasar el disolvente. Es importante evitar el uso de elementos que puedan obstruir el paso del solvente, ya que esto podría interferir con la percolación. Se recomienda añadir solvente de forma constante para garantizar el éxito del



procedimiento (Gonzalez, 2004).

### **2.2.2.3. Métodos de extracción**

La destilación por arrastre de vapor es un procedimiento ampliamente empleado que implica la generación de vapor, típicamente en un caldero, y su posterior inyección en un destilador donde se encuentra el material botánico. Este método se basa en el principio fundamental de destilar dos líquidos heterogéneos, como el aceite esencial y el agua, de manera que cada uno ejerza su propia presión de vapor como si el otro componente no estuviera presente. Al final del proceso, el vapor de agua y el aceite esencial se condensan y se separan (Aquino, 2017).

La técnica de extracción de Soxhlet implica el uso de solventes con puntos de ebullición específicos, lo que ayuda a evitar la degradación del material vegetal durante el proceso. Esta metodología se lleva a cabo en caliente y facilita la obtención de extractos crudos de las plantas mencionadas (Gonzalez, 2004).

En el método de digestión, se emplean temperaturas que no superan los 50 °C. Se añade solvente caliente al material vegetal previamente triturado, que se dispone en un recipiente de vidrio con una abertura pequeña. Este proceso permite mejorar la solubilidad de ciertos compuestos y aumentar la cantidad de extracción de estos a nivel de la planta (Gonzalez, 2004).

La infusión y la decocción son dos procesos que implican la extracción utilizando agua. En el caso de la infusión, se vierte agua caliente o fría sobre la planta triturada, luego se filtra el líquido resultante. En la



decocción, se hierve la planta triturada durante aproximadamente quince minutos (Gonzalez, 2004).

La extracción con fluidos supercríticos implica el uso de presiones y temperaturas que exceden los valores críticos de los fluidos, aprovechando su capacidad disolvente inherente (Gonzalez, 2004).

**Extractos etanólicos:** Este extracto se obtiene de plantas secas que previamente han sido percoladas o maceradas junto con etanol. Posteriormente, se elimina físicamente el solvente mediante un proceso específico. El producto resultante puede ser purificado mediante otras operaciones con el objetivo de eliminar algún componente no deseado (Gonzalez, 2004).

**Aceite esencial:** Los aceites esenciales son sustancias líquidas volátiles cuya obtención puede llevarse a cabo mediante el arrastre con vapor de agua. La composición de estos componentes en las plantas es responsable de su aroma y tiene una gran importancia en diversas industrias, como la cosmética (en perfumes y aromatizantes), la alimentaria (en condimentos y saborizantes) y la farmacéutica. Estos aceites esenciales se consideran mezclas complejas de compuestos que proporcionan olor y sabor a una amplia variedad de alimentos, así como también se utilizan en la industria cosmética. Entre los aceites esenciales más utilizados se encuentra el de limón, siendo Argentina uno de los principales productores a nivel mundial (Aquino, 2017).



### **2.2.3. Prueba de inhibición bacteriana**

#### **2.2.3.1. Susceptibilidad antimicrobiana**

El análisis de la sensibilidad de los agentes antimicrobianos frente a los microorganismos es una tarea rutinaria en los laboratorios de Microbiología. Esto se realiza a través de pruebas como los antibiogramas, cuyo objetivo principal es evaluar la susceptibilidad *in vitro* al exponer uno o varios antimicrobianos a un patógeno. Los resultados obtenidos son predictores de la eficacia clínica del agente antimicrobiano una vez se conoce la sensibilidad del microorganismo causante de la infección. Este proceso ayuda a reducir la duración de la estancia hospitalaria, la morbilidad y contribuye a una mejor recuperación del paciente, además de disminuir los costos sanitarios. También es una herramienta esencial para prevenir el uso indebido de los agentes antimicrobianos, lo que podría provocar la selección de microorganismos resistentes, un problema creciente a nivel mundial en términos de salud pública (Garín et al., 2012).

El principio de esta técnica implica el uso de una cantidad fija de antimicrobianos en un reservorio, como por ejemplo discos de papel, los cuales se aplican sobre la superficie del agar donde se ha cultivado el microorganismo en cuestión. A través de la difusión, se genera un gradiente de concentración entre el antimicrobiano y la sensibilidad del microorganismo, que se refleja en el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del reservorio. Este diámetro obtenido no solo está influenciado por la cantidad del disco y la susceptibilidad del



microorganismo, sino también por el espesor del agar, su composición y pH, la capacidad de difusión del antibiótico en ese medio, la temperatura y la velocidad de replicación bacteriana (Malbrán, 2001).

La evaluación de la sensibilidad de los microorganismos frente a los agentes antimicrobianos puede llevarse a cabo mediante varios métodos, todos los cuales requieren al menos tres condiciones para ser efectivos: primero, aislar de manera absoluta la cepa que será sometida a prueba (los cultivos mixtos pueden generar resultados incoherentes y erróneos); luego identificar de manera adecuada la cepa aislada, idealmente hasta el nivel de especie (tanto el tipo de prueba de sensibilidad como la interpretación de los resultados dependen directamente de la especie del microorganismo en cuestión); finalmente utilizando los medios y los consumibles apropiados para cada caso específico (Garín et al., 2012).

Categoría de interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos: según Malbrán (2001) menciona la clasificación basada en la respuesta in vitro de un antibiótico a un microorganismo en los niveles que éste alcanza en sangre o tejidos con una dosificación habitual.

La clasificación como "Sensible" indica que una infección provocada por el organismo evaluado puede ser tratada eficazmente con la dosis recomendada del antibiótico adecuado para el tipo específico de infección y la especie del microorganismo, a menos que existan contraindicaciones para su uso (Malbrán, 2001).



La categoría "Intermedio" indica cepas que podrían ser inhibidas por concentraciones mayores de antibióticos, lo cual puede lograrse mediante un aumento en la dosis (como en el caso de los betalactámicos) o concentraciones que se encuentren fisiológicamente en los tejidos afectados (por ejemplo, quinolonas y betalactámicos en la orina). También se refiere a una "zona intermedia" que ayuda a prevenir que pequeñas variaciones técnicas difíciles de controlar generen diferencias significativas en la interpretación (Malbrán, 2001).

La categoría "Resistente" se aplica a las cepas que no se ven afectadas por las concentraciones habituales del antimicrobiano, incluso cuando se administran en dosis convencionales, y se encuentran dentro de un rango donde los mecanismos específicos de resistencia microbiana, como las  $\beta$ -lactamasas, pueden estar presentes (Malbrán, 2001).

#### **2.2.3.2. Ceftriaxona**

Considerada una cefalosporina de tercera generación, exhibe actividad bactericida contra una variedad de microorganismos tanto gramnegativos como grampositivos. Destaca por su larga vida media, lo que permite una administración cada 24 horas. Aunque muestra menor actividad contra cocos grampositivos en comparación con las cefalosporinas de primera generación, es eficaz contra Enterobacteriaceae, incluyendo cepas productoras de betalactamasas (INS, 2002).

Entre los microorganismos gramnegativos susceptibles se encuentran *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*,



*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. y *Klebsiella* sp. Al igual que otras cefalosporinas, la ceftriaxona inhibe selectivamente la síntesis de la pared celular en microorganismos susceptibles, interfiriendo con las reacciones de transpeptidación (INS, 2002).

La administración de ceftriaxona es exclusivamente por vía parenteral, preferiblemente intramuscular. Al ser administrada por vía intravenosa, alcanza concentraciones máximas de 100 a 200 µg/ml en aproximadamente 30 minutos. Se distribuye eficazmente en la mayoría de los tejidos, aunque no en el sistema nervioso central, a menos que se trate de meningitis, donde logra alcanzar concentraciones terapéuticas en el líquido cefalorraquídeo (INS, 2002).

La vida media en suero es de seis a ocho horas, y no se metaboliza en el cuerpo. Una parte de la ceftriaxona se elimina sin cambios a través de la filtración glomerular y en menor medida a través de la bilis y la orina (INS, 2002).

#### **2.2.4. Infecciones de transmisión sexual causado por agentes microbianos**

En la gestión y control de las infecciones de transmisión sexual (ITS), dos elementos han mostrado una influencia considerable: la aparición y la difusión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Asimismo, se evidencia un incremento en la prevalencia de ciertos patógenos transmitidos por vía sexual, lo que complica los desafíos terapéuticos en los pacientes (Aznar et al., 2007).





Se emitió una recomendación para gestionar de manera integral a los pacientes con infecciones de transmisión sexual, tomando en cuenta diversos contextos como los programas de prevención, control y atención del VIH, así como las directrices de la OMS sobre ITS publicadas en 1991. En mayo de 1999, la OMS convocó a una reunión del Grupo Consultivo sobre el Tratamiento de Enfermedades de Transmisión Sexual para revisar y actualizar las recomendaciones terapéuticas conforme a los hallazgos más recientes (OMS, 2016).

Manejar el diagnóstico de las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) puede ser complicado debido a limitaciones de recursos y tiempo en varios lugares. Esto resulta en un aumento de los costos y una reducción en el acceso al tratamiento. Además, las pruebas disponibles pueden variar en sensibilidad y especificidad, lo que genera desconfianza en su precisión para diagnosticar ITS. Es esencial que los laboratorios cuenten con personal capacitado y experiencia adecuada para garantizar la precisión de los resultados, junto con los recursos técnicos necesarios y un control de calidad externo (OMS, 2016).

**Condilomas acuminados (verrugas):** Las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) causadas por el Virus del Papiloma Humano (VPH) son frecuentemente asociadas con los serotipos seis y once, se consideran de bajo riesgo. Sin embargo, existe la posibilidad de coinfección con serotipos de alto riesgo, como el 16 y el 18. El VPH se transmite principalmente a través del contacto directo de la piel durante las relaciones sexuales (Trebach et al., 2015).

Solo alrededor del diez por ciento de las infecciones por VPH se manifiestan como verrugas visibles, mientras que la mayoría permanecen como



infecciones subclínicas, sin síntomas evidentes. Sin embargo, pueden causar sangrado e irritación localizada en áreas como la uretra, la boca, el cuello uterino y el ano. Si no se trata, las lesiones pueden desaparecer por sí solas o aumentar en número y tamaño. Además, existe la posibilidad de que las lesiones reaparezcan, conocida como recidiva, dentro de los primeros tres meses (Trebach et al., 2015).

**Uretritis y cervicitis:** La uretritis gonocócica es causada por la bacteria *Neisseria gonorrhoeae* en aproximadamente el 25% de los casos. Mientras que otros agentes como *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium* y *Trichomonas vaginalis* son responsables de esta afección en alrededor del 15 al 25% de los casos (Trebach et al., 2015).

**Cervicitis:** En las mujeres, presenta síntomas similares a los de la uretritis en los hombres y puede ser asintomática en hasta un 80% de los casos o acompañada de molestias leves, especialmente cuando es causada por *Chlamydia trachomatis*. Los síntomas pueden incluir flujo vaginal purulento, sangrado vaginal después del coito, dispareunia (dolor durante las relaciones sexuales) y dolor en la parte baja del abdomen (Berry et al., 2015).

El diagnóstico requiere tomar dos muestras del exudado uretral (o cervical en mujeres) y enviarlas a laboratorios microbiológicos, ya que el diagnóstico clínico por sí solo no es suficiente. Una de las muestras se envía en un medio de transporte semisólido Stuart Amies o líquido Amies, mientras que la otra muestra no debe utilizar transporte especial, a menos que se sospeche de una infección por *Chlamydia*, en cuyo caso se necesita un medio especial. Para diagnosticar *Neisseria gonorrhoeae*, se requiere el cultivo del exudado. Además, en caso de sospecha de una infección gonocócica extragenital, se puede tomar una muestra



del exudado ano-rectal, y en estos casos, el cultivo del exudado es la opción preferida para ambas bacterias, tanto para *Neisseria gonorrhoeae* como para *Chlamydia trachomatis* (Berry et al., 2015).

**Sífilis:** El agente causante de la infección es el *Treponema pallidum*. Durante el primer año de la infección, la transmisión sexual ocurre durante las etapas primaria y secundaria de la enfermedad (Travassos et al., 2016).

En cuanto al diagnóstico, se utiliza un enfoque serológico en la Atención Primaria (AP), seguido por la combinación de pruebas treponémicas y no treponémicas, basándose en sus características principales (Travassos et al., 2016).

Las pruebas no treponémicas, como la prueba RPR (Rapid Plasma Reagin), son altamente sensibles, pero tienen poca especificidad, por lo que los resultados positivos deben confirmarse. En los primeros estadios de la enfermedad, estas pruebas pueden arrojar falsos negativos, especialmente en la sífilis primaria y tardía, así como por el efecto prozona (falsos negativos debido a altos títulos de anticuerpos). También presentan un 10% de falsos positivos, que pueden ser causados por infecciones, enfermedades autoinmunes, neoplasias o embarazo. Estas pruebas pueden utilizarse para monitorear la eficacia de la terapia (Travassos et al., 2016).

**Infección por virus herpes simple (VHS):** El Virus del Herpes Simple (VHS) se caracteriza por la aparición de múltiples vesículas en la superficie del tejido, las cuales causan dolor y están rodeadas por un halo eritematoso en el área anogenital, provocando molestias. Esta infección se considera crónica y viral, con un comienzo de infección primaria. En aproximadamente el 75% de los casos,



puede ser asintomática, pero también puede presentar síntomas (Travassos et al., 2016).

**Gonorrea:** La *Neisseria gonorrhoeae* (NG) como la *Chlamydia trachomatis* (CT) son las bacterias más comunes asociadas con las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) en todo el mundo. Las complicaciones derivadas de estas infecciones pueden afectar tanto a hombres como a mujeres, incluyendo casos de epididimitis, uretritis, cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica y embarazo ectópico. Además, las infecciones en sitios extragenitales, como el ano, el recto y la faringe, han generado preocupación debido a su aumento en los últimos años (Murray et al., 2014).

Los informes recientes señalan un aumento en las prácticas de coito anal entre parejas homosexuales, acompañado de una disminución en el uso del preservativo en comparación con el coito vaginal. En las relaciones anales, las mucosas son más vulnerables al VIH debido a la falta de una barrera inmunitaria humoral adecuada, lo que aumenta la susceptibilidad a posibles lesiones traumáticas (Murray et al., 2014).

La prueba rápida de diagnóstico de la gonorrea es esencial para detectar visualmente el antígeno de la gonorrea en muestras de espécimen y orina del sistema urogenital. Se basa en el principio de doble ensayo inmunológico, donde los anticuerpos pueden reconocer el antígeno de la gonorrea en la muestra. Esta prueba no requiere instrumentación especial para la visualización de los resultados, lo que la hace ideal para su uso en el campo de investigación al contener las muestras de espécimen (INS, 2002).



