



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**ESCUELA DE CIENCIAS AGRICOLAS Y AMBIENTALES**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA**

**Estudio bio-dirigido de *Baccharis latifolia* (Chilca) y *Basella obovata* (Juyanguilla) con  
actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* aislado de bovinos con  
mastitis.**

**FELIPE HERNÁN BAQUERO CABRERA**

**ASESOR: PhD. YADIRA FERNANDA ORDOÑEZ VIVANCO**

**IBARRA- ECUADOR**

**19 FEBRERO, 2025**

Ibarra, 19 de febrero de 2025

## CERTIFICACIÓN TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de integración curricular titulado: Estudio bio-dirigido de *Baccharis latifolia* (Chilca) y *Basella obovata* (Juyanguilla) con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* aislado de bovinos con mastitis, presentado por el estudiante FELIPE HERNÁN BAQUERO CABRERA con cédula de ciudadanía N° 1005183189, para obtener el Título de Ingeniero Zootecnista.

Certifico que el trabajo cumple con todos los parámetros establecidos, mediante el cual el estudiante demuestra el desarrollo de competencias en el campo de conocimiento de su profesión con un nivel de argumentación coherente, para ser sometido a la evaluación por parte de los lectores.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de originalidad de TURNITIN.



Yadira Ordóñez Vivanco  
C.C.: 1103764864  
Fecha: 19 de febrero 2025

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):



(f).....

Yadira Fernanda Ordoñez Vivanco

C.C.: 1103764864



(f).....

Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399



(f).....


Diego Manuel Leon Tapia

C.C.:

## ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo, FELIPE HERNÁN BAQUERO CABRERA, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derecho de disponer de sus derechos o autorizar de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 19 de febrero del 2025


f):  .....

FELIPE HERNÁN BAQUERO CABRERA

C.C.: 1005183189

## AUTORÍA

Yo, FELIPE HERNÁN BAQUERO CABRERA, portador de la cédula de ciudadanía N°1005183189, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.

f):  .....

FELIPE HERNÁN BAQUERO CABRERA

C.C.: 1005183189

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a mis padres Guillermo Baquero y Sonia Cabrera, al ser un pilar fundamental en mi vida y apoyarme en todo momento, mis hermanas Fernanda Baquero y Paola Baquero, mis abuelitos Felix y Marthita quienes me inculcaron a nunca darme por vencido y seguir adelante.

Baquero Felipe

## AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios, a mis compañeras Dalía y Milena tras haber sido un soporte importante en el transcurso de mi formación universitaria.

Baquero Felipe

# ÍNDICE

## Contenido

CERTIFICACIÓN TUTOR .....	i
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	ii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS .....	iii
AUTORÍA .....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
ÍNDICE .....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN .....	13
ABSTRACT .....	14
CAPÍTULO I.....	15
INTRODUCCIÓN.....	15
CAPÍTULO II.....	18
OBJETIVOS .....	18
2.1. Objetivo general .....	18
2.2. Objetivos específicos.....	18
2.3. Hipótesis.....	18
CAPÍTULO III .....	19
ESTADO DEL ARTE .....	19
3.1. Mastitis.....	19
3.1.1. Generalidades.....	19
3.1.2. Diagnóstico .....	20
3.1.3. Epidemiología .....	21
3.1.4. Agentes causales de la mastitis .....	22
3.1.5 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	23
3.1.6. Tipos de mastitis .....	24

3.1.7. Tratamiento de la mastitis .....	25
3.1.8. Variables de la vaca que influyen en los resultados del tratamiento .....	25
3.1.9. Métodos de detección de la mastitis bovina.....	26
3.2 Alternativas antibióticas .....	29
3.2.1 Plantas con propiedades antibióticas.....	29
3.2.2 Extracción .....	29
3.2.3 Maceración dinámica .....	30
3.3 Plantas silvestres .....	30
3.3.1. Plantas medicinales .....	30
3.3.2. <i>Baccharis latifolia</i> (chilca).....	31
3.3.3. <i>Basella obovata</i> (Juyanguilla).....	34
CAPÍTULO IV .....	36
MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
4.1. Zona de estudio .....	36
4.1.1. Fase de campo .....	36
4.1.2. Fase laboratorio.....	37
4.2. Materiales .....	37
4.2.1 Máquinas .....	37
4.2.2 Reactivos .....	37
4.2.3 Físicos .....	37
4.3. Metodología .....	38
4.3.1. Recolección e identificación taxonómica de especies vegetales .....	38
4.3.2. Extracción de compuestos activos.....	40
4.3.3 Procedimiento aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	41
4.3.4 Identificación morfológica de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
4.3.5 Caracterización molecular de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
4.3.6 Determinación actividad biológica de los extractos vegetales .....	43
4.3.7 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y crecimiento bacteriano por el método de microdilución.....	44
4.4. Variables.....	45
4.4.1. Variable/s independiente/s .....	45
4.4.2. Variable/s dependiente/s .....	45

4.5. Diseño experimental.....	45
CAPÍTULO V .....	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	47
5.1. Obtención de extractos totales.....	47
5.2. Caracterización morfológica .....	47
5.2.1 Tinción Gram .....	47
5.3. Caracterización molecular de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	48
5.4 Porcentajes de inhibición de crecimiento bacteriano .....	49
5.5 Prueba de normalidad y varianza .....	51
5.6. Análisis de varianza de la variable capacidad microbiana in vitro de <i>Baccharis latifolia</i> y <i>Basella obovata</i> frente a mastitis proveniente de bovinos infectados. ....	52
CAPÍTULO VI.....	60
CONCLUSIONES .....	60
CAPÍTULO VII.....	61
RECOMENDACIONES .....	61
CAPÍTULO VIII .....	62
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62
ANEXOS.....	68