La transmisión de esta enfermedad ocurre principalmente a través del contacto directo con las mucosas infectadas durante las relaciones sexuales, ya sea oral, vaginal o anal, sin el uso de preservativo como medida de protección (INS, 2002).

#### **2.2.4.1. *Neisseria gonorrhoeae***

La gonorrea ha sido reconocida desde el siglo II a.C. por Galeno, y hay referencias de esta infección en antiguos textos religiosos y en historias de diversas culturas. Sin embargo, fue en 1879, durante el siglo XIX, cuando Albert Neisser logró identificar la bacteria responsable y distinguir esta enfermedad de la sífilis. Desde entonces hasta la actualidad, ha habido un intenso debate científico sobre la taxonomía de *Neisseria gonorrhoeae*, con varias reorganizaciones a lo largo del tiempo. En 1988, Stackebrandt y colaboradores utilizaron diferentes técnicas como la hibridación de ADN-ribosómico, la comparación de ADN y la secuenciación de ARNr 16S para clasificarla en la clase  $\beta$ -proteobacteria y asignarle un orden y una familia propios, diferenciándola de las  $\gamma$ -proteobacterias, donde prevalecen otros órdenes y familias como *Pseudomonas* y *Moraxella* (Ortiz et al., 2021).

*Neisseria gonorrhoeae* es una bacteria en forma de diplococo Gram negativo, lo que significa que, al teñir el fluido purulento con tinción de Gram, se pueden observar diplococos intracelulares dispuestos en forma de "granos de café". Esta bacteria tiene un crecimiento lento y es difícil de cultivar. Para su cultivo, el medio de agar chocolate o GC adicionado es el más útil, mientras que el medio de cultivo Thayer-Martin



es el preferido para aislar la bacteria en muestras clínicas que contienen un microbiota acompañante. (Koneman et al., 2008).

El medio de Thayer-Martin contiene vancomicina, nistatina, colistina y trimetoprim, que inhiben el crecimiento del microbiota normal, pero permiten el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*. El tamaño celular de esta bacteria varía entre 0.6 y 1  $\mu\text{m}$ , con un diámetro promedio de 0.8  $\mu\text{m}$ , y se puede observar dentro de los neutrófilos polimorfonucleares bajo un microscopio de luz. Por lo general, *Neisseria gonorrhoeae* crece a una temperatura de 35°C a 37°C en una atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub> (Ortiz et al., 2021).

La *Neisseria gonorrhoeae* afecta en los seres humanos, siendo más comúnmente cultivada en individuos de entre 15 y 24 años. Los portadores pueden presentar síntomas o no, siendo las mujeres especialmente propensas a no mostrar síntomas. La transmisión ocurre principalmente a través de relaciones sexuales heterosexuales u homosexuales (Marina & Cruz, 2016).

Esta bacteria se desarrolla en las superficies húmedas de las mucosas, como el cérvix, útero y trompas de Falopio en mujeres, así como en la uretra masculina. También puede encontrarse en la boca, faringe y ano, aunque con menor frecuencia. En casos menos comunes, puede afectar las articulaciones, dando lugar a artritis gonocócica (artritis séptica), especialmente en pacientes inmunodeprimidos o con VIH/SIDA. Las mujeres infectadas con gonorrea no tratada pueden transmitir la bacteria al recién nacido durante el parto, lo que puede causar conjuntivitis



gonocócica en el bebé, también conocida como oftalmía neonatal (Ortiz et al., 2021).

### **Taxonomía**

**Filo** : Proteobacteria

**Clase** :  $\beta$ -Proteobacterias

**Orden** : Neisseriales

**Familia** : Neisseriaceae

**Género** : *Neisseria*

**Especie** : *Neisseria gonorrhoeae* (Stackebrandt & Cols, 1988).

La patogénesis y factores de virulencia en *Neisseria gonorrhoeae* exhibe un fenómeno biológico conocido como variación de fase, mediante el cual las cepas que carecen de pili (no patógenas) pueden expresarlos o modificarlos, lo que resulta en una variación en su composición antigénica. Esto les permite, en cierta medida, evadir la respuesta inmunitaria del huésped (Zuñiga, 2009).

Esta bacteria puede infectar tanto células ciliadas como no ciliadas, y se ha observado que la infección gonocócica se desarrolla en dos fases distintas. En la primera fase, la bacteria se adhiere a la mucosa, y luego procede a invadir las células epiteliales. Durante la etapa inicial de la adhesión, varios factores como la carga negativa de las superficies (tanto bacterianas como celulares), el pH y las interacciones hidrofóbicas, son importantes, siendo crucial la adhesión del microorganismo invasor a un receptor específico en la superficie celular. Los pilis junto con las proteínas



Opa, facilitan esta adhesión a los receptores (como CD46, CD66 e integritinas) presentes en el epitelio (Kenneth, 2011).

Existen receptores específicos, como el gangliósido GD, que se encuentran en enterocitos o células uroepiteliales humanas, y que interactúan con las adhesinas (fimbrias o pili) (Murray et al., 2014). Una vez que la bacteria ha adherido a la célula huésped, comienza la invasión, penetrando la célula epitelial y accediendo a la matriz subepitelial. La bacteria utiliza un sistema de secreción para inyectar múltiples proteínas en el interior de la célula huésped, algunas de las cuales provocan cambios en el citoesqueleto y desencadenan reacciones en cadena que facilitan la fagocitosis de la bacteria. Dentro del citosol, algunas bacterias escapan y se diseminan, mientras que otras se multiplican en el fagosoma, donde el gonococo suele localizarse, desencadenando una fuerte respuesta inflamatoria (Ortiz et al., 2021).

**Mecanismos de resistencia a antibióticos:** El interés por los mecanismos de resistencia sigue estando estrechamente vinculado a la práctica clínica. La aparición de resistencia a fármacos específicos en *Neisseria gonorrhoeae* se detalla en la Tabla 1. Sin embargo, se ha observado que los mecanismos de resistencia a los fármacos utilizados anteriormente para tratar la gonorrea, codificados por plásmidos (como la resistencia a la penicilina debido a la producción de beta-lactamasa o las proteínas TetM relacionadas con la resistencia a la tetraciclina), son inexistentes o muy raros en los tipos de secuencias dominantes en Europa. En estas bacterias, los mecanismos de resistencia basados en la síntesis de proteínas específicas codificadas por plásmidos han sido reemplazados por



otros mecanismos, determinados por mutaciones en genes cromosómicos. La transferencia del plásmido de beta-lactamasa a *Neisseria gonorrhoeae* del genogrupo ST1407 es posible, pero las bacterias no pueden mantener el plásmido por mucho tiempo (Suay & Pérez, 2018).

**Tabla 1**

*Antibióticos usados frente a Neisseria gonorrhoeae y su mecanismo*

<b>Antibióticos</b>	<b>Mecanismos</b>
Sulfonamidas	- Mutación cromosómica.
Penicilina	- Probablemente mutación cromosómica. - Plásmido que codifica beta-lactamasa (cepas PPNG).
Tetraciclinas	- Probablemente mutación cromosómica. - Plásmido que codifica TetM.
Espectinomicina	- Mutación cromosómica. - PPNG resistente a la espectinomicina.
Ciprofloxacino	- Mutación cromosómica.
CME	- Mutación cromosómica <i>penA</i> (CMI de ceftriaxona= 2.0 mg/l).
Azitromicina	- <i>ERMF</i> . - Mutación cromosómica 23S rRNA o <i>mtr</i> .
Cefixima	- Mutación cromosómica <i>penA</i> (CMI de ceftriaxona = 2.0 mg/l). - Mutación cromosómica <i>penA</i> (CMI de ceftriaxona = 1.0 mg/l). - Mutación cromosómica <i>penA</i> y ARNr 23S (CMI de ceftriaxona = 0.5 mg/L y CMI de azitromicina > 256 mg/l).
Ceftriaxona	- Mutación cromosómica <i>penA</i> (CMI de ceftriaxona = 2.0 mg/l).

Fuente: Młynarczyk et al., 2020.

El término "resistencia" se utiliza en exceso en relación con ciertos mecanismos. En *Neisseria gonorrhoeae*, por ejemplo, el mecanismo relacionado con la sobreproducción de bombas de membrana como MtrCDE, MacAB o NorM, a menos que interactúe con otro mecanismo, no causa resistencia propiamente dicha, sino que solo disminuye la



susceptibilidad (aumenta el valor de CMI del fármaco) y la cepa sigue clasificándose para susceptibilidad en la Tabla 2 (Młynarczyk et al., 2020).

**Tabla 2**

*Punto de corte CMI frente a Neisseria gonorrhoeae*

<b>Antibióticos</b>	<b>Puntos de corte de CMI (mg/L)</b>	
	<b>S ≥</b>	<b>R &gt;</b>
<b>Bencilpenicilina</b>	0.06	1.0
<b>Ceftriaxona</b>	0.125	0.125
<b>Ciprofloxacino</b>	0.03	0.06
<b>Ofloxacina</b>	0.125	0.25
<b>Tetraciclina</b>	0.5	1.0
<b>Azitromicina*</b>	1.0	1.0

Nota: (\*) La azitromicina siempre se administra en combinación con otro agente efectivo

Fuente: Młynarczyk et al., 2020.



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. ZONA DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en el departamento de Puno, provincia San Román y distrito de Juliaca, en el Hospital Carlos Monge Medrano específicamente en el área de CERITS, las coordenadas de ubicación son Latitud sur  $15^{\circ}28'55''$  y  $70^{\circ}07'11''$  longitud oeste, donde se realizan procedimientos y tratamientos relacionados con ITS. Las muestras obtenidas de pacientes ya sea con síntomas (varones) y de las pacientes femeninas que acuden por exámenes completos para ITS, fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología del laboratorio de anatomía y patología del mismo hospital, donde se realizaron los análisis correspondientes de las muestras tomadas. La planta “Ajenjo” se recolectó del Distrito de Samán,  $15^{\circ}12'48''$ - latitud sur y  $9^{\circ}54'34''$ - longitud oeste, del cual se obtuvo el extracto etanólico y el aceite esencial en la Universidad Nacional del Altiplano, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias específicamente en el laboratorio de Taller de Frutas y Hortalizas. Siendo procesadas en el Hospital Carlos Monge Medrano en el laboratorio de Microbiología.

## Figura 1

*Zonas de recolección de muestras de pacientes, durante los meses de febrero a abril del año 2024*



**Fuente:** Google maps.

### 3.2. DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO

El diseño de esta investigación fue experimental (Hernández et al., 2014), en razón de que se manipularon variables (concentraciones de extractos etanólicos y aceites esenciales de hojas de *Artemisia absinthium*). Para esto, se aplicó 6 tratamientos de: 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100%; con su respectivo grupo control positivo utilizando Ceftriaxona, cada uno con tres repeticiones y su control negativo; siendo análisis de laboratorio ejecutados entre los meses de febrero a mayo del año 2024.

**Tabla 3**

*Diseño experimental para la susceptibilidad antimicrobiana de extracto etanólico y aceite esencial de Artemisia absinthium*

Repeticiones	CP	CN	Concentraciones de <i>Artemisia absinthium</i>						
			10%	20%	40%	60%	80%	100%	TOTAL
<b>R1</b>	1		1	1	1	1	1	1	7
<b>R2</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	8
<b>R3</b>	1		1	1	1	1	1	1	7
<b>TOTAL</b>	3	1	3	3	3	3	3	3	22

Nota: Control positivo (CP), control negativo (CN).

Fuente: Elaboración propia.

El tipo de investigación fue de nivel explicativo (Hernández et al., 2014), por lo que se procedió a identificar colonias bacterianas de *Neisseria gonorrhoeae* de CERITS de la Red San Román, evaluando características culturales, tinción Gram y pruebas de catalasa, oxidasa y pruebas bioquímicas; asimismo, se realizó comparación mediante medición de los halos de inhibición de las bacterias sometidos a extractos etanólicos y aceites esenciales de hojas de *Artemisia absinthium*, comprobando así si es resistente, intermedio o sensible. Y se realizó manipulación de variable independiente, lo cual brindó información precisa de la susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* frente a *Artemisia absinthium*.

### 3.3. POBLACION Y MUESTRA

Para el muestreo se tomó como referencia el promedio atendido en los últimos tres meses del año 2023 del área de CERITS de la Red San Román, correspondientes a 21 pacientes varones y mujeres positivos confirmados con *Neisseria gonorrhoeae*, aplicando un muestreo probabilístico (Hernández et al., 2014), para ello se utilizó la siguiente ecuación matemática:



$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{e^2 \times (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

n: tamaño de muestra promedio de tres meses.

N: Tamaño de la población = 21.

Z: Parámetro estadístico para la depende el nivel de confianza = 1.96.

e: Error estimado máximo aceptado = 0.05.

p: (1- q) probabilidad de que ocurra un evento estudiado = 0.5.

q: (1- p) = probabilidad que es opuesto a p = 0.5.

Tamaño de muestra de pacientes con *Neisseria gonorrhoeae*

$$n = \frac{21 * 1.96 * 0.5 * 0.5}{0.05^2 * (21 - 1) + 1.96 * 0.5 * 0.5}$$

$$n = 19.3 \text{ muestras} \approx 19 \text{ muestras}$$

Luego de realizar el cálculo del tamaño de muestra mediante la ecuación, se determinó una muestra de 19 pacientes, los cuales se distribuyeron en tres meses que duró la ejecución de la presente investigación, por tanto, en cada mes se evaluó 6 muestras para los dos meses y en el último mes 7 muestras para el cumplimiento de cada objetivo específico.

#### a) Criterios de inclusión

- Pacientes nacidos en otras regiones y de la región Puno.
- Pacientes con síntomas evidentes a gonorrea.
- Pacientes con diagnóstico a gonorrea.



## **b) Criterios de exclusión.**

- Pacientes que tomaron antibióticos.
- Pacientes menores de 17 años.

## **3.4. MÉTODO DE CAMPO**

### **3.4.1. Obtención del material vegetal**

La recolección de *Artemisia absinthium* se realizó en el distrito de Samán–Puno de la comunidad de Chacamarca. Luego de recolectar en bolsas de polietileno debidamente seleccionada, se trasladó a la Universidad Nacional del Altiplano, específicamente al laboratorio de Taller de Frutas y Hortalizas de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias, donde se procedió a lavar con agua destilada para eliminar el exceso de polvo y partículas extrañas (Aquino, 2017).