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Interpretación de resultados prueba California para mastitis. ....	28
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Baccharis latifolia</i> . ....	32
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Basella obovata</i> .....	34
Tabla 4. Área de colección de especies vegetales .....	38
Tabla 5. Concentraciones de extractos vegetales de <i>Baccharis latifolia</i> y <i>Basella obovata</i> . ...	46
Tabla 6. Esquema de tratamiento utilizados de cada especie vegetal.....	46
Tabla 7. Anova de cada especie vegetal: <i>Baccharis latifolia</i> y <i>Basella obovata</i> . ....	46
Tabla 8. Porcentaje de rendimiento de extracto.....	47
Tabla 9. Identificación molecular de aislados bacterianos .....	48
Tabla 10. Porcentaje de crecimiento bacteriano de la especie <i>Baccharis latifolia</i> .....	49
Tabla 11. Porcentaje de inhibición de bacteria de la especie <i>Baccharis larifolia</i> .....	50
Tabla 12. Porcentaje de crecimiento bacteriano de la especie <i>Basella obovata</i> .....	50
Tabla 13. Porcentaje de inhibición de bacteria de la especie <i>Basella obovata</i> .....	51
Tabla 14. Prueba de normalidad y varianza.....	51
Tabla 15. Análisis de varianza de la variable crecimiento microbiano (%) del extracto total de la especie <i>Baccharis latifolia</i> .....	52
Tabla 16. ANOVA de inhibición del extracto total de la especie <i>Baccharis latifolia</i> (%).....	54
Tabla 17. ANOVA de actividad microbiana del extracto total de la especie <i>Basella obovata</i> (%).....	56
Tabla 18. ANOVA de inhibición del extracto total de la especie <i>Basella obovata</i> (%).....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interpretación resultados prueba California .....	28
Figura 2. <i>Baccharis latifolia</i> (Chilca) .....	33
Figura 3. <i>Basella obovata</i> (Juyanguilla) .....	35
Figura 4. Ubicación Geográfica recolección de especies. ....	36
Figura 5. Muestras de planta <i>Baccharis latifolia</i> y <i>Basella obovata</i> . ....	39
Figura 6. Obtención de extractos.....	41
Figura 7. Dilución seriada de extractos totales .....	43
Figura 8. Resultados tomados en microscopio prueba Tinción Gram.....	48
Figura 9. Representación gráfica de la prueba Tukey de actividad microbiana del extracto total de la especie <i>Baccharis latifolia</i> .....	53
Figura 10. Representación gráfica de la prueba tukey de inhibición bacteriana del extracto total de la especie <i>Baccharis latifolia</i> .....	54
Figura 11. Representación gráfica de la prueba Tukey de actividad microbiana del extracto total de la especie <i>Basella obovata</i> .....	56
Figura 12. Representación gráfica de la prueba Tukey de inhibición bacteriana del extracto total de la especie <i>Basella obovata</i> .....	58

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Recolección de plantas.....	68
Anexo 2. Deshidratación de plantas..	68
Anexo 3. Pulverización de muestra en triturador .....	69
Anexo 4. Muestras aplicadas metanol .....	69
Anexo 5. Muestras en agitador.....	70
Anexo 6. Filtración de compuesto... ..	70
Anexo 7. Evaporación de compuesto en rotavapor .....	71
Anexo 8. Extracto sólido en envase de vidrio .....	71
Anexo 9. Pesaje 500 mg de extracto.....	72
Anexo 10. Placa de 96 pocillos con concentraciones y testigos .....	72
Anexo 11. Identificación molecular de bacteria .....	73
Anexo 12. Tratamientos y repeticiones de <i>Baccharis latifolia</i> y <i>Basella obovata</i> .....	73

## RESUMEN

Este estudio se enfocó en evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de *Baccharis latifolia* (Chilca) y *Basella obovata* (Juyanguilla) contra *Staphylococcus aureus*, una bacteria prevalente en casos de mastitis bovina. Estas plantas fueron seleccionadas en base a encuestas realizadas a productores ganaderos de la provincia de Imbabura, quienes las utilizan comúnmente en el campo. La investigación empleó un diseño completamente al azar (DCA) para evaluar el efecto antimicrobiano de diferentes concentraciones de los extractos vegetales (500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml y 31.25 mg/ml) sobre *S. aureus*. Los extractos se obtuvieron mediante maceración dinámica con metanol al 99%. Se realizaron cultivos de la bacteria en placas de 96 pocillos, añadiendo las distintas concentraciones de los extractos a los pocillos correspondientes. Como controles, se utilizaron el fármaco "Shotapen" (control positivo) y alcohol metanol (control negativo). Tras 24 horas de incubación, se midió la inhibición del crecimiento bacteriano mediante espectrofotometría, determinando la densidad óptica en cada pocillo. Para *S. aureus*, se obtuvieron valores de absorbancia promedio (donde valores más bajos indican mayor inhibición) de 0.22, 0.34, 0.59, 0.61 y 0.70 unidades de absorbancia con las concentraciones de 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml y 31.25 mg/ml, respectivamente. El análisis estadístico mediante la prueba de Tukey (5%) reveló diferencias significativas entre tratamientos, sugiriendo que los extractos de *Bassella obovata* y *Baccharis latifolia* poseen compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas contra *S. aureus*, lo que respalda su uso tradicional en la medicina por parte de los productores ganaderos en la provincia de Imbabura. Estos resultados promueven el uso de extractos vegetales como alternativa a los antibióticos convencionales, contribuyendo a reducir la incidencia de cepas bacterianas resistentes e incitar prácticas de manejo sostenibles y naturales en el control de enfermedades en ganado.

**Palabras clave:** *Baccharis latifolia*, *Bassella obovata*, *Staphylococcus aureus*, mastitis bovina, extractos vegetales.

## ABSTRACT

This study focused on evaluating the antimicrobial activity of extracts from *Baccharis latifolia* (Chilca) and *Basella obovata* (Juyanguilla) against *Staphylococcus aureus*, a prevalent bacterium in bovine mastitis cases. These plants were selected based on surveys conducted with livestock producers in the Imbabura province, who commonly use them in the field. The research employed a completely randomized design (CRD) to assess the antimicrobial effect of different concentrations of plant extracts (500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml, and 31.25 mg/ml) on *S. aureus*. The extracts were obtained through dynamic maceration with 99% methanol. Bacterial cultures were prepared in 96-well plates, adding the different extract concentrations to the corresponding wells. The drug "Shotapen" was used as a positive control, and methanol alcohol as a negative control. After 24 hours of incubation, bacterial growth inhibition was measured by spectrophotometry, determining the optical density in each well. For *S. aureus*, average absorbance values (where lower values indicate greater inhibition) of 0.22, 0.34, 0.59, 0.61 and 0.70 absorbance units were obtained with concentrations of 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml, and 31.25 mg/ml, respectively. Statistical analysis using Tukey's test (5%) revealed significant differences between treatments, suggesting that extracts from *Bassella obovata* and *Baccharis latifolia* possess bioactive compounds with antimicrobial properties against *S. aureus*. This supports their traditional use in medicine by livestock producers in the Imbabura province. These results promote the use of plant extracts as an alternative to conventional antibiotics, contributing to reducing the incidence of resistant bacterial strains and encouraging sustainable and natural management practices in livestock disease control.

**Keywords:** *Baccharis latifolia*, *Bassella obovata*, *Staphylococcus aureus*, bovine mastitis, plant extracts.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La presente investigación busca determinar la principal planta medicinal usada por los productores de ganado en Imbabura y analizar su efecto antibiótico, ya que puede llegar a ser una gran alternativa al uso de antibióticos suministrados a animales de producción. Ormea & Gotuzzo (2018) anunció que los antibióticos son un elemento fundamental tanto para la salud humana como para la sanidad animal y el bienestar animal. La extralimitación del uso de estos medicamentos puede generar la manifestación de bacterias resistentes a su acción, también conocido como antibiorresistencia, amenazando el control de las enfermedades a nivel mundial (Pérez Giráldez et al., 2018).

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), al igual que Ormea & Gotuzzo (2018) y Quiñones (2017) cita a Liu et al. (2011) "la OMS ha designado a la RAM (Resistencia Antimicrobiana) como una de los tres problemas cruciales que enfrenta la salud humana en el presente siglo al ser una de las mayores amenazas para la salud mundial".

Paralelamente, los pequeños ganaderos del Ecuador ejercen ciertas acciones terapéuticas para tratar enfermedades que se presentan de manera frecuente en los semovientes, estas prácticas se realizan de manera empírica, tras conocimientos adquiridos ancestralmente. Según Molineri et al. (2023) los principales problemas sanitarios son las parasitosis externa e interna, las neumonías y la mastitis. Esta última patología, es muy importante de acuerdo a que se encuentra en casi todas las ganaderías productoras de leche y genera grandes pérdidas económicas (González & Vidal del Río, 2021)

Para Quispe et al. (2021), la mastitis bovina comúnmente se asocia con infección bacteriana, donde el tratamiento más común se basa en la administración de antibióticos, sin embargo, cuando el procedimiento se lo realiza de manera incorrecta, permite la presencia de residuos de estas sustancias en la leche, además de generar resistencia bacteriana que ofrecen riesgos para la salud humana.

Máttar et al. (2009), afirma que la leche y sus productos derivados representan un riesgo significativo para la salud pública, ya que, su amplia distribución y consumo los convierte en un potencial vehículo de contaminación, donde microorganismos y sustancias nocivas como medicamentos veterinarios, hormonas, pesticidas y antibióticos pueden afectar directamente la seguridad alimentaria de la población.

En este contexto, surge la necesidad de evaluar si las alternativas aplicadas empíricamente como el uso de plantas medicinales, tienen una base científica que caracterice a estas especies vegetales con propiedades antibióticas, y de igual manera buscar si estos elementos contribuyen a dar una solución efectiva al problema de la resistencia a antibiótico.

Según Rodríguez et al. (2014) la OMS (1986), en la Reunión de Tien-Tsin en China, establece a las plantas medicinales como “toda especie vegetal contiene en sus partes sustancias utilizadas a objetivo terapéutico o preventivo”, con esto, se da a conocer que la fitoterapia ha sido enormemente empleada en el pasado para el tratamiento de múltiples patologías animales.

El empleo de plantas medicinales en medicina veterinaria y zootecnia, han sido diversos y unificadas a la actividad específica (antiinflamatoria, antibacteriana, antifúngica, antiparasitaria y diurética) gracias a los principios activos que poseen (Camporese et al., 2001).

"Una publicación realizada por The Lancet Planetary Health alega que se puede minimizar hasta un 39% a las bacterias resistentes a antibióticos destinados a los animales de producción, implementando cualquier tipo de intervención que limitan el uso de estos medicamentos" (Jiménez et al., 2022).

Verde-Star et al. (2016) mencionan que "tan solo entre el 5% al 15% de las aproximadamente 250,000 plantas de uso medicinal, han sido investigadas para compuestos bioactivos. Esto subraya el gran potencial de las plantas en la búsqueda de nuevos medicamentos".

Así, el objetivo principal de este estudio es la evaluación del efecto antibiótico de las plantas medicinales *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*.

## CAPÍTULO II

### OBJETIVOS

#### 2.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* frente a *Staphylococcus aureus* proveniente de bovinos infectados.

#### 2.2. Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento del extracto total de la especie vegetal de *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* obtenido mediante valores orgánicos.
- Evaluar la capacidad antimicrobiana *in vitro* del extracto de *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* frente a *Staphylococcus aureus* proveniente de bovinos infectados.

#### 2.3. Hipótesis

Ho: Ningún extracto presenta actividad antimicrobiana contra la mastitis (*Staphylococcus aureus*).

Ha: El extracto de alguna de las especies vegetales presenta actividades antimicrobianas contra la mastitis (*Staphylococcus aureus*).

## CAPÍTULO III

### ESTADO DEL ARTE

#### **3.1. Mastitis**

##### **3.1.1. Generalidades**

De acuerdo a Bolaños et al. (2012) la leche bovina y los productos lácteos tienen indudables cualidades nutricionales, sin embargo, desde su síntesis en la glándula mamaria hasta que llegan al consumidor, están expuestos a diversos riesgos que pueden comprometer su calidad original, estos riesgos incluyen, la contaminación y multiplicación de microorganismos, la presencia de gérmenes patógenos, alteraciones físico-químicas de sus componentes, absorción de olores extraños, generación de sabores desagradables y contaminación por sustancias químicas como pesticidas, antibióticos, metales, detergentes y partículas de suciedad.

Por lo tanto, para Brousett Minaya et al. (2017) el desafío para quienes trabajan en el sector lácteo no solo es producir más leche, sino también mantener altos estándares de calidad higiénica, tomando en cuenta que uno de los aspectos fundamentales a considerar es el control de la higiene microbiológica de la leche.

La mastitis bovina es una enfermedad de la glándula mamaria, causada por la invasión de diferentes tipos de bacterias, micoplasmas, hongos y virus a través del canal del pezón, de tal manera que las bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y algunos gérmenes Gram negativos son responsables de más del 90% de los casos clínicos y subclínicos (Silva, 2021).