## **3.5. MÉTODO DE LABORATORIO**

### **3.5.1. Obtención de las muestras de *Neisseria gonorrhoeae***

Las muestras se obtuvieron antes de que el paciente inicie con el tratamiento y que además no haya consumido antimicrobianos sistémicos o locales. Para la toma de muestra se usó EPPs implementados y para una correcta toma de muestra con hisopos de baja toxicidad llamado dacrón o alginato de calcio, a los varones se les tomó por la uretra y en caso de las mujeres hisopado cervical. De manera inmediata se sembraron en el medio de cultivo y se realizó un extendido en lámina para la tinción Gram (INS, 2002).



### 3.5.2. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*

#### - Agar chocolate

**Fundamento:** Es un método para el aislamiento de gonococos en veinticuatro horas. La base del Agar Chocolate contiene caseína y peptonas seleccionadas como fuentes de nitrógeno, con un pH controlado. La hemoglobina proporciona la hemina (factor X) y el suplemento vitamínico suministra, entre otros, el factor V (Nicotinamida Adenina Dinucleótido), esencial para diversas especies de *Haemophilus*. Además, este medio incluye vitaminas, aminoácidos, coenzimas y glucosa, todos ellos factores esenciales para el crecimiento de *Neisserias* patógenas y otros microorganismos exigentes (Koneman et al., 2008).

**Procedimiento:** Se procedió a preparar el medio de cultivo empleando placas Petri especiales para antibiograma (20x150 mm), en lo cual se vertió medio de cultivo Agar Sangre estéril, se añadió 5% de sangre de cordero desfibrinada, luego se llevó a post autoclavado que fue calentado hasta lograr el agar chocolate (tonalidad marrón) y luego se dejó enfriar a 50 °C (INS, 2002).

#### - Agar Thayer Martín

**Fundamento:** Las características culturales de *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis* presenta grandes desafíos para el bacteriólogo que son exigentes necesidades nutricionales de estos microorganismos. En muestras genitales (resaltando femeninas), la dificultad aumenta debido a la abundante flora contaminante presente en estos especímenes, lo que explica las fallas en la recuperación del gonococo, que queda enmascarado por el crecimiento invasivo de la flora saprófita. El medio de cultivo utilizado es altamente nutritivo,





compuesto por agar base Gelosa Chocolate (GC), hemoglobina y el suplemento de enriquecimiento Britalex. La adición de la mezcla antimicrobiana V.C.N.T. (vancomicina, colistina, nistatina y trimetoprima) lo que le confiere selectividad, inhibiendo el crecimiento de microorganismos Gram positivos y Gram negativos (incluido *Proteus* spp. y *Candida* spp.); pueden ser aisladas en un plazo de 18 a 48 horas con casi ninguna contaminación (INS, 2002).

**Procedimiento:** Para la preparación de GC Agar Base (doble concentración) se empleó 250 ml y 250 ml de solución de hemoglobina al 2% en diferentes matraces, autoclavadas y posteriormente para el plaqueo se añadió Britalex, 1 ml de la mezcla antimicrobiana V.C.N.T., finalmente se mezcló para homogeneizar y se plaqueo (INS, 2002).

### 3.5.3. Aislamiento e identificación de *Neisseria gonorrhoeae*

**Método:** Estría simple en agar Medio de Thayer Martin (Ortiz et al., 2021).

**Fundamento:** El diagnóstico cultural de *Neisseria gonorrhoeae* presenta serios obstáculos al bacteriólogo a razón de que exige nutrientes especiales, la presencia de Agar Base GC, suplementos de enriquecimiento y hemoglobina. Por ende, es un medio selectivo. En muestras de origen genital (femenino) la dificultad se incrementa por la abundante flora de contaminación presente en estos especímenes; por ello explica las cantidades fallidas en la recuperación del gonococo al quedar enmascarado por el desarrollo invasor de la flora saprófita (Murray et al., 2014).

**Procedimiento:** Se trabajó con equipo de contención en instalaciones del Nivel de Bioseguridad 2. Se preparó el hisopo ya con la muestra en una placa conteniendo agar Thayer Martin, mediante giros al hisopo sobre el medio, de



inmediato se incubaron las placas sembradas con la muestra de inmediato en la estufa a 37 °C con un ambiente regulado de 3 a 7% de CO<sub>2</sub> y 50 a 70% de humedad por lo que se usó jarra de cierre hermético o también llamado tipo GasPak condicionado con gasa humedecida en agua destilada en la base, además de que se colocó una vela pequeña encendida antes de incubarlas, con lo que generó las condiciones adecuadas para el crecimiento del gonococo. Después de 18 a 24 horas de incubación presentó un tamaño de 1 a 2 mm con ligero levantamiento de diámetro, traslucido y mucoide (INS, 2002).

Para la obtención del cultivo puro o colonias individuales se hizo un repique con cultivo joven de 18 a 24 horas, ósea hacer un sub cultivo en Agar Chocolate añadido suplemento enriquecedor; en seguida para una orientación rápida se hizo tinción Gram, para su confirmación pruebas bioquímicas: la prueba de producción de polisacárido tomando colonias provenientes del cultivo joven constó en inocular en tubos de medio diferencial con inclinación o pico de flauta, de Cystine Trypticase Agar (CTA-Carbohidrato) haciendo una picadura en el tercio superior con estrías a 37 °C sin CO<sub>2</sub> por 18 a 72 horas; además se hizo la prueba de la oxidasa con N.N dimetil 1.4-fenilenediamonio ácido clorhídrico usando un asa platino o aluminio y para la prueba de catalasa el reactivo peróxido de hidrógeno (30%) en una lámina portaobjeto (INS, 2002). Para la lectura confirmatoria se observó la presencia de crecimiento en agar Thayer Martin con características culturales de colonias traslucidas, transparentes, catalasa positiva, oxidasa positiva, medio diferencial CTA glucosa positivo con cambio de color a amarillo (ácido), excepto de los 3 demás azúcares y la observación al microscopio de diplococos intracelulares Gram negativo (INS, 2002).



### 3.6. EVALUACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Artemisia absinthium* AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% EN *Neisseria gonorrhoeae*

#### 3.6.1. Obtención de extracto etanólico

**Método:** Extracción por maceración (Gonzalez, 2004).

**Fundamento:** Extracto que se caracteriza con olor distintivo, obtenido de materia prima disecada de origen vegetal, por maceración en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico, estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado (Gonzalez, 2004).

**Procedimiento:** El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración con etanol/ agua (en una proporción de 70:30), en el transcurso de 7 días; para ello se aplicó el método de maceración de 200 g de *Artemisia absinthium* pulverizado en 300 ml de etanol/agua reposando en temperatura ambiente, pasado esa semana se filtró el extracto hidroalcohólico usando papel Whatman N°4 con el propósito de separar impurezas, luego con seguridad se tiene el complejo activo seco y el solvente se evaporará (Aquino, 2017).

Para la preparación de las concentraciones de extracto etanólico se realizó en 6 tubos (Tito, 2021):

- Concentración 1(10%): 1800 µl alcohol 70° +200 µl de extracto etanólico.
- Concentración 2 (20%):1600 µl alcohol 70° + 400 µl de extracto etanólico.



- Concentración 3 (40%): 1200  $\mu$ l alcohol 70° + 800  $\mu$ l extracto etanólico.
- Concentración 4 (60%): 800  $\mu$ l alcohol 70° + 1200  $\mu$ l extracto etanólico.
- Concentración 5 (80%): 400  $\mu$ l alcohol 70° + 1600  $\mu$ l extracto etanólico.
- Concentración 6 (100%): 2000  $\mu$ l de extracto etanólico de *Artemisia absinthium*.

### 3.6.2. Realización de antibiograma frente a *Neisseria gonorrhoeae* y evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana

**Método:** Método de Kirby – Bauer (De la Cruz, 2020).

**Fundamento:** Este método es utilizado para determinar la presencia susceptible, en específico la sensibilidad de los microorganismos o agentes infecciosos a medicamentos antibióticos; los fármacos que harán eficacia producen áreas libres de microorganismos (Cercenado & Saavedra, 2009).

**Procedimiento:** Una vez preparado el medio Agar Chocolate en placas Petri se usó Infusión Cerebro Corazón, de ahí con ayuda de un hisopo se sembró 0.1 ml de *Neisseria gonorrhoeae* (0.5 en la Escala McFarland,  $10^8$  UFC/ml), en seguida se hizo seis pocillos equidistantes con la ayuda de un sacabocado estéril con diámetro 6 mm, luego se agregó 20  $\mu$ l/pocillo con la ayuda de micropipetas en cada solución 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100%, utilizando alcohol 70° como diluyente (Tito, 2021). Y al mismo tiempo se utilizó un control positivo (ceftriaxona) y por muestra un control negativo (alcohol al 70°).

**Lectura de antibiograma:** La lectura de los halos de inhibición correspondiente a cada pocillo se realizó con el vernier (Tito, 2021). De ahí se



aplicó la escala de Duraffourd, que si es inferior o igual a 8 mm la inhibición es nula, de 9 a 14 mm es sensible (+), de 15 a 19 mm (sensible ++) y superior a 20 mm (sensible +++), sirviendo como parámetro de control positivo ceftriaxona (Duraffourd et al., 1986).

### 3.6.3. Variables que evaluar en la investigación

- **Variable independiente:** Extracto etanólico de las hojas de *Artemisia absinthium* (ajenjo).
- **Variable dependiente:** Efecto antibacteriano sobre *Neisseria gonorrhoeae*.

## 3.7. EVALUACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA DE ACEITES ESENCIALES DE *Artemisia absinthium* AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% EN *Neisseria gonorrhoeae*

### 3.7.1. Obtención de aceite esencial

*Artemisia absinthium* se colectó en el distrito de Samán – Puno. Se trasladó en bolsas de polietileno debidamente seleccionada a la Universidad Nacional del Altiplano, específicamente al laboratorio de Taller de Frutas y Hortalizas de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias, donde se procedió a lavar con agua destilada para eliminar el exceso de polvo y partículas extrañas, luego se dejó para que se seque en temperatura ambiente durante un mes (Aquino, 2017).

**Método:** Destilación por arrastre a vapor de agua (Quispe & Barrios, 2018).



**Fundamento:** La planta medicinal al momento de calentar separa sus componentes, los más volátiles forman parte de la fase de vapor, al enfriarse recuperan su compuesto al estado normal líquido por medio del procedimiento llamado condensación y así la obtención del aceite esencial (Quispe & Barrios, 2018).

**Procedimiento:** Para la obtención de aceite esencial se colocaron 3 Kg de *Artemisia absinthium* con 5 L de agua destilada en el destilador por arrastre con vapor de agua, a una temperatura aproximado de 89.5 °C, en un tiempo de 2 horas. Una vez condensada la mezcla agua-aceite esencial, se realizó la separación mediante decantación por diferencia de densidades (Pino et al., 2011).

Para la preparación de solución de aceite esencial se realizó en tubos y se ha emplea como diluyente a dimetilsulfóxido (DMSO):

- 10% (200 µl aceite esencial de *Artemisia absinthium* + 1800 µl de dimetilsulfóxido).
- 20% (400 µl aceite esencial + 1600 µl de dimetilsulfóxido).
- 40% (800 µl de aceite esencial + 1200 µl dimetilsulfóxido).
- 60% (1200 µl aceite esencial + 800 µl dimetilsulfóxido).
- 80% (1600 aceite esencial + 400 µl dimetilsulfóxido).
- 100% se usó 2000 µl de aceite esencial.

### 3.7.2. Susceptibilidad y lectura antimicrobiana frente a *Neisseria gonorrhoeae*

**Método:** Método de Kirby – Bauer (De la Cruz, 2020).

**Fundamento:** Este método es utilizado para determinar la presencia susceptible, en específico la sensibilidad de los microorganismos o agentes infecciosos a medicamentos antibióticos; los fármacos que harán eficacia producen áreas libres de microorganismos (Cercenado & Saavedra, 2009).

**Procedimiento:** Una vez preparado el medio Agar Chocolate en placas Petri y se preparó la suspensión bacteriana con suero fisiológico, con ayuda de un hisopo se sembró 0.1 ml de *Neisseria gonorrhoeae* (la técnica de Kirby-Bauer por difusión en pozo, 0.5 en la Escala McFarland,  $10^8$  UFC/ml), se hizo seis pozos con diámetro de 6 mm, luego se agregó 20  $\mu$ l/pocillo con la ayuda de micropipetas se colocó 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100% de concentraciones, utilizando dimetilsulfóxido como diluyente (Tito, 2021). Y a la vez también se utilizó un control positivo (ceftriaxona) y control negativo (dimetilsulfóxido).

**Lectura de antibiograma:** La lectura de los halos de inhibición correspondiente a cada pocillo se realizó con el vernier (Tito, 2021). De ahí se aplicó la escala de Duraffourd, que si es inferior a 8 mm la inhibición es nula, de 9 a 14 mm es sensible (+), de 15 a 19 mm (sensible ++) y superior a 20 mm (sensible +++) sirviendo como parámetro de control positivo ceftriaxona (Duraffourd et al., 1986).



### 3.7.3. Variables que evaluar en la investigación

- **Variable independiente:** Aceites esenciales de las hojas de *Artemisia absinthium* (ajenjo).
- **Variable dependiente:** Efecto antibacteriano sobre *Neisseria gonorrhoeae*.

### 3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los diámetros de halos de inhibición obtenidos por efecto del aceite esencial fueron aplicados mediante la prueba de Kruskal Wallis con un nivel de significancia  $P < 0.05$  y Chi Cuadrado para la susceptibilidad antibacteriana sobre *Neisseria gonorrhoeae*, luego del cual los datos obtenidos se procesaron mediante el software Infostat versión estudiantil 2020.