Para Bedolla (2008) la mastitis es uno de los principales problemas sanitarios que enfrentan los pequeños y medianos productores lecheros, debiéndose a las condiciones y el entorno en el que se desarrolla esta actividad, así como al desconocimiento en el manejo

adecuado de la misma. Además, Bonifaz & Colango (2016) afirma que la mastitis es una patología de origen multifactorial, causada por una gran variedad de microorganismos que constantemente evolucionan, dificultando su tratamiento y erradicación, además de la resistencia que desarrollan los animales por el uso inadecuado de antibióticos.

La mastitis es una enfermedad altamente prevalente a nivel mundial en el ganado lechero y es una de las más importantes que afecta a la industria láctea, ocasionando grandes pérdidas económicas a los productores de leche (Andresen, 2013).

En prácticamente todos los casos, las bacterias responsables de la mastitis ingresan a la glándula mamaria a través del canal del pezón, que actúa como la primera y más crucial barrera de defensa de la glándula mamaria, causando así, un impacto negativo en la calidad, cantidad y composición de la leche producida (Corbellini, 2002).

### **3.1.2. Diagnóstico**

Conforme a Bolaños et al. (2012) la mastitis es comúnmente identificada mediante la observación de signos clínicos, principalmente relacionados con las anomalías en la composición y estado de la leche y la glándula mamaria. Según Scaramelli, (2005) los síntomas clínicos se manifiestan a través de una reducción en la producción de leche, un aumento en la cantidad de leucocitos en la leche, cambios en la composición y apariencia de la leche (como la presencia de grumos), fiebre, enrojecimiento, hinchazón e incremento de la temperatura en los cuartos mamarios.

La mastitis bovina puede ser clasificada según el grado de inflamación y las lesiones locales, así como sus efectos sistémicos en la vaca, en términos generales, se divide en dos categorías principales: “Mastitis Subclínica” y “Mastitis Clínica” (Osejo Rodríguez et al., 2020).

Es importante destacar que, en casos de mastitis subclínica, las vacas afectadas no muestran señales evidentes de la enfermedad, aunque experimentan una disminución en la producción de leche, un recuento elevado de leucocitos y un aumento en la presencia de bacterias en la leche (Bolaños et al., 2012).

### **3.1.3. Epidemiología**

De acuerdo a Mera et al. (2017) la infección de cada glándula mamaria se produce a través de los conductos del pezón, proveniente principalmente de dos fuentes de contaminación: la leche de otros cuartos infectados y el entorno. Para Bedolla (2008), la mala higiene de las manos, toallas y equipos de ordeño puede propagar rápidamente los microorganismos a otros pezones.

Existen diferentes mecanismos por los cuales los microorganismos pueden ingresar a los conductos del pezón:

- Las bacterias pueden viajar y multiplicarse a través de los conductos entre ordeños.
- La presión física del pezón durante el ordeño mecánico puede facilitar la entrada de patógenos.
- Los movimientos de la vaca provocan que la punta del pezón se acerque y aleje del canal, permitiendo el ingreso de microorganismos.
- Incluso durante la administración de antibióticos, la cánula puede forzar la entrada de microorganismos al interior del pezón.

#### **3.1.3.1. Etapas invasión**

Pedrozo et al. (2021) explica que la invasión microbiana de la glándula mamaria siempre ocurre a través de los conductos del pezón, si bien esto puede parecer un fenómeno natural, el desarrollo de la mastitis es un proceso más complejo que se puede explicar en tres etapas:

- **Etapas de invasión:** En esta fase, el microorganismo pasa del exterior de la ubre hacia el interior de la cisterna del pezón, donde se encuentra la leche.

- **Etapa de infección:** Aquí, los microorganismos se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario, estableciendo una población bacteriana que se disemina por toda la glándula dependiendo de la patogenicidad del microorganismo.
- **Etapa de inflamación:** La invasión e infección microbiana deriva finalmente en una respuesta inflamatoria (mastitis), lo cual se refleja en un aumento notable de la cuenta de glóbulos blancos en la leche ordeñada (Bedolla, 2008).

#### 3.1.4. Agentes causales de la mastitis

La infección de la glándula mamaria se origina a través del pezón y una vez que las bacterias ingresan al conducto, se multiplican e invaden el tejido mamario, causando daño y provocando una inflamación que deriva en una mastitis clínica (Bolaños et al., 2012).

Echeverri et al. (2009) manifiesta que entre las bacterias que pueden provenir de los establecimientos lecheros y causar mastitis, se destacan cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Además, para Ibarra Rosero et al. (2022) existen otros factores a considerar, como la edad de las vacas, la etapa de lactancia, la estación del año, las variaciones de temperatura ambiental durante el día, los cambios climáticos y las condiciones de manejo que generen estrés en los animales.

De acuerdo con Aguilera-Becerra et al. (2014) la leche es un excelente medio de conservación y crecimiento para una gran diversidad de microorganismos, pertenecientes a numerosas especies bacterianas y su reproducción depende principalmente de la temperatura, el número de microorganismos presentes y sus productos metabólicos.

Se han identificado 138 microorganismos causantes de mastitis, los cuales se clasifican en tres categorías:

- **Patógenos contagiosos:** Son aquellos que se diseminan de los cuartos infectados a otros cuartos y a otros animales (ej. *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, *Mycoplasmas* spp.).

- **Patógenos oportunistas:** Son habitantes normales de la piel del pezón y actúan como oportunistas en la presentación de la enfermedad (ej. coliformes, estreptococos ambientales, estafilococos coagulasa negativos).
- **Patógenos ambientales:** Son microorganismos que se encuentran en el medio ambiente y logran llegar a la glándula mamaria (ej. *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, levaduras, *Nocardia asteroides*, *Prototheca spp.*).

Para (Cervantes et al., 2017) las técnicas microbiológicas han permitido la identificación precisa de los microorganismos patógenos causantes de mastitis, tradicionalmente, estos agentes han sido clasificados en patógenos contagiosos y ambientales, en función de su asociación epidemiológica con la enfermedad y su capacidad de causar infecciones oportunistas y persistentes, dependiendo también de su nicho ecológico primario y el entorno de la glándula mamaria infectada.

### 3.1.5 *Staphylococcus aureus*

Scaramelli, (2005) explica que la *Staphylococcus aureus* está principalmente vinculado a infecciones de las glándulas mamarias bovinas, lesiones en los pezones y la colonización del canal del pezón, propagándose de una vaca a otra y de un cuarto mamario a otro durante el proceso de ordeño o poco después de este.

La infección causada por *S.aureus* tiende a ser crónica, ya que, esta bacteria tiene la capacidad de persistir en los neutrófilos y macrófagos del sistema inmunitario, y, recientemente, se ha demostrado que puede incluso sobrevivir y multiplicarse dentro de algunas vacuolas citoplasmáticas de las propias células alveolares, aprovechando el citoesqueleto membranoso de la célula anfitriona (Corbellini, 2002).

Es importante destacar que *S. aureus* es un agente zoonótico, lo que significa que puede causar enfermedades en los seres humanos, incluyendo intoxicaciones alimentarias, por lo tanto,

la presencia de esta bacteria en la leche que se comercializa no debe ser tolerada, y se deben implementar medidas rigurosas para prevenir su contaminación (Scaramelli, 2005).

### **3.1.6. Tipos de mastitis**

#### **3.1.6.1 Mastitis Clínica**

La mastitis clínica se caracteriza por la apariencia normal de la ubre, pero la leche exhibe coagulación y grumos, la glándula mamaria se encuentra inflamada, mostrando un tono rojizo, y, su manipulación provoca dolor, lo que resulta en una disminución de la producción láctea (Andresen, 2013).

#### **3.1.6.2 Mastitis Subclínica**

Los cambios en la ubre o la leche no evidentes a simple vista. Se puede detectar mediante la prueba de Mastitis California, que evalúa la estructura de la leche en función de la presencia de factores inflamatorios, por lo mismo, dada su naturaleza insidiosa, es crucial emplear técnicas de laboratorio para monitorear las células somáticas y realizar un cultivo bacteriano (Andresen, 2013).

#### **3.1.6.3 Mastitis aguda**

La mastitis aguda se manifiesta con mayor frecuencia después del parto, mostrando una aparición súbita con alteraciones en la leche y una marcada reducción en la producción láctea, en algunos casos, la leche puede tener la apariencia de suero sanguíneo, de igual manera, las vacas afectadas exhiben signos como anorexia, depresión y fiebre (Espínola et al., 2016).

#### **3.1.6.4 Mastitis crónica**

Para Espínola et al., (2016) la mastitis crónica se desarrolla cuando la inflamación aguda persiste por más de cinco días, manifestándose con endurecimiento notable, sensación de calor y secreciones continuas en la leche. Según Takano (2010) esta presenta una apariencia

acuosa acompañada de hojuelas, grumos, coágulos o fibrones en los primeros chorros de leche, asimismo, los animales afectados muestran síntomas como fiebre, anorexia, taquicardia, entre otros.

### **3.1.7. Tratamiento de la mastitis**

Los veterinarios encuentran dificultades para evaluar el éxito del tratamiento de la mastitis debido a la falta de un estándar establecido de resultados (Pinzón-Sánchez et al., 2010). Conforme Tang-Ploog (2019) los ganaderos buscan principalmente reducir los síntomas clínicos, gestionar el RCS, evitar recaídas y garantizar una producción láctea estable, por otro lado, interpretar los resultados puede ser confuso debido a que, en casos leves, es común que los síntomas desaparezcan en un lapso de 4 a 6 días sin importar el tratamiento utilizado.

Sin embargo, es necesario destacar que este hecho no asegura en todos los casos una recuperación completa, sobre todo cuando se trata de patógenos Gram positivos Hoe & Ruegg (2006). Diversos elementos afectan la eficiencia del tratamiento, como el tipo de patógeno presente, la severidad de la enfermedad en las vacas, cómo responde su sistema inmunitario, el protocolo específico utilizado para el tratamiento y qué tan rápido se comienza dicho procedimiento (Hillerton & Berry, 2003).

De acuerdo con la investigación llevada a cabo por Pinzón-Sánchez et al., (2010), se observó que los casos nuevos tienen una probabilidad de curación bacteriológica 7 veces mayor en comparación con los casos recurrentes, por ende, la importancia de la detección temprana y tratamiento oportuno para mejorar las posibilidades de recuperación completa en animales afectados por mastitis.

### **3.1.8. Variables de la vaca que influyen en los resultados del tratamiento**

Smith, Todhunter, & Schoenberg, (1985) llevaron a cabo un amplio estudio acerca de la correlación entre la edad del ganado y las infecciones intramamarias ocasionadas por patógenos ambientales, por tal motivo, las vacas más ancianas, además de tener un mayor riesgo de desarrollar mastitis, suelen responder menos positivamente al tratamiento.

Pyorla & Pyorala, (1998) junto con Deluyker et al. (1999), detallan que los animales de primera lactación tienen una tasa de curación clínica y bacteriológica del 39%, mientras que, para las vacas multíparas, esta cifra oscila entre el 26% y el 30%.

Además, en un estudio realizado por Sol et al., (2000) junto con McDougall et al. (2007), se observó una reducción en la curación bacteriológica en vacas multíparas luego de someterse a tratamientos, esto en respuesta inmune en vacas debido a su edad y particularidades fisiológicas.

### **3.1.9. Métodos de detección de la mastitis bovina**

#### **3.1.9.1. Examinar y pulsar la ubre**

De acuerdo a Bedolla (2007) aunque la ubre parece saludable y la leche se ve normal en la mastitis subclínica, existe una posible infección que puede dañar el tejido glandular e impactar en las características de la leche, por otro lado, la mastitis clínica se identifica por la presencia de inflamación, aumento de temperatura, enrojecimiento y dolor en uno o varios cuartos o todo el tejido glandular, por tal motivo, el sistema inmunitario tiene la función de regular y combatir la infección.

Según Pérez, Bedolla, & Castañeda (2005), es posible observar cambios evidentes en la leche en casos clínicos, tales como un cambio de color, presencia de grumos o coágulos sanguinolentos o con pus, e incluso una consistencia más acuosa.

#### **3.1.9.2. Pruebas químicas**

Algunos de los elementos que se toman en cuenta son la conductividad eléctrica de la leche, el uso del papel indicador para detectar mastitis y también se utiliza la prueba de Whiteside, debido a su naturaleza variable y subjetiva, se desaconseja utilizar exclusivamente la conductividad eléctrica (CE) como única prueba (Pérez, Bedolla, & Castañeda, 2005).

### **3.1.9.3. Conductividad eléctrica en leche**

Durante la última década, se ha utilizado la Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) como una forma de detectar mastitis, debido a que, la conductividad se incrementa como resultado de un mayor nivel de electrolitos, principalmente sodio y cloro, lo cual puede encontrarse en sistemas de ordeño automatizados y medidores portátiles, lo que permite un control individual por cuarto (Guízar & Bedolla, 2015).