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. INHIBICIÓN BACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Artemisia absinthium* AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% FRENTE A *Neisseria gonorrhoeae*

##### - Diámetros de halos de inhibición con extracto etanólico

**Tabla 4**

*Halos de inhibición (mm) según concentraciones de extracto etanólico*

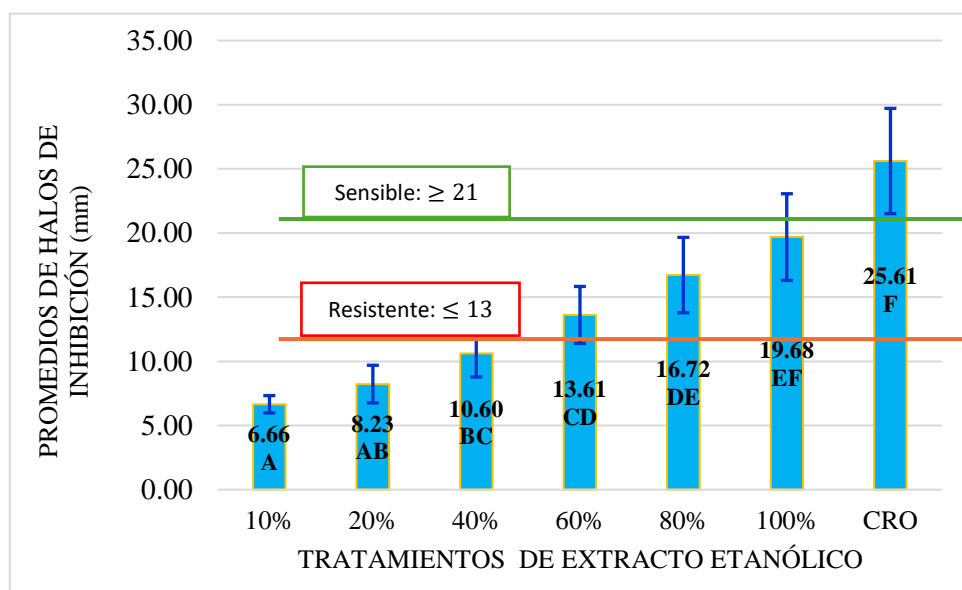
Aislamiento bacteriano	Halos de inhibición (mm) según concentraciones de extractos etanólicos						Control positivo
	10%	20%	40%	60%	80%	100%	Ceftriaxona
N-1	7.00	8.67	11.00	13.67	20.67	26.33	30.00
N-2	6.67	8.00	11.00	13.33	16.00	20.33	26.00
N-3	7.00	7.00	10.00	13.67	15.33	16.67	20.67
N-4	7.33	9.67	12.33	15.33	18.33	20.67	28.67
N-5	7.00	8.67	11.33	14.00	17.67	20.00	20.67
N-6	7.67	8.00	11.67	15.67	18.00	21.00	29.33
N-7	6.00	6.33	8.33	9.67	12.67	15.33	20.00
N-8	7.67	10.67	14.00	17.00	18.67	21.33	29.67
N-9	6.33	7.33	7.67	11.00	13.67	15.33	20.33
N-10	6.67	8.00	9.67	13.33	17.67	21.00	27.33
N-11	6.00	7.67	11.00	13.33	16.33	20.00	21.67
N-12	7.33	8.67	12.00	15.00	16.67	20.33	26.67
N-13	7.67	10.33	12.33	15.00	16.33	21.33	29.33
N-14	7.33	10.00	12.00	15.33	20.33	24.67	30.67
N-15	7.67	11.00	12.67	15.67	22.67	25.33	26.67
N-16	6.00	7.00	9.33	12.67	15.00	17.67	20.67
N-17	7.67	9.33	11.00	15.33	18.33	21.00	29.33
N-18	8.00	11.00	15.00	20.00	24.33	27.00	28.67
N-19	6.00	7.00	9.33	12.67	15.00	17.33	20.33
<b>PROM</b>	6.66	8.23	10.60	13.61	16.72	19.68	25.61
<b>DE</b>	0.68	1.47	1.83	2.22	2.94	3.38	4.10
<b>CV (%)</b>	10.16	17.84	17.23	16.34	17.57	17.16	16.02

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 4 se presenta los promedios de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Artemisia absinthium* de muestras aisladas de *Neisseria gonorrhoeae*, donde se obtuvo como concentración baja en el tratamiento 10% con un promedio de diámetros de halos de inhibición con 6.66 mm, al 100% con 19.68 mm, teniéndose como control positivo a la ceftriaxona con 25.61 mm siendo el promedio de halo de inhibición más alta; por lo cual, se interpreta que es proporcional el aumento de la concentración al aumento del tamaño del halo de inhibición. Por otro lado, la desviación estándar indica una mayor variabilidad en los resultados a concentraciones más altas, en el control positivo (ceftriaxona) un valor de 4.10, seguido por 3.38 al 100% y 0.68 al 10% de concentración siendo una desviación estándar idónea. Asimismo, el coeficiente de variación con una dispersión de datos baja fue con el tratamiento al 10% con (10.16%), en cambio en los tratamientos del 20% al 100% son de dispersión de datos leve con respecto a sus promedios, el cual indica que los resultados son más consistentes y menos variables con respecto a la mediana.

## Figura 2

*Promedios de halos de inhibición de concentraciones de extracto etanólico*



Fuente: Elaboración propia.

Luego de realizar la prueba de supuestos (Tabla 8) viabilizando a una prueba no paramétrica, se prosiguió con la prueba de Kruskal Wallis; los diámetros de halos de inhibición del extracto etanólico de *Artemisia absinthium*, quienes presentaron diferencia estadística significativa ( $H= 117.65$ ;  $gl= 6$ ;  $P= 0.0001$ ) como se representa en la Tabla 9. Además el rango de medias indica que con la concentración al 100% expresó un promedio de 19.68 mm de diámetros, 80% con 16.72 mm, 60% con 13.71 mm, 40% con 10.60 mm, 20% expresó 8.24 mm y el menor promedio de diámetro fue al 10% son diferentes relevantes, con respecto al tratamiento control positivo de ceftriaxona que en promedio expresó 25.61 mm de diámetros de inhibición fue la más grande y el único que fue superior al 21 mm, siendo sensible con respecto a los otros tratamientos, que fueron inferiores al valor de susceptibilidad, tal como se muestra en la Figura 2.

- **Susceptibilidad de halos de inhibición con extracto etanólico**

**Tabla 5**

*Susceptibilidad de halos de inhibición con extracto etanólico de Artemisia absinthium*

Tratamientos	Escala de Duraffourd				% de inhibición	Total
	R	S <sub>+</sub>	S <sub>++</sub>	S <sub>+++</sub>		
10%	19	0	0	0	0	19
20%	8	11	0	0	0	19
40%	0	18	1	0	0	19
60%	0	10	8	1	5.26	19
80%	0	1	14	4	21.05	19
100%	0	0	4	15	78.95	19
CRO	0	0	0	19	100	19
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>40</b>	<b>27</b>	<b>39</b>		<b>133</b>

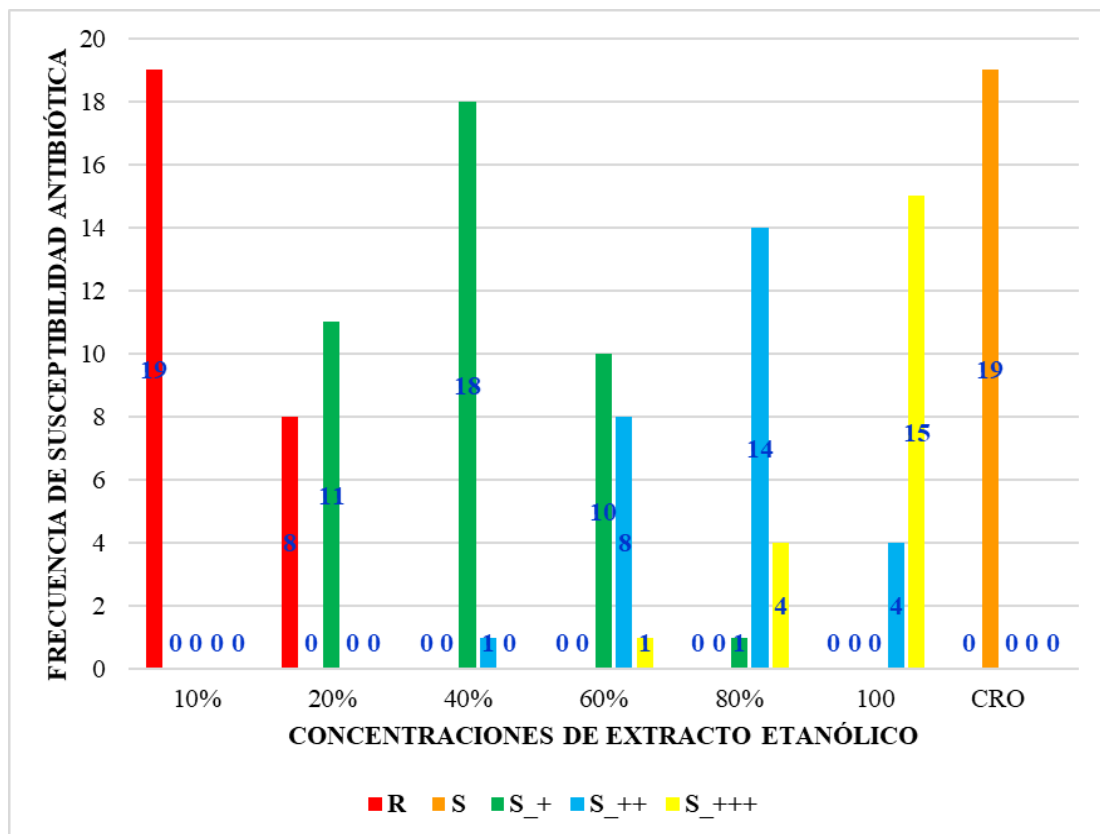
Nota: Resistente (R), sensible de 9 a 14 mm (S<sub>+</sub>), sensible de 15 a 19 mm (S<sub>++</sub>), sensible superior a 20 mm (S<sub>+++</sub>) y ceftriaxona (CRO).

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 5, se observa el número de muestras de *Neisseria gonorrhoeae* clasificados entre las escalas de resistente (R), sensible intermedio (S+, S++) y como susceptible (S+++ según escala de Duraffourd; en el tratamiento (T) de 10% todos fueron resistentes, al 20% (8 fueron R y 11 S+), al 40% ( 18 S+ y 1 S++), al 60% (10 S+, 8 S++ y 1 S+++), al 80% (1 S+, 14 S++ y 4 S+++); al 100% (15 S+++ y 4 S++); asimismo, en el tratamiento 60% presenta un 5.26 % de inhibición, en T 80% en 21.05 % y al T 100% en 78.95% siendo el mejor tratamiento, dando una inhibición cercana al control positivo (ceftriaxona) que inhibió al 100% de cepas aisladas.

### Figura 3

*Frecuencia de susceptibilidad de halos de inhibición en concentraciones de extracto etanólico*



Fuente: Elaboración propia.

Después de realizar la prueba de Chi cuadrado, la susceptibilidad en aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* frente a extracto etanólico de *Artemisia absinthium* está asociado significativamente ( $X^2_C = 252.78$ ;  $gl = 18$ ;  $P = 0.0001$ ). Por lo tanto, en razón de que el valor P fue menor al 0.05, entonces se acepta la hipótesis alterna que afirma que las frecuencias de la escala de Duraffourd, son dependientes de la concentración del extracto etanólico, o varían en función de la concentración del extracto etanólico (Tabla 10). La cantidad de aislamientos del 10% como resistentes fueron todos, en cuanto al número de aislamientos en el tratamiento 60% hubo un aislamiento resistente representando un porcentaje de inhibición del 5.26%, en el T 80%, 4 aislamientos inhibieron y al T 100% 15 aislamientos inhibieron, representando el 78.95% con referencia al grupo control ceftriaxona que si inhibió a los 19 aislamientos (100%) como se aprecia en la Figura 3.

Los valores promedios de diámetros de halos de inhibición en aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* frente a concentraciones de extracto etanólico de *Artemisia absinthium* con 25.61 mm, resultando tener concordancia con los reportes de Tito (2021) quien encontró como resultado que la ceftriaxona posee efectividad significativa contra *Neisseria gonorrhoeae*, de 61.00 mm de diámetro de halo de inhibición, además el extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) presentó diferencia estadística al 100% representando diámetros de halos de inhibición de 14.70 mm, al 80% fue mejor presentando 19.70 mm de halos de inhibición; mientras que con *Caesalpinia spinosa* (tara) se reportó mayor significancia a un diámetro de 31.00 mm al 100% con un p valor de T de Student ( $P=0.004, 0.03, 0.04, 0.002$  y  $0.01$ ).

Asimismo, Fifer et al. (2018) mencionaron que en todos sus aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* fueron susceptibles a ceftriaxona (CMI de 0.008 a 0.032 mg/l),



lo cual representa su diseminación clonal en la cepa HL-Azir y determinación de mecanismos a nivel molecular.

Entre otros estudios, como Golparian et al. (2011) mencionaron que hubo susceptibilidad disminuida de *Neisseria gonorrhoeae* a la cefixima y/o ceftriaxona. Asimismo, Ma et al. (2023) detalló que 90% de sensibilidad a la ceftriaxona, que en esta investigación fueron en su totalidad susceptibles. Teniendo presente que otras plantas cercanas a la planta *Artemisia absinthium* son eficaces, como menciona Malmir et al. (2015) indicando que el extracto etanólico de hoja de *Terminalia macroptera* posee actividad antibacteriana contra *Neisseria gonorrhoeae* y las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) (100 y 200 µg/ml), es que al aplicar otro método que es la partición de líquido-líquido dividiendo en cinco fracciones el extracto etanólico, como resultado hallaron que todos mostraron actividad anti- *Neisseria gonorrhoeae* y la más activa fue la fracción de éter dietílico con valores de 25 y 50 µg/ml.

La actividad antimicrobiana observada abarca *Neisseria gonorrhoeae* con distintas susceptibilidades que como mayor halo inhibitor solo está al 100%, lo cual atribuye a que tiene más funciones como diurético y antipirético (infusión de *Artemisia absinthium* L. “ajenjo”) (Gonzalez, 2004). El análisis químico mediante fraccionamiento líquido-líquido y estudios de purificación por cromatografía realizados en el extracto hidroetanólico de la raíz de *S. podocarpa* también permitió establecer por primera vez el perfil LC-UV/DAD de este medicamento a base de hierbas y la identificación de seis derivados bien conocidos del antraceno: senósido A, senósido B, rheim, emodina, crisofanol y fisone (Malmir et al., 2015). Asimismo, Silva et al. (1997) demostraron previamente con extractos de raíz y hoja de *Terminalia macroptera* tienen efectividad contra cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, ya sean susceptibles, intermedias o incluso resistentes a los antibióticos.



Se usó alcohol 70° en el primero objetivo, por lo que se obtuvo menor significancia de sensibilidad en la inhibición frente a la *Neisseria gonorrhoeae*, a lo que mencionan Malmir et al. (2015), que el estudio de fraccionamiento que uso fue éter dietílico, acetato de etilo y agua, seguido de técnicas de cromatografía preparativa, lo que determinó la mejor actividad antimicrobiana (fracción de éter dietílico), especialmente son compuestos puros. Además, Ahamad et al. (2014) informaron que el extracto metanólico de *Artemisia absinthium* contiene glucósidos de isoflavona que revelaron como diéster de isoflavonil glucosilo de *Artemisia* y bis-isoflavonil dirhamnósido.

Teniendo en cuenta que en la investigación con extracto etanólico no hubo sensibilidad a excepción del control positivo CRO. Sin embargo, esta bacteria es exigente en su crecimiento debido a la presencia de nuevos alelos del mosaico penA y otras alteraciones como A501, penB y mtrR, que son de gran importancia por su contribución a una disminución de la susceptibilidad o incluso resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido (Golparian et al., 2010). Además, existen determinantes modernos que podrían provocar resistencia, como lo sugirió previamente Sánchez & Acosta (2017) señalando que las alteraciones en genes como pilQ (anteriormente conocido como penC) y las transformaciones en penA que afectan la codificación de PBP 1.3, se asocian con una menor susceptibilidad. Además, *Artemisia absinthium* contiene compuestos como ácidos fenólicos y glucósidos (ácidos cumárico, clorogénico, siríngico, salicílico y vanílico), fundamentales en el mecanismo de eliminación de los radicales libres del agente patógeno (Kordali et al., 2005).

Sin embargo, Demczuk et al. (2017) indican que la disminución o modificación de la actividad metabólica de ciertas proteínas puede influir en la infectividad, la capacidad de colonización y la tasa metabólica, que en la investigación se vulneró este detalle con etanol; por ende Młynarczyk et al. (2020) mencionan que la ceftriaxona



presenta efecto bactericida contra *Neisseria gonorrhoeae* debido a la inactivación del dominio transpeptidasa en las proteínas PBP2 y PBP1, que participan en la síntesis de peptidoglicano. A lo que “Ajenjo” en esta extracción solo presentó glucósidos de isoflavona que revelaron como diéster de isoflavonil glucosilo de *Artemisia* y bis-isoflavonil dirhamnósido Ahamad et al. (2014), que no fueron tan eficaces frente a *Neisseria gonorrhoeae*.

Los resultados que se obtuvieron con respecto la susceptibilidad de muestras aisladas de *Neisseria gonorrhoeae*, quienes presentaron diferencia estadística significativa entre las concentraciones y que los diámetros de halos de inhibición del tratamiento 100% presentando alto promedio con 15 aislamientos, similar al control positivo ceftriaxona que fueron el 100% de inhibición; por ende, se rechaza la hipótesis planteada que afirmaba el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Artemisia absinthium* al 100% inhibían el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*, se puede apreciar que, de 19 muestras bacterianas aisladas, 15 aislamientos ósea el 78.85% lograron ser inhibidas por la concentración al 100%.

Después de analizar por completo, se puede afirmar que los extractos etanólicos de *Artemisia absinthium* en promedio no presentaron diámetros de halos de inhibición superior a 21 mm, que solo 15 aislamientos de *Neisseria gonorrhoea* fueron sensibles con el tratamiento 100%; además, se puede mencionar que no fueron sensibles a comparación del control positivo ceftriaxona, todo lo señalado se reafirma por la prueba estadística al poseer diferencia estadística significativa de  $P=0.0001$ ; que a su vez podemos afirmar que la planta presenta bajos componentes por el medio de extractos etanólicos.



#### 4.2. INHIBICIÓN BACTERIANA DE ACEITES ESENCIALES DE *Artemisia absinthium* AL 10%, 20%, 40%, 60%, 80% Y 100% EN *Neisseria gonorrhoeae*

- Diámetros de halos de inhibición con aceites esenciales sobre *Neisseria gonorrhoeae*

**Tabla 6**

*Halos de inhibición (mm) con aceite esencial de Artemisia absinthium*

Aislamiento bacteriano	Halos de inhibición (mm) según concentraciones de aceite esencial						Control positivo
	10%	20%	40%	60%	80%	100%	Ceftriaxona
N-1	10.67	14.00	18.67	22.67	25.33	29.33	30.33
N2	9.33	13.67	15.33	18.67	20.67	23.67	25.67
N3	8.00	9.33	11.67	13.67	16.33	18.67	20.00
N4	8.33	11.67	14.67	17.67	22.67	27.67	28.67
N5	8.00	10.00	13.67	15.67	19.00	20.33	21.00
N6	10.67	15.00	19.00	23.33	26.33	28.67	30.00
N7	6.00	8.00	11.00	13.00	13.67	16.33	19.67
N8	11.67	15.00	18.67	23.67	26.00	29.67	31.33
N9	7.33	9.00	10.67	12.67	15.67	18.67	20.33
N10	9.67	13.00	15.00	18.67	23.67	25.67	27.33
N11	6.67	9.33	12.33	15.33	17.67	20.33	22.00
N12	9.67	11.67	14.00	18.67	22.67	24.33	27.33
N13	12.33	15.00	17.33	23.67	25.67	27.67	29.67
N14	11.67	15.33	19.67	24.33	26.33	28.67	31.00
N15	9.67	13.33	15.67	20.00	23.67	26.67	27.33
N16	8.00	10.00	14.00	15.00	18.33	21.00	21.00
N17	9.67	13.00	15.00	20.33	25.33	29.00	30.00
N18	9.00	9.67	15.33	16.33	20.33	27.67	28.00
N19	6.00	7.67	12.33	15.00	16.33	20.00	20.67
<b>PROM</b>	8.62	11.19	14.22	17.45	20.32	23.25	25.86
<b>DE</b>	1.86	2.57	2.74	3.87	4.13	4.37	4.32
<b>CV(%)</b>	21.59	23.00	19.24	22.15	20.33	18.80	16.72

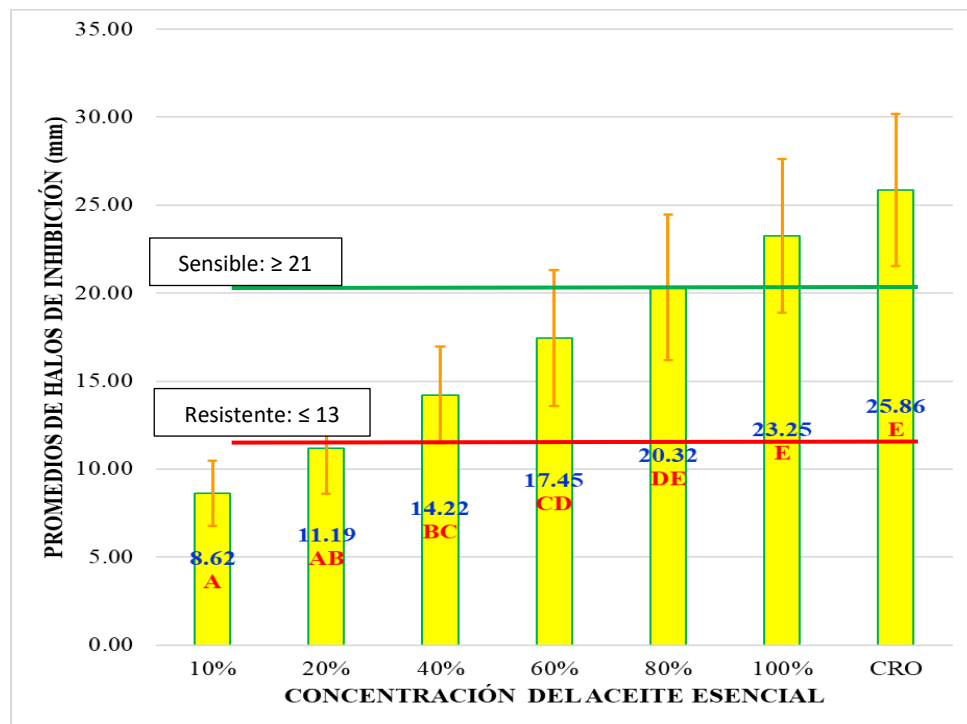
Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 6. se observa el promedio de halos de inhibición con aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*, el promedio inferior fue con 8.62 mm de la concentración al 10%, 23.25 mm al 100% y un 25.86 mm

con el control positivo CRO; siendo directamente proporcional entre las concentraciones y el tamaño de diámetro de halos de inhibición. Además, la desviación estándar del 10% es 1.86 la más baja y al 100% un 4.37 siendo la más alta superando incluso al control ceftriaxona. Por otro lado, el coeficiente de variabilidad de todas las concentraciones de aceite esencial presentó una dispersión de datos leve con valores de 16.72% de CRO al 23.00% coeficiente de variación con el tratamiento 20%.

**Figura 4**

*Promedios de halos de inhibición de concentraciones de aceite esencial*



Fuente: Elaboración propia.

Luego de realizar la prueba de Kruskal Wallis, los diámetros de halos de inhibición frente a concentraciones de aceite esencial de *Artemisia absinthium* quienes presentan diferencia estadística significativa ( $H= 102.8$ ;  $gl= 6$ ;  $P= 0.0001$ ) a excepción de las concentraciones al 100% y CRO que no presentan diferencia estadística significativa  $P>0.05$  (Tabla 11). Además, utilizando los rangos de los valores de datos se observó que en el tratamiento 10% hubo 8.62 mm de diámetros de halos de inhibición, al 20% con

11.19 mm, 40% con 14.22 mm, 60% con 17.45 mm, 80% 20.32 mm y 100% con 23.25 mm; además, el tratamiento al 100% es sensible  $\geq 21$  mm al igual que el grupo control ceftriaxona con 25.86 mm, siendo sensibles frente a *Neisseria gonorrhoeae* (Figura 4).

**Tabla 7**

*Susceptibilidad de halos de inhibición con aceite esencial de Artemisia absinthium*

Tratamientos	Escala de Duraffourd				% de inhibición	Total
	R	S <sub>+</sub>	S <sub>++</sub>	S <sub>+++</sub>		
10%	7	12	0	0	0	19
20%	2	13	4	0	0	19
40%	0	8	10	1	5.26	19
60%	0	3	9	7	36.84	19
80%	0	0	7	12	63.16	19
100%	0	0	3	16	84.21	19
<b>CRO</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>19</b>	100	<b>19</b>
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>36</b>	<b>33</b>	<b>55</b>		<b>133</b>

Nota: Resistente (R), sensible de 9 a 14 mm (S<sub>+</sub>), sensible de 15 a 19 mm (S<sub>++</sub>), sensible superior a 20 mm (S<sub>+++</sub>) y ceftriaxona (CRO).

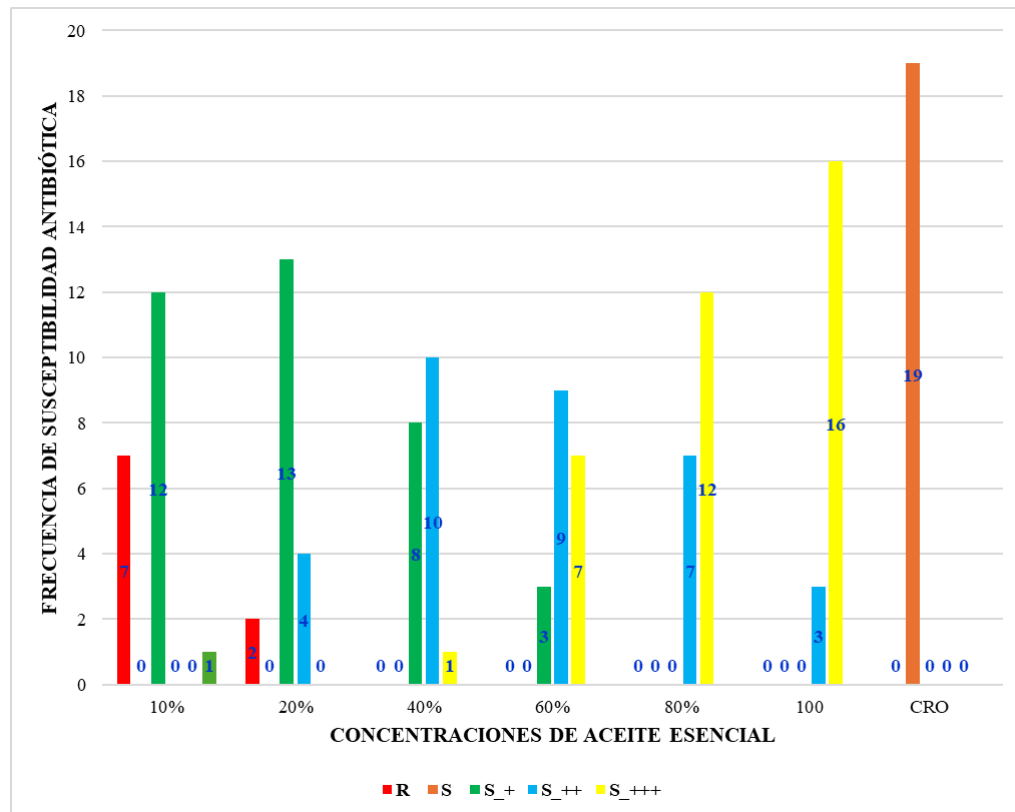
Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 7, se observa el número de muestras aisladas de *Neisseria gonorrhoeae* al T 10% (7 resistentes y 12 sensible +), al T 20% (2 R, 13 S<sub>+</sub> y 4 S<sub>++</sub>), al T 40% (8 S<sub>+</sub>, 10 S<sub>++</sub> y 1S<sub>+++</sub>), T 60% (3 S<sub>+</sub>, 9 S<sub>++</sub> y 7 S<sub>+++</sub>), al T 80% (7 S<sub>++</sub> y 12 S<sub>+++</sub>); al 100% (16 S<sub>+++</sub> y 3 S<sub>++</sub>) todos fueron sensibles con respecto al control positivo ceftriaxona superando  $\geq 21$  mm ; por ende, se observaron que 35 muestras aisladas fueron S<sub>+++</sub> con T 100%, indicando el porcentaje de inhibición bacteriana superior al resto de tratamientos. Asimismo, en el tratamiento 40% se presentó 5.26% de inhibición o sensible, en T 60% presenta un 36.84% de inhibición, en T 80% con 63.16% de sensibilidad y al T 100% 84.21% sensible siendo el porcentaje alto en relación a los demás

tratamientos e igual que al porcentaje control positivo ceftriaxona que fue 100% inhibidor.

### Figura 5

*Frecuencia de susceptibilidad de halos de inhibición en concentraciones de extracto etanólico*



Fuente: Elaboración propia.

Al realizar la prueba de Chi cuadrado, la susceptibilidad en aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* frente a extracto etanólico de *Artemisia absinthium* está asociado significativamente ( $X^2_C = 140.59$ ;  $gl = 18$ ;  $P = 0.0001$ ). Por lo tanto, en razón de que el valor P fue menor al 0.05, entonces se acepta la hipótesis alterna que afirma que las frecuencias de la escala de Duraffourd, son dependientes de la concentración del aceite esencial, o varían en función de la concentración del aceite esencial y que presentaron diferencia estadística significativa (Tabla 11). Sin embargo, la diferencia estadística entre el grupo control ceftriaxona y el tratamiento 100% no hay diferencia estadística ( $p \leq 0.05$ ),



indicando que el tratamiento es sensible 84.21% con 16 muestras aisladas; tal como se observa en la Figura 5.