Según Rossitto et al., (2002) esta técnica es útil para medir lesiones, como el recuento celular, sin embargo, su implementación puede ser restringida a vacas de alta producción en pequeños rebaños o laboratorios equipados con auto analizadores, ya que, requiere una evaluación cuidadosa para su implementación óptima.

Es posible incluir otros factores como la producción láctea, el número de partos y los días de lactancia en un modelo de regresión logística para analizar rebaños con alta incidencia de mastitis subclínica (Santivañez Ballón et al., 2014).

### **3.1.9.4. Prueba de California para mastitis**

Durante décadas, la Prueba de California para Mastitis (CMT) ha sido ampliamente utilizada en el campo como una herramienta común para diagnosticar mastitis en el ganado bovino lechero, por tal motivo, esta prueba sigue siendo popular hoy en día, según los estudios realizados por Guízar (2015) y Bedolla (2007). Este método es sencillo y ayuda a detectar la mastitis subclínica al estimar el recuento de células en la leche de manera aproximada, asimismo, en lugar de dar un resultado numérico, simplemente indica si el recuento es alto o bajo, por lo mismo, se considera sospechoso cualquier resultado que supere una simple reacción vestigial (Fetrow, 2013).

Los resultados pueden clasificarse en cinco categorías diferentes (Figura 1), desde un resultado negativo, donde la leche y el reactivo permanecen líquidos, hasta un recuento de células más alto, donde la mezcla de leche y reactivo se solidifica casi por completo. Bedolla (2007) basa esta interpretación en la reacción de gelificación descrita en la Tabla 1.

**Figura 1.**

*Interpretación resultados prueba California*



**Recuperado de:** Bedolla, (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). Redvet.

**Tabla 1.**

*Interpretación de resultados prueba California para mastitis.*

<i>Score</i>	<i>Significado</i>	<i>Descripción De La Reacción</i>	<i>Interpretación (Rcs /ML)</i>
N	Negativo	La mezcla permanece en estado líquido y homogéneo.	0 a 200.000
T	Trazas	Hay algo de engrosamiento. La reacción es reversible y la viscosidad observada por primera vez tiende a desaparecer.	150.000 a 500.000
1	Ligeramente Positivo	La mezcla espesa, pero no hay formación de gel en el medio de la paleta y la viscosidad observada tiende a persistir. La mezcla cae poco a poco.	400.000 a 1.500.000
2	Positivo	Gel se formará en el centro de la paleta durante el movimiento giratorio. El gel se acumula en la parte inferior de la paleta cuando el movimiento giratorio se interrumpe. Cuando se vierte la mezcla la masa gelatinosa cae y puede dejar un poco de líquido en el pocillo.	800.000 a 5.000.000
3	Muy positivo	Gel se formará en el centro de la paleta y se pega en el fondo del pocillo, pero no a un lado. Cuando se vierte en mezcla, se cae sin dejar líquido detrás.	>5.000.000

**Nota.** Recuperado de “Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds”, Seegers, Fourichon y Beaudeau, (2003).

## **3.2 Alternativas antibióticas**

El tratamiento para la mastitis bovina, se centra en el uso de antibióticos específicos administrados mediante terapia intramamaria. Este tratamiento busca eliminar la infección causante y mejorar la salud de la ubre, además, se implementan prácticas de manejo higiénico, como la limpieza adecuada de las ubres antes y después del ordeño, para prevenir nuevas infecciones (Amorim et al., 2021).

### **3.2.1 Plantas con propiedades antibióticas**

Para Pérez et al. (2021) la búsqueda de fármacos alternativos basados en las propiedades farmacológicas y fitoquímicas de las plantas se ha convertido en una prioridad para la investigación en salud animal, ya que, debido a los altos costos de los medicamentos sintéticos y sus diversos efectos secundarios justifican la exploración de productos alternativos derivados de plantas, además, no se han documentado casos de resistencia antimicrobiana a estos fitoquímicos, probablemente debido a sus múltiples mecanismos de acción que dificultan la selección de bacterias resistentes.

En esta nueva era, surge la necesidad de recurrir a alternativas eficaces y naturales para controlar las infecciones bacterianas, lo cual ha llevado al estudio de la fitoquímica y fitofarmacología de las plantas (Chang et al. 2013).

De acuerdo a Alarcón & Quicazán (2016) el alto porcentaje de metabolitos secundarios de las plantas ofrece grandes posibilidades de encontrar moléculas bioactivas con actividad antibacteriana, por lo tanto, las plantas se pueden considerar como una fuente primordial de sustancias activas con propiedades antibacterianas.

### **3.2.2 Extracción**

Se conoce que el uso de disolventes orgánicos produce un rendimiento eficaz, ya que estos solventes penetran en el material vegetal y extraen los componentes de interés, como grasas, pigmentos, ceras y elementos volátiles, por lo cual es importante considerar que la

temperatura de extracción debe ser baja, ya que las altas temperaturas podrían descomponer los principios activos (González, 2004).

### **3.2.2.1 Extracción por solución, sólido – líquido**

La extracción sólido-líquido implica la trituración y secado previo del material vegetal, seguido de la extracción de los metabolitos mediante un disolvente en el que sean muy solubles, para diferenciarlos de las sustancias insolubles presentes en la planta (Gonzalez, 2004).

### **3.2.3 Maceración dinámica**

La maceración dinámica se refiere al contacto prolongado del material crudo con el solvente, constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el solvente actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la planta, disolviendo sus principios activos hasta alcanzar una concentración de equilibrio (Gonzalez, 2004).

## **3.3 Plantas silvestres**

De acuerdo a Tena et al. (2012) las plantas silvestres son aquellas que crecen de forma natural en su entorno sin intervención humana, estas plantas pueden ser nativas de una región o introducidas, pero se consideran silvestres cuando crecen de forma espontánea en la naturaleza.

Según Fonnegra & Villa (2017) algunas plantas silvestres pueden tener propiedades medicinales, alimenticias o ser beneficiosas para el ecosistema, sin embargo, también es importante tener en cuenta que algunas plantas silvestres pueden ser tóxicas o invasoras.

Las plantas medicinales silvestres constituyen opciones eficaces y económicamente viables para satisfacer los requisitos fundamentales de salud de las personas, ya que, contienen una variedad de compuestos que contribuyen a prevenir y tratar diversas enfermedades (Zárate, 2023).

### **3.3.1. Plantas medicinales**

Las plantas medicinales abarcan una amplia variedad de especies vegetales que han sido utilizadas a lo largo de la historia por sus propiedades terapéuticas, ya que estas plantas contienen en sus órganos componentes activos que, cuando se emplean en dosis adecuadas, pueden brindar beneficios curativos en una variedad de enfermedades tanto en seres humanos como en animales (Cosme, 2008).

Desde tiempos antiguos, diversas culturas han empleado plantas medicinales como parte integral de sus sistemas de salud, aprovechando el conocimiento tradicional para tratar dolencias y promover el bienestar, por tal motivo, hasta hoy en día, la investigación científica continúa explorando el potencial terapéutico de estas plantas, identificando y comprendiendo mejor sus mecanismos de acción y aplicaciones clínicas, por esa razón, su uso continúa siendo relevante en muchos lugares del mundo, complementando y en algunos casos incluso reemplazando los tratamientos convencionales (Cosme, 2008).

### **3.3.2. *Baccharis latifolia* (chilca)**

De acuerdo a Morejón et al. (2020) esta planta comúnmente conocida como “chilca” representa un importante recurso en la medicina tradicional de diversos países sudamericanos, donde ha sido utilizada durante generaciones por sus propiedades terapéuticas.

Estos usos específicos han sido objeto de investigaciones adicionales orientadas a corroborar y respaldar su eficacia, ya que, representan una valiosa fuente de compuestos medicinales (Prada et al., 2016).

#### **3.3.2.1 Descripción botánica**

Morfológicamente para Castañeda et al. (2015) *Baccharis latifolia* se caracteriza por ser un arbusto perenne que puede alcanzar una altura entre 2 y 3 metros, presenta hojas simples y alternas, de forma lanceolada a oblongo-lanceolada, con un distintivo color verde brillante y nervaduras prominentes.

Sus flores son pequeñas y blanquecinas, organizadas en capítulos, la planta se distingue por sus ramas flexibles y una corteza de tonalidad grisácea, características que facilitan su identificación en campo (Valarezo et al., 2013).

**Tabla 2.**

*Clasificación taxonómica de Baccharis latifolia.*

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Baccharis</i>
Epíteto Específico	<i>latifolia</i>

*Nota.* Modificado de: Monroy & Ramos, (2015)

### 3.3.2.2 Distribución geográfica

*B. latifolia* es una especie nativa de la región andina de Sudamérica, encontrándose principalmente en países como Perú, Bolivia, Ecuador, Colombia y Venezuela (Castañeda et al., 2015). Según Morejón et al. (2020) su hábitat natural se extiende en un rango altitudinal que va desde los 1.000 hasta los 4.000 metros sobre el nivel del mar, mostrando preferencia por zonas húmedas y bordes de bosques, donde encuentra las condiciones óptimas para su desarrollo.

### 3.3.2.3 Usos tradicionales

*B. latifolia* ha sido ampliamente utilizada por sus diversas propiedades terapéuticas, durante generaciones las comunidades locales han empleado principalmente las hojas para el

tratamiento de inflamaciones, reumatismo y dolores musculares, aplicándolas en forma de cataplasmas para tratar contusiones, además, se ha documentado su uso en el tratamiento de afecciones respiratorias y problemas dermatológicos, lo que sugiere un amplio espectro de aplicaciones medicinales (Valarezo et al., 2013).

#### **3.3.2.4 Composición química**

*B. latifolia* presenta una composición química compleja que incluye diversos metabolitos secundarios de interés farmacológico, entre sus principales componentes se encuentran flavonoides, diterpenos, compuestos fenólicos, aceites esenciales y taninos (Rojas et al., 2007).

Esta rica composición química podría explicar las diversas propiedades medicinales atribuidas a la planta, incluyendo su potencial actividad antimicrobiana, lo que la convierte en un importante objeto de estudio para la investigación farmacológica moderna (Prada et al., 2016).

#### **Figura 2.**

*Baccharis latifolia* (Chilca)



### 3.3.3. *Basella obovata* (Juyanguilla)

#### 3.3.3.1 Descripción botánica

*B. obovata* es una planta perenne, de acuerdo a Eriksson (2007) es una planta enredadera, de ciclo anual o bianual, la cual, posee racimos axilares con raquis largo y grueso, además sus bractéolas y el perianto de forma ovoide u oblonga están fusionados, apenas se abren durante la floración, siendo carnosos y adheridos al fruto de esta etapa.

De igual manera sus estambres están ubicados dentro del tubo del perianto, con los filamentos insertados cerca del extremo, siendo muy cortos y erguidos en la yema, su propagación se da por estacas y raíz (Eriksson, 2007).

**Tabla 3.**

*Clasificación taxonómica de Basella obovata*

Familia	Basellaceae
Especie	<i>Basella obovata</i>
Género	Basella
Nombre común	Juyanguilla
Nombre científico	<i>Basella obovata</i>

*Nota.* Modificado de Eriksson (2007).

#### 3.3.3.2 Distribución geográfica

Se encuentra principalmente en regiones andinas, siendo reportada en países como Perú y Ecuador, la planta tiene preferencia por climas templados a subtropicales y puede encontrarse en altitudes medias, especialmente en zonas rocosas y cauces de quebradas donde hay suficiente humedad para su desarrollo (Tabango, 2017).

### 3.3.3.3 Usos tradicionales

Algunas comunidades andinas han utilizado esta planta, se conoce que su aplicación se destina principalmente a mitigar dolores de cabeza, mareos, así como aliviar malestares relacionados con el sistema digestivo, siendo recomendada para contrarrestar el mal viento, al igual que sirve de antiinflamatorio (Tabango, 2017).

### 3.3.3.4 Composición química

Según Eriksson (2007) la familia Basellaceae son conocidas por ser ricas en mucílagos, que son polisacáridos complejos que le dan la característica mucilaginososa a las hojas y tallos, estos compuestos son responsables de algunas de sus propiedades medicinales, especialmente relacionadas con efectos antiinflamatorios y cicatrizantes.

Por otro lado, los compuestos bioactivos que destacan de la familia basellaceae son las saponinas, flavonoides, mucílagos y betalaínas, esta rica composición química puede explicar las diversas propiedades medicinales atribuidas a las especies de esta familia (Eriksson, 2007).

#### **Figura 3.**

*Basella obovata* (Juyanguilla)



## CAPÍTULO IV

### MATERIALES Y MÉTODOS

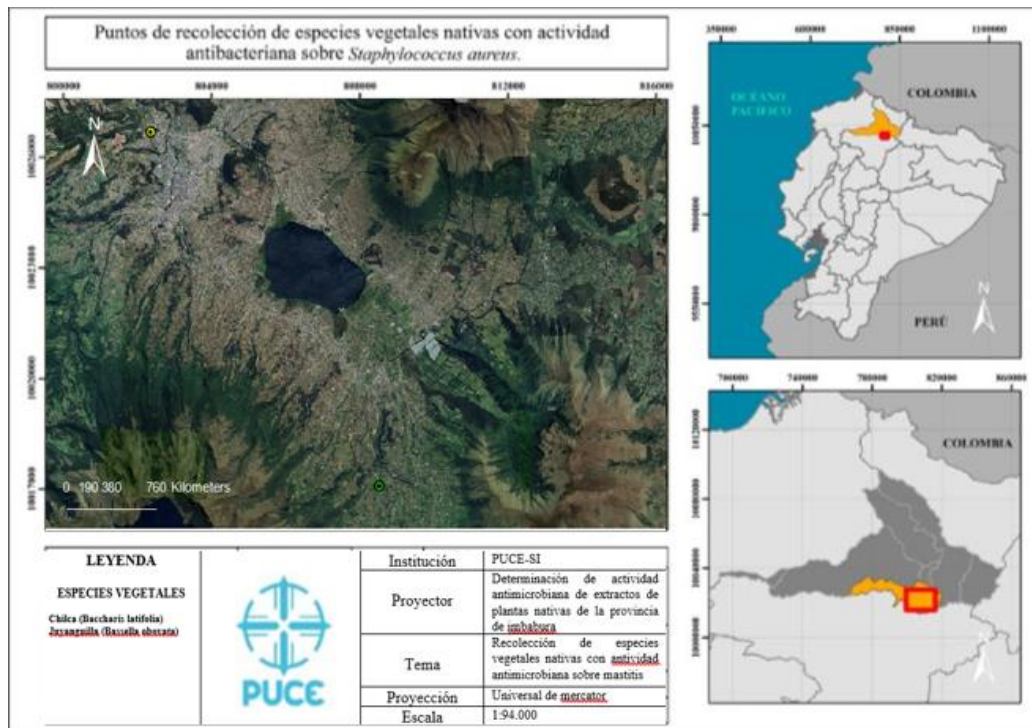
#### 4.1. Zona de estudio

##### 4.1.1. Fase de campo

Las especies *Baccharis latifolia* con coordenadas 0°11'13.6"N 78°11'43.6"W ubicada a 2697 m.s.n.m y *Bassella obovata* con coordenadas 0°09'04.7"N 78°12'09.2"W ubicada a 2949 m.s.n.m fueron recolectadas en la parroquia San Pablo, Provincia de Imbabura – Ecuador (Figura 4), que abarca una extensión de 41.26 Km<sup>2</sup>, y una altitud aproximada de 2800 m.s.n.m.

#### Figura 4.

Ubicación Geográfica recolección de especies.



#### **4.1.2. Fase laboratorio**

Las especies fueron transportadas hasta los laboratorios de Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra para la extracción de sus compuestos activos, además una muestra de cada especie fue llevada hasta el herbario de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales de la PUCE-I para su identificación taxonómica, siguiendo el protocolo recomendado por López y Rosas (2002).

#### **4.2. Materiales**

##### **4.2.1 Máquinas**

- Balanza analítica
- Molino de cuchillas Retsch GM 200
- Agitador
- Deshidratador
- Evaporador rotativo
- Compresor
- Espectrofotómetro
- Equipo baño maría
- Bomba de filtración
- Cámara al vacío
- Incubadora

##### **4.2.2 Reactivos**

- Metanol
- Plantas de interés (Chilca; Juyanguilla)
- Agua destilada
- Penicilina

##### **4.2.3 Físicos**

- Papel aluminio
- Matraz
- Frascos boeco
- Frascos ambar
- Embudo buchner

- Papel filtro
- Micropipetas
- Placas 96 pocillos

### 4.3. Metodología

#### 4.3.1. Recolección e identificación taxonómica de especies vegetales

En la tabla 4 se muestran las especies vegetales colectadas, características específicas de cada una de ellas y las coordenadas en las que fueron encontradas.

**Tabla 4.**

*Área de colección de especies vegetales*

Punto	Familia	Especie	Nombre común	Altura (m.s.n.m)	Coordenadas
1	Asteraceae	<i>Baccharis latifolia</i>	Chilca	2697 msnm	0°11'13.6"N 78°11'43.6"W
2	Basellaceae	<i>Basella obovata</i>	Juyanguilla	2949 msnm	0°09'04.7"N 78°12'09.2"W

López (2014), revela que las familias *Asteraceae* y *Basellaceae* poseen propiedades antiinflamatorias, lo cual las hace útiles en el tratamiento de afecciones como la mastitis. Rivero (2020), da a entender que la diversidad de estas familias se da a partir de los 2000 msnm a 3000 msnm. Se identificó una gran variedad de estas especies en el sector de San Pablo, lo que motivó la selección de los especímenes *Basella obovata* (Juyanguilla) y *Baccharis latifolia* (Chilca) para su estudio.

Las muestras fueron cuidadosamente recolectadas y almacenadas en bolsas selladas para su traslado al laboratorio. Una vez allí, se sometieron a un proceso de limpieza meticuloso con el objetivo de eliminar secciones afectadas y cualquier material no deseado, asegurando así la calidad de las muestras para su posterior análisis. Tras esto se llevó a cabo una identificación taxonómica en el herbario de la PUCEI, ubicado en la provincia de Imbabura.

Mediante la clave dicotómica, logramos describir taxonómica la especie vegetal *Baccharis latifolia* por lo que se afirma que es un árbol de gran tamaño, sin pelos en su superficie, con ramas dispuestas verticalmente y pequeñas ramas foliares anguladas, además sus hojas son completas, puntiagudas y brillantes en la parte superior, con dimensiones que oscilan entre 10 y 20 cm de longitud, con un pecíolo de 4 mm de longitud. Prada et al. (2016) afirma que la inflorescencia se encuentra en las axilas de las hojas, las diminutas flores pentámeras se presentan en gran cantidad en estas axilas, con un cáliz colorido que posee dientes desprendibles y pétalos de forma alargada de color blanquecino.