Los valores promedios de diámetros de halos de inhibición en aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae* frente a concentraciones de aceite esencial de *Artemisia absinthium*, hubo concordancia con los resultados de Jurado et al. (2023) que detallaron susceptibilidad a distintos antibióticos, el AE de *Pinus sylvestris* y *Citrus limon* afectaron su permeabilidad de la membrana bacteriana, además los AE penetraron a las bacterias mutantes deficientes en LPS; también *Cymbopogon martini*, *Cinnamomum cassia* y *Origanum vulgare* exhibieron una actividad antimicrobiana prometedora ( $MIC \leq 0.5$  mg/ml) contra *Streptococcus suis* y anti-biofilm gonococos. También, Belda et al. (2002) concluyeron que medicamentos como cefoxitina, tianfenicol y espectinomicina constituyen excelentes fármacos para tratamiento de gonorrea.

También Cho et al. (2022) determinaron la concentración mínima inhibidora (CMI) para el aceite de árbol de té, la berberina y la ceftriaxona en la cepa MS11 es 0.2%, 5  $\mu$ g/ml y 0.0125  $\mu$ g/ml, obteniendo mayor efecto protector del aceite de árbol de té diluido al 0.2%, combinado con berberina en términos de CIM a 5  $\mu$ g/ml, y la combinación de aceite de árbol de té al 0.000625% más berberina a 1.25  $\mu$ g/ml en la prueba de viabilidad de células epiteliales; *Coptis chinensis*, muestra un efecto sinérgico al combinarse con aceite de árbol de té contra la cepa MS11 de *Neisseria gonorrhoeae*.

Por otro lado, Ma et al. (2023) reportaron 90% sensibles a la azitromicina, cefixima y ceftriaxona; concordando que aún son sensibles a ceftriaxona. Además, encontraron una susceptibilidad disminuida a la ciprofloxacina, la penicilina EA 77.7% y la tetraciclina EA 55.9%. En referencia a la susceptibilidad frente a ceftriaxona Golparian et al. (2010) reportó en Suecia resultados de 9.1% (30) puntos de corte de EUCAST y



mostraron 0.3% de cepas resistente a ceftriaxona y cefixima frente a *Neisseria gonorrhoeae*, siendo significativamente el aumento de resistencia frente a las CES en el paso de los años, detectaron 24% de alelos y el cambio de penA A501 y 11% de los aislamientos correspondientes.

Además, Aquino (2018) que trabajó con la planta *Artemisia absinthium L.* presentó actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial, con mayor inhibición frente a *Staphylococcus aureus* con una sensibilidad de 81.3% en 1 ml y la letalidad tóxica 51.62  $\mu\text{g/ml}$  en *Artemisia absinthium L.* Según informaron Quispe & Barrios (2018) al respecto del uso de *Artemisia absinthium* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en los que obtuvo zonas de inhibición de 3.1 al 19.5 mm, de 100% de aceite esencial excluyendo una concentración de 0.16%, que no son halos de inhibición representativas; además, no encontró ninguna concentración de aceite esencial que igualara el efecto antibacteriano de la eritromicina, que fue de 29.1 mm de diámetros de halo; que estaría concordando con la investigación del objetivo dos que se obtuvo 23.25 mm de diámetro frente a *Neisseria gonorrhoeae*. También, De la Cruz (2020) evaluó el efecto bactericida del extracto oleoso de *Artemisia absinthium* a concentraciones de 100%, 75 %, 50%, 25%, y un control neutro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y como resultado mencionó que a concentraciones del 25% y al 50% no tenían ningún efecto inhibitor bacteriano, sin embargo, para la concentración del 75% hubo obstrucción media de 13.18 mm (DS: 0.98; IC con un 95%) de 12.52 al 3.84 mm y para el 100% fue de 21.4 mm (DS: 1.12, IC 95% con 20.62) IC al 22.11 mm de efecto inhibitor.

Según los resultados obtenidos, *Neisseria gonorrhoeae* presenta susceptibilidad a ceftriaxona, sin embargo esta bacteria es exigente con su crecimiento debido a que presenta en nuevos alelos del mosaico penA y otras alteraciones como A501, penB y mtrR;



que son de amplia importancia la una decadencia de susceptibilidad o sino resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido, además teniendo en cuenta determinantes modernos que podrían provocar resistencia (Golparian et al., 2010), mencionan Sánchez & Acosta (2017) que las alteraciones en genes atribuyen una menor susceptibilidad como son las mutaciones en *pilQ* (en tiempo pasado llamado como *penC*) y transformaciones en *penA* que altera la codificación PB P1.3. Sin embargo, el aceite esencial de *Artemisia absinthium* al 100% presenta susceptibilidad debido a que presenta muchos compuestos fitoquímicos: terpenos, lactonas, ácidos orgánicos, fenoles, taninos, resinas, en especial (acetato de bornilo, acetato de trans-sbinilo, trans-tujona, mirceno, 1.4-terpeniol, cadineno, canfeno, camazuleno, alcanfor, guaizuleno y linalool) (Omer et al., 2007).

Que siendo relevante de los taninos del aceite esencial en *Artemisia absinthium* pueden lograr inhibir mediante el mecanismo de transpeptidasa en las proteínas PBP2 y PBP1 involucradas en la síntesis de peptidoglicano (Demczuk et al., 2017) que son los responsables en el antibiótico ceftriaxona. Además, en las mutaciones en la región cromosómica del gen *penA* (que codifica el dominio transpeptidasa de la proteína PBP2), el gen *porB1b* (que codifica la subunidad porina B), el gen *ponA* (que codifica la proteína PBP1), y la sobreexpresión de las proteínas de la bomba de membrana *MtrCDE*, son probablemente responsables. Los cambios mutacionales en el gen *penA* juegan el papel más importante en la aparición de resistencia cromosómica o susceptibilidad reducida a las cefalosporinas de espectro extendido (ESC). El gen *penA* mutado se adquiere probablemente mediante la transformación de la bacteria comensal (Igawa et al., 2018).

De similar forma tiene como componente a flavonoides (quercitina), quercetina-3-*O*-ramnoglucósido, quercitina-3-*O*-D-glucósido, glucósidos flavonoides en especial el glucósido de isorhamnetina-3-*O*-ramnosa, isorhamnetina-3-*O* e isoquercitrina. Asimismo, *Artemisia absinthium* presenta compuestos como ácidos fenólicos y glucósido



(ácidos cumárico, clorogénico, siríngico, salicílico y vanílico) de importancia fundamental, como es el mecanismo de eliminación de los radicales libres del agente patógeno (Kordali et al., 2005). Estudios ya realizados fundamentan que los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* son fundamentales en *mirceños*, como también trans-tujona, *cis*-epoxiocimeno, acetato de trans-sabinilo y acetato de *cis*-crisantenilo siendo los más populares (Rezaeinode & Khangholi, 2008).

A pesar de que las muestras aisladas de *Neisseria gonorrhoeae* presentaron diferencia estadística significativa entre los tratamientos con respecto a los halos de inhibición del grupo control ceftriaxona, el tratamiento de 100% con el grupo control no presentaron diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ); por ende, se rechaza la hipótesis planteada que afirmaba que el aceite esencial de las hojas de *Artemisia absinthium* al 60%, inhibirían el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* aisladas, se puede apreciar que de 19 muestras bacterianas aisladas, 7 aislamientos es decir el 36.84% lograron ser inhibidas por la concentración al 60%.

Después de analizar por completo, se puede afirmar que los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* presentan mayores diámetros de halos de inhibición al 100% frente a *Neisseria gonorrhoea*, siendo 16 muestras aisladas representando 84.21% de inhibición. Además, se puede mencionar que fue sensible comparado con el control positivo ceftriaxona y es corroborado por la prueba estadística, al poseer diferencia estadística significativa de  $P = 0.0001$  entre los 6 tratamientos, pero el grupo control ceftriaxona y el tratamiento 100% no hubo diferencia estadística significativa; donde se presenció a mayor concentración, mayor diámetro de halos de inhibición bacteriana. Con todos estos parámetros se acota que la planta *Artemisia absinthium* tiene potenciales componentes.





## V. CONCLUSIONES

- Los extractos etanólicos de *Artemisia absinthium* demuestran una prometedora inhibición bacteriana mediante diámetros de halos frente a *Neisseria gonorrhoeae*, siendo las inhibiciones más eficaces al 100% (19.68 mm) con 15 muestras aisladas representando solo el 78.95% de inhibición, resultando estadísticamente significativo ( $P=0.0001$ ), no habiendo superado al grupo control ceftriaxona el único que resulto sensible (25.65 mm).
- La respuesta de inhibición mediante diámetros de halos con aceite esencial de *Artemisia absinthium* al 100% de concentración (23.25 mm) fue sobre 16 muestras aisladas de *Neisseria gonorrhoeae*, siendo 84.21% sensible, similar al grupo control (ceftriaxona 25.86 mm). No siendo estadísticamente significativo ( $P>0.05$ ); sin embargo, si hubo diferencia estadística significativa ( $P= 0.0001$ ) entre las concentraciones de 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100%.



## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudio in vitro que logren mediciones sobre la efectividad antibacteriana de la planta *Artemisia absinthium* y su composición fitoquímica frente a la bacteria *Neisseria gonorrhoeae*.
- Ejecutar nuevas investigaciones determinando con el CMI el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Artemisia absinthium* usando todos sus fitoquímicos por separados y con la metodología de prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos por dilución en agar para mejor relevancia de que metabolito es eficiente.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abad, M., Bedoya, L., Apaza, L., & Bermejo, P. (2012). The *Artemisia L. Genus*: A Review of Bioactive Essential Oils. *Molecules*, 17(3), 2542–2566. <https://doi.org/10.3390/molecules17032542>
- Ahamad, J., Naquvi, K., Ali, M., & Mir, S. (2014). Isoflavone glycosides from aerial parts of *Artemisia absinthium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49(6), 996–1000. <https://doi.org/10.1007/s10600-014-0807-1>
- Ahmad, W., Hasan, A., Abdullah, A., & Tarannum, T. (2010). Medicinal Importance of *Artemisia absinthium* Linn (Afsanteen) in Unani Medicine: A Review. *Journal of Unani Medicine*, 5(4), 117–125. <https://www.researchgate.net/publication/215519168>
- Ali, M., Abbasi, B., & Ihsan, H. (2013). Production of commercially important secondary metabolites and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium L.* *Industrial Crops and Products*, 49, 400–406. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.033>
- Amin, R., Quispe, C., Docea, A., Ydyrys, A., Kulbayeva, M., Durna, S., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2022). The role of Tumour Necrosis Factor in neuroinflammation associated with Parkinson's disease and targeted therapies. *Neurochemistry International*, 158, 105376. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105376>
- Ansari, S., Siddiqui, M., Malhotra, S., & Maaz, M. (2018). Antiviral efficacy of qust (*Saussurea lappa*) and afsanteen (*Artemisia absinthium*) for chronic Hepatitis B: A prospective single-arm pilot clinical trial. *Pharmacognosy Research*, 10(3), 282. [https://doi.org/10.4103/pr.pr\\_157\\_17](https://doi.org/10.4103/pr.pr_157_17)
- Aquino, E. (2017). *Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de Chenopodium ambrosioides, Artemisia absinthium, Caiophora cirsiifolia sobre bacterias Gram negativas Staphylococcus aureus y su toxicidad en Artemia salina*. Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Aznar, J., Blanco, M., Lepe, J., Otero, L., & Vázquez, F. (2007). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones



- genitales. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *SEIMC*.
- Batiha, G., Beshbishy, A. M., Tayebwa, D., Adeyemi, O., Yokoyama, N., & Igarashi, I. (2019). Anti-piroplasmic potential of the methanolic *Peganum harmala* seeds and ethanolic *Artemisia absinthium* leaf extracts. In *J. Protozool. Res* (Vol. 29).
- Batiha, G., Olatunde, A., El-Mleeh, A., Hetta, H., Al-Rejaie, S., Alghamdi, S., Zahoor, M., Magdy, A., Murata, T., Zaragoza, A., & Rivero, N. (2020). Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and Pharmacokinetics of Wormwood (*Artemisia absinthium*). *Antibiotics*, 9(6), 353. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060353>
- Belda, W., Siqueira, L., Nico, M., & Fagundes, L. (2002). Atividade in vitro de cinco drogas antimicrobianas contra *Neisseria gonorrhoeae*. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 77(6), 661–667. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962002000600003>
- Berry, S. A., Ghanem, K. G., Mathews, W. C., Korthuis, P. T., Yehia, B. R., Agwu, A. L., Lehmann, C. U., Moore, R. D., Allen, S. L., & Gebo, K. A. (2015). Gonorrhea and Chlamydia testing increasing but still lagging in HIV clinics in the United States. *J Acquir Immune Defic Syndr. JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 70(3), 275–279. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000000711>
- Cercenado, E., & Saavedra, J. (2009). *El antibiograma. Interpretación del antibiograma, conceptos generales (I)*. *Anales de Pediatría Continuada*. 4(1), 7.
- Cho, M., Wang, L., & Chang, F. (2022). Synergistic Effect of Berberine and Tea Tree Oil Against *Neisseria Gonorrhoea*, in Vitro T84 Cell Mucosa Model. *The Journal of Sexual Medicine*, 19(Supplement\_2), S230–S231. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2022.03.524>
- Craciunescu, O., Constantin, D., Gaspar, A., Toma, L., Utoiu, E., & Moldovan, L. (2012). Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana L.* and *Artemisia absinthium L.* ethanolic extracts. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 97. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-97>



- Daradka, H., Abas, M., Mohammad, M., & Jaffar, M. (2014). Antidiabetic effect of *Artemisia absinthium* extracts on alloxan-induced diabetic rats. *Comparative Clinical Pathology*, 23(6), 1733–1742. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-1963-1>
- De la Cruz, M. (2020). *Efecto bactericida del extracto oleoso de Artemisia absinthium contra Staphylococcus aureus ATCC 25923 confrontado con oxacilina, in vitro.*
- Demczuk, W., Sidhu, S., Unemo, M., Whiley, D., Allen, V., Dillon, J., Cole, M., Seah, C., Trembizki, E., Trees, D., Kersh, E., Abrams, A., de Vries, H., van Dam, A., Medina, I., Bharat, A., Mulvey, M., Van Domselaar, G., & Martin, I. (2017). Neisseria gonorrhoeae Sequence Typing for Antimicrobial Resistance, a Novel Antimicrobial Resistance Multilocus Typing Scheme for Tracking Global Dissemination of N. gonorrhoeae Strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(5), 1454–1468. <https://doi.org/10.1128/JCM.00100-17>
- Dhyani, P., Quispe, C., Sharma, E., Bahukhandi, A., Sati, P., Attri, D., Szopa, A., Sharifi-Rad, J., Docea, A., Mardare, I., Calina, D., & Cho, W. (2022). Anticancer potential of alkaloids: a key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. *Cancer Cell International*, 22(1), 206. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02624-9>
- Dülger, B., Ceylan, M., Alitsaous, M., & Uğurlu, E. (1999). *Antimicrobial Activity of Artemisia absinthium L. Antimicrobial Activity of Artemisia absinthium L.* <https://journals.tubitak.gov.tr/biology>
- Duraffourd, C., D'hervocourt, L., & Lapraz, J. (1986). *Cuadernos de Fitoterapia Clínica: Vol.* (Edit. Masson S.A., Ed.).
- Fiamegos, Y., Kastritis, P., Exarchou, V., Han, H., Bonvin, A., Vervoort, J., Lewis, K., Hamblin, M., & Tegos, G. (2011). Antimicrobial and Efflux Pump Inhibitory Activity of Caffeoylquinic Acids from *Artemisia absinthium* against Gram-Positive Pathogenic Bacteria. *PLoS ONE*, 6(4), e18127. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018127>
- Fifer, H., Cole, M., Hughes, G., Padfield, S., Smolarchuk, C., Woodford, N., Wensley, A., Mustafa, N., Schaefer, U., Myers, R., Templeton, K., Shepherd, J., &



- Underwood, A. (2018). Sustained transmission of high-level azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in England: an observational study. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(5), 573–581. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30122-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30122-1)
- Garín, N., Delmiro, A., García, J., & Jaqueti, J. (2012). *Estudio de sensibilidad a los agentes antimicrobianos. In Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM) (Editorial AEBM, Ed.; 2da Edición).*
- Golparian, D., Hellmark, B., Fredlund, H., & Unemo, M. (2010). Emergence, spread and characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with in vitro decreased susceptibility and resistance to extended-spectrum cephalosporins in Sweden. *Sexually Transmitted Infections*, 86(6), 454–460. <https://doi.org/10.1136/sti.2010.045377>
- Gonzalez, A. (2004). *Obtención de Aceites esenciales y Extractos etanólicos de plantas del Amazonas*. Universidad Nacional de Colombia.
- Habibi, H., Firouzi, S., Nili, H., Razavi, M., Asadi, S., & Daneshi, S. (2016). Anticoccidial effects of herbal extracts on *Eimeria tenella* infection in broiler chickens: in vitro and in vivo study. *Journal of Parasitic Diseases*, 40(2), 401–407. <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0517-4>
- Hlatshwayo, M., Reno, H., & Yarbrough, M. (2019). STI update: Testing, treatment, and emerging threats. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 86(11), 733–740. <https://doi.org/10.3949/ccjm.86a.18098>
- Horák, M., Somerlíková, K., Kavenská, V., Granda, L., Škrabáková, L., Tournon, J., Chuspe, M., Rosero, A., & Castro, N. (2015). *Etnobotánica y fitoterapia en América* [Universidad de Mendel en Brno]. <https://www.researchgate.net/publication/283481774>
- Ibarra, M., & Paredes, E. (2013). *Eficacia antibacteriana in vitro de Marco (Ambrosia arborescens Mill.) y Paico (Chenopodium ambrosioides L.) en una formulación cosmética*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito.
- Igawa, G., Yamagishi, Y., Lee, K.-I., Dorin, M., Shimuta, K., Suematsu, H., Nakayama, S.-I., Mikamo, H., Unemo, M., & Ohnishi, M. (2018). *Neisseria cinerea* with High



- Ceftriaxone MIC Is a Source of Ceftriaxone and Cefixime Resistance-Mediating *penA* Sequences in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(3). <https://doi.org/10.1128/AAC.02069-17>
- INS. (2002). *Manual de procedimientos para el diagnóstico bacteriológico de Gonorrea*.
- Jurado, P., Uruén, C., Martínez, S., Lain, E., Sánchez, S., Rezusta, A., López, V., & Arenas, J. (2023). Essential oils of *Pinus sylvestris*, *Citrus limon* and *Origanum vulgare* exhibit high bactericidal and anti-biofilm activities against *Neisseria gonorrhoeae* and *Streptococcus suis*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 168, 115703. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115703>
- Kenneth, J., Ray, G., & Sherris, J. (2011). *Microbiología Médica* (5th ed.).
- Koneman, M., Giovanniello, O., Klajn, D., & Preciado, M. (2008). *Diagnóstico Microbiológico* (Vol. 197).
- Kordali, S., Cakir, A., Mavi, A., Kilic, H., & Yildirim, A. (2005). Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from Three Turkish “*Artemisia*” Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1408–1416. <https://doi.org/10.1021/jf048429n>
- Kostadinovic, L., Levic, J., Galonja, T., & Ruzicic, L. (2012). Efectos anticoccidianos de los extractos de *Artemisia absinthium L.* en pollos de engorde. *Archiva Zootechnica*. 15(2), 69–77.
- Lima, Y., Guzmán, V., López, Y., & Satchwell, R. (2019). La medicina tradicional herbolaria en los sistemas de salud convencionales. *Humanidades Médicas*, 19(1), 201-217.
- Ma, A., Ferrato, C., Martin, I., Smyczek, P., Gratrix, J., & Dingle, T. C. (2023). Use of genome sequencing to resolve differences in gradient diffusion and agar dilution antimicrobial susceptibility testing performance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Alberta, Canada. *Journal of Clinical Microbiology*, 61(11). <https://doi.org/10.1128/jcm.00606-23>
- Malbrán, C. (2001). *Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos*. In Instituto Nacional de



- Enfermedades Infecciosas* (Editorial Departamento de Bacteriología, Ed.; 1ra Edición, pp. 3–69.
- Malmir, M., Ferreira, E., Serrano, R., Gomes, E. T., Caniça, M., & Silva, O. (2015). In vitro anti-*Neisseria gonorrhoeae* activity of *Senna podocarpa* root extracts. *Industrial Crops and Products*, 76, 467–471. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.022>
- Malpartida, M. (2020). Enfermedades de transmisión sexual en la atención primaria. *Revista Médica Sinergia*, 5(4), e405. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i4.405>
- Marina, O., & Cruz, S. (2016). *Caracterización fenotípica y genotípica de aislamientos colombianos de Neisseria gonorrhoeae, recuperados a través del programa nacional de vigilancia por laboratorio, 2013-2014.*
- Młynarczyk, B., Majewska, A., Malejczyk, M., Młynarczyk, G., & Majewski, S. (2020). Multiresistant *Neisseria gonorrhoeae*: a new threat in second decade of the XXI century. *Medical Microbiology and Immunology*, 209(2), 95–108. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00651-4>
- Mohammadian, A., Moradkhani, S., Ataei, S., Shayesteh, T., Sedaghat, M., Kheiripour, N., & Ranjbar, A. (2016). Antioxidative and hepatoprotective effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia absinthium* L. in rat. *J HerbMed Pharmaco*, 5(1), 29–32.
- Moncada, E., & Salazar, A. (2020). *Medicina tradicional y COVID-19, oportunidad para la revaloración de las Plantas Medicinales Peruanas Traditional medicine and COVID-19, opportunity for the revaluation of Peruvian Medicinal Plants.* <https://www.who.int/emergencies/diseases/no>
- Moslemi, H., Hoseinzadeh, H., Badouei, M., Kafshdouzan, K., & Fard, R. (2012). Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium* Against Surgical Wounds Infected by *Staphylococcus aureus* in a Rat Model. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 601–604. <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0283-x>
- Murray, P., Roshenthal, K., & Pfaller, M. (2014). *Microbiologia Medica*. Editorial Elsevier, Ed. 7ma Edición.





- Omer, B., Krebs, S., Omer, H., & Noor, T. (2007). Steroid-sparing effect of wormwood (*Artemisia absinthium*) in Crohn's disease: A double-blind placebo-controlled study. *Phytomedicine*, 14(2-3), 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.01.001>
- OMS. (2016). *Estrategia mundial del sector de la salud contra las infecciones de transmisión sexual 2016 - 2021 hacia el fin de las ITS*.
- Ortiz, M., Santander, E., & Lugo, J. (2021). *Neisseria gonorrhoeae*: un patógeno discolo. Conceptos microbiológicos, resistencia a antimicrobianos y su vigilancia epidemiológica en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 38(4), 512-522. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182021000400512>
- Pino, O., Sánchez, Y., Rojas, M., Rodríguez, H., Abreu, Y., Duarte, Y., & et al. (2011). Composición química y actividad plaguicida del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. *Rev. Protección Veg*, 177-186.
- Quispe, P., & Barrios, F. (2018). *Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Artemisia absinthium L. sobre Staphylococcus aureus*.
- Rezaeinode, A., & Khangholi, S. (2008). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia absinthium* Growing Wild in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(6), 946-949. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.946.949>
- Sánchez, L., & Acosta, J. (2017). Mutaciones en la región determinante de resistencia a quinolonas (QRDR) del gen *gyrA* de *Neisseria gonorrhoeae* presente en muestras clínicas de hombres que tienen sexo con hombres. *Revista Peruana de Biología*, 24(3), 283-292. <https://doi.org/10.15381/rpb.v24i3.13905>
- Shafi, G., Hasan, T., Syed, N., Al-Hazzani, A., Alshatwi, A., Jyothi, A., & Munshi, A. (2012). *Artemisia absinthium* (AA): a novel potential complementary and alternative medicine for breast cancer. *Molecular Biology Reports*, 39(7), 7373-7379. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1569-0>
- Sharifi, J., Quispe, C., Patra, J. K., Singh, Y. D., Panda, M., Das, G., Adetunji, C., Michael, O., Sytar, O., Polito, L., Živković, J., Cruz-Martins, N., Klimek, M., Ekiert, H., Choudhary, M., Ayatollahi, S., Tynybekov, B., Kobarfard, F., Muntean, A., Calina, D. (2021). Paclitaxel: Application in Modern Oncology and



- Nanomedicine-Based Cancer Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 1–24. <https://doi.org/10.1155/2021/3687700>
- Silva, O., Ferreira, E., Vaz Pato, M., & Gomes, E. (1997). Guinea-Bissau's plants: In vitro susceptibility studies on *Neisseria gonorrhoeae*. *International Journal of Pharmacognosy*, 35(5), 323–328. <https://doi.org/10.1080/09251619708951276>
- Suay, B., & Pérez, M. (2018). Future Prospects for *Neisseria gonorrhoeae* Treatment. *Antibiotics*, 7(2), 49. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7020049>
- Tito, E. (2021). *Efecto antibacteriano del extracto etanolico de Origanun vulgare “Orégano” y Caesalpinia spinosa “Tara” comparando con ceftriaxona sobre cepas de Neisseria gonorrhoeae in vitro*. Universidad Peruana los Andes.
- Travassos, A., Xavier-Souza, E., Netto, E., Dantas, E., Timbó, M., Nóbrega, I., Haguilar, T., Neumayer, J., Lisboa, N., Soidan, M., Ferreira, F., & Brites, C. (2016). Anogenital infection by *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in HIV-infected men and women in Salvador, Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 20(6), 569–575. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.09.004>
- Trebach, J., Chaulk, C., Page, K., Tuddenham, S., & Ghanem, K. (2015). *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* Among Women Reporting Extragenital Exposures. *Sexually Transmitted Diseases*, 42(5), 233–239. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000248>
- Wang, J., Xu, C., Wong, Y., Li, Y., Liao, F., Jiang, T., & Tu, Y. (2019). Artemisinin, the Magic Drug Discovered from Traditional Chinese Medicine. *Engineering*, 5(1), 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.011>
- Wind, C. M., de Vries, H. J. C., & van Dam, A. P. (2015). Determination of in vitro synergy for dual antimicrobial therapy against resistant *Neisseria gonorrhoeae* using Etest and agar dilution. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 45(3), 305–308. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.10.020>
- Wu, Y., Xu, Y. & Lau, A. (2023). Epigenetic effects of herbal medicine. *Clinical Epigenetics*, 15(1), 85. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01481-1>



- Zambrano, L., Buenaño, M., Mancera, N., & Jiménez, E. (2015). *Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador.*
- Zanousi, M., Nekoei, M., & Mohammadhosseini, M. (2016). Composition of the Essential Oils and Volatile Fractions of *Artemisia absinthium* by Three Different Extraction Methods: Hydrodistillation, Solvent-Free Microwave Extraction and Headspace Solid-Phase Microextraction Combined with a Novel QSRR Evaluation. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 19(7), 1561–1581. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.1001139>
- Zuñiga M. (2009). *Neisseria gonorrhoeae*: un patógeno que impone grandes retos. *Revista Colombiana de Enfermería.*

## ANEXOS

**Tabla 8**

*Prueba de Shapiro-Wilks*

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Columna2	133	14.99	6.75	0.91	<0.0001

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 9**

*Datos de prueba de Kruskal Wallis de extracto etanólico de Artemisia absinthium*

Variable	TRATAM	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
HALOS_mm	10%	19	7,00	0,68	7,00	6	117,65	<0,0001
HALOS_mm	100%	19	20,67	3,38	20,67			
HALOS_mm	20%	19	8,65	1,47	8,67			
HALOS_mm	40%	19	11,14	1,83	11,00			
HALOS_mm	60%	19	14,30	2,22	14,00			
HALOS_mm	80%	19	17,56	2,94	17,67			
HALOS_mm	CRO	19	25,61	4,10	26,67			

Trat.	Ranks						
10%	13,26	A					
20%	28,92	A	B				
40%	47,71		B	C			
60%	68,55			C	D		
80%	88,03				D	E	
100%	103,39					E	F
CRO	119,13						F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 10**

*Tabla de contingencia de susceptibilidad de extracto etanólico aplicando Chi Cuadrado*

Frecuencias: DATOS

Frecuencias absolutas

En columnas: ESCALA

Tratamientos	R	S +	S ++	S +++	Total
10%	19	0	0	0	19
20%	8	11	0	0	19
40%	0	18	1	0	19
60%	0	10	8	1	19
80%	0	1	14	4	19
100%	0	0	4	15	19
CRO	0	0	0	19	19
Total	27	40	27	39	133

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	252.78	18	<0.0001
Chi Cuadrado MV-G2	251.29	18	<0.0001
Coef.Conting.Cramer	0.69		
Coef.Conting.Pearson	0.81		

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 11**

*Prueba de Kruskal Wallis en aceite esencial Artemisia absinthium*

Variable	TRATAM	AE	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
HALOS_mm	10%		19	9.07	1.86	9.33	6	102.28	<0.0001
HALOS_mm	100%		19	24.42	4.37	25.67			
HALOS_mm	20%		19	11.77	2.57	11.67			
HALOS_mm	40%		19	14.95	2.74	15.00			
HALOS_mm	60%		19	18.33	3.86	18.67			
HALOS_mm	80%		19	21.35	4.13	22.67			
HALOS_mm	CRO		19	25.86	4.32	27.33			

Trat.	Ranks
10%	14.68 A
20%	30.53 A B
40%	50.92 B C
60%	71.08 C D
80%	87.89 D E
100%	103.45 E
CRO	110.45 E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 12**

*Tabla de contingencia de susceptibilidad de aceite esencial frente a Neisseria gonorrhoeae aplicando Chi Cuadrado*

Frecuencias: DATOS

Frecuencias absolutas  
En columnas: ESCALA

TRATAMIENTO	R	S_+	S_++	S_+++	Total
10%	7	12	0	0	19
20%	2	13	4	0	19
40%	0	8	10	1	19
60%	0	3	9	7	19
80%	0	0	7	12	19
100%	0	0	3	16	19
CRO	0	0	0	19	19
Total	9	36	33	55	133

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	140.59	18	<0.0001
Chi Cuadrado MV-G2	162.70	18	<0.0001
Coef. Conting. Cramer	0.51		
Coef. Conting. Pearson	0.72		

Fuente: Elaboración propia.

**Figura 6**

*Planta de Artemisia absinthium*



Fuente: Elaboración propia.

## Figura 7

### *Obtención de aceite esencial de la planta Artemisia absinthium*



Nota: (A) *Artemisia absinthium*, (B) colocación de "Ajenjo" en extractora de aceite esencial, (C) obtención de aceite esencial y (D) obtención de producto final de aceite esencial de ajeno.

Fuente: Elaboración propia.

## Figura 8

### *Concentraciones del 10% al 100% de extracto etanólico y aceite esencial de Artemisia*



Nota: (A) dimetilsulfóxido, (B) aceite esencial de 10% al 100% de "Ajenjo" y (C) extracto etanólico de 10% al 100% de "Ajenjo".

Fuente: Elaboración propia.

## Figura 9

### *Preparación de medios de cultivo: Agar Chocolate y Agar Thayer Martin*

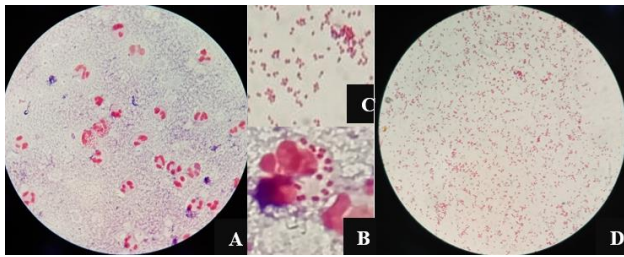


Nota: (A) Medios de cultivo para preparar el agar Thayer Martin y agar chocolate, (B) Agar base para Thayer Martin y agar chocolate (C) placas con medios de cultivo.

Fuente: Elaboración propia.

## Figura 10

### *Tinción Gram de Neisseria gonorrhoeae*

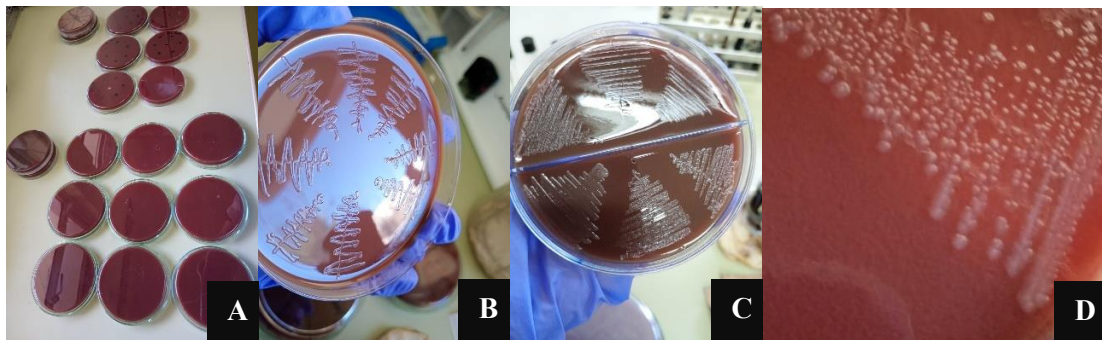


Nota: (A) *Neisseria gonorrhoeae* dentro de neutrófilos de un exudado directo, (B) *Neisseria gonorrhoeae* con morfología similar a semilla de frijol, (C) agrupación de bacterias en tinción Gram, (D) tinción Gram a las colonias en agar Thayer Martin.

Fuente: Elaboración propia.

## Figura 11

### *Características culturales de Neisseria gonorrhoeae*



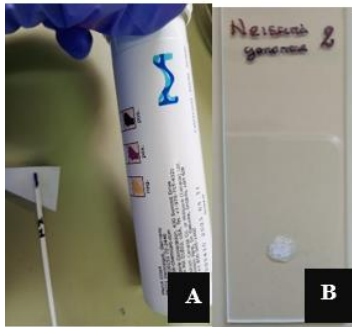
Nota: (A) Plaqueo de agar Thayer Martin y agar Chocolate, (B) crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* en agar Thayer Martin, (C) crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* en agar Chocolate, (D) Colonias translúcidas de *Neisseria gonorrhoeae* en agar Thayer Martin.

Fuente: Elaboración propia.



## Figura 12

### Prueba de la oxidasa y catalasa a *Neisseria gonorrhoeae*

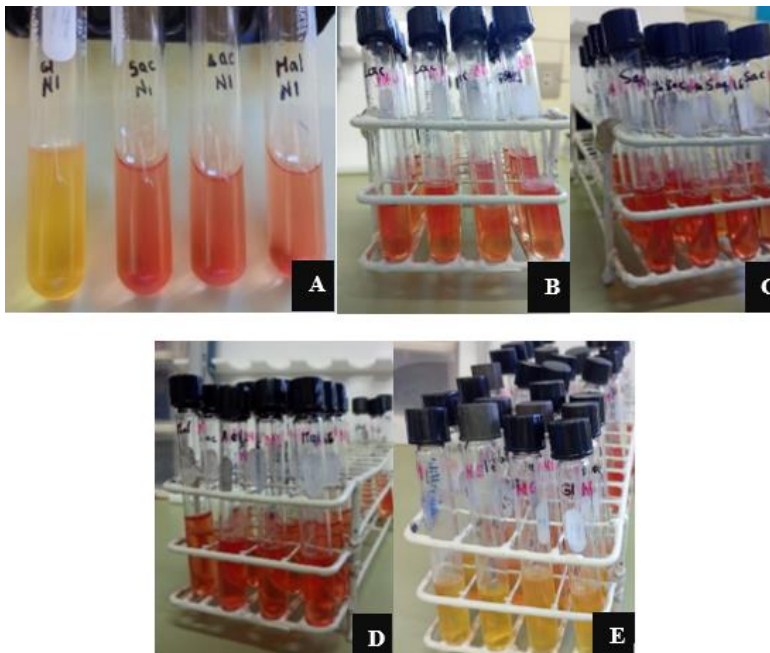


Nota: (A) prueba de la oxidasa positiva, (B) prueba de catalasa positiva.

Fuente: Elaboración propia.

## Figura 13

### Pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de *Neisseria gonorrhoeae*

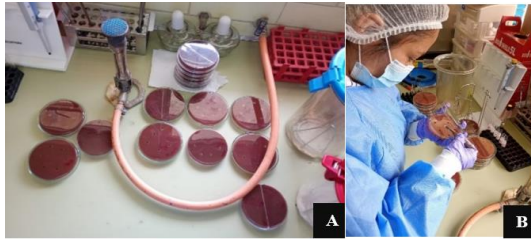


Nota: (A) en prueba bioquímica en medio CTA con cuatro azúcares, (B) negativo en medio CTA lactosa, (C) negativo en medio CTA sacarosa, (D) negativo en medio CTA maltosa y (E) positivo en medio CTA glucosa con cambio de color distintivo amarillo siendo solo *Neisseria gonorrhoeae*.

Fuente: Elaboración propia.

### Figura 14

*Proceso de sembrado y colocación de control positivo ceftriaxona*



Nota: (A) placas con medios de cultivo que se preparados con sacabocado para inocular concentración de AE Y EE, (B) colocación de ceftriaxona como control positivo.

Fuente: Elaboración propia.

### Figura 15

*Inoculación de concentraciones de extracto etanólico y aceite esencial de Artemisia absinthium*

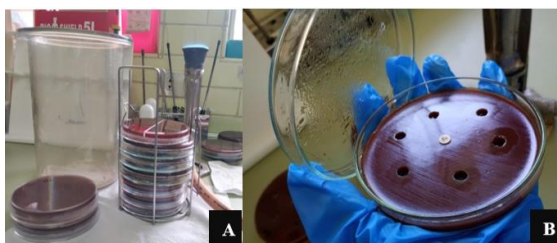


Nota: (A) inoculación de 10% a 100% de aceite esencial, (B) Inoculación de 10% a 100% de extracto etanólico.

Fuente: Elaboración propia.

### Figura 16

*Halos de inhibición de extracto etanólico de Artemisia absinthium*

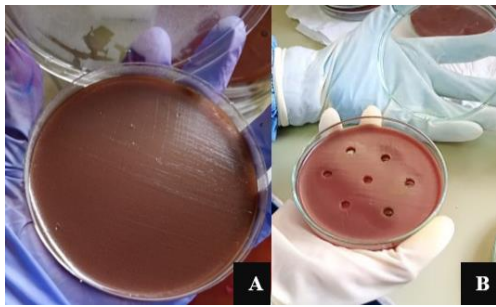


Nota: (A) colocación de placas cultivadas en jarra anaeróbica, (B) inhibición de extracto etanólico de Ajenjo.

Fuente: Elaboración propia.

## Figura 17

### *Halos de inhibición de aceites esenciales de Artemisia absinthium*

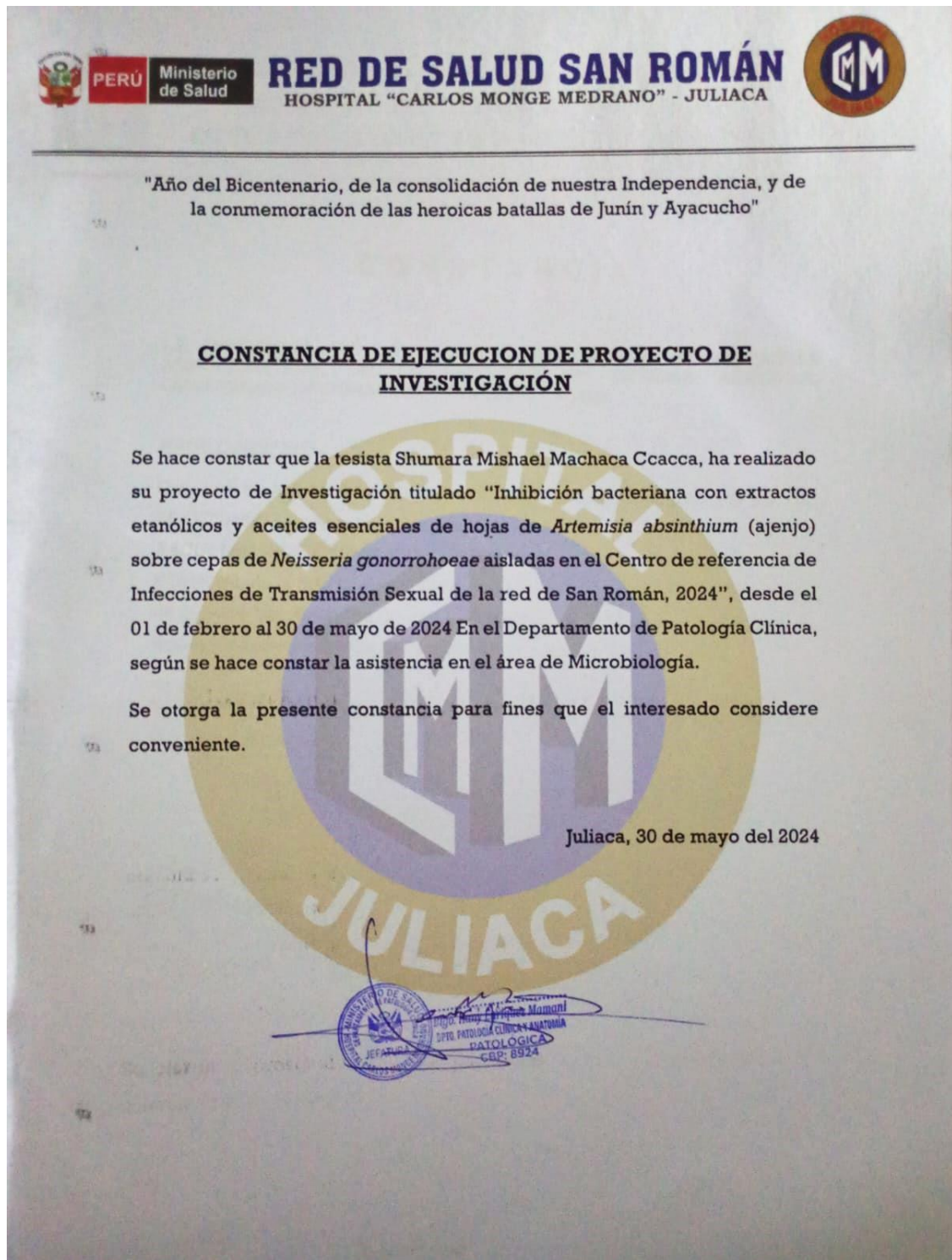


Nota: (A) crecimiento en agar Chocolate de *Neisseria gonorrhoeae* como control, (B) formación de halos de susceptibilidad en distintas concentraciones con aceite esencial de Ajenjo.

Fuente: Elaboración propia.

## Figura 18

### Constancia de ejecución de proyecto de investigación





**Figura 19**

*Constancia de extracción de aceite esencial*





### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Shumara Mishael Machaca Ccacca  
identificado con DNI 77504827 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado  
de Biología

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ INHIBICIÓN BACTERIANA CON EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITES ESENCIALES DE HOJAS DE  
Artemisia absinthium (AJENJO) SOBRE CEPAS DE Neisseria gonorrhoeae AISLADAS EN EL CENTRO  
DE REFERENCIA DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL DE LA RED DE SAN ROMÁN, 2024 ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 10 de SEPTIEMBRE del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Shumara Mishael Machaca Ccacca  
identificado con DNI 77504827 en mi condición de egresado de:

**Escuela Profesional**,  **Programa de Segunda Especialidad**,  **Programa de Maestría o Doctorado**  
de Biología

informo que he elaborado el/la  **Tesis** o  **Trabajo de Investigación** denominada:  
“INHIBICIÓN BACTERIANA CON EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITES ESENCIALES DE HOJAS DE  
Artemisia absinthium (AJENJO) SOBRE CEPAS DE Neisseria gonorrhoeae AISLADAS EN EL CENTRO  
DE REFERENCIA DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL DE LA RED DE SAN ROMÁN, 2024”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 10 de SEPTIEMBRE del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella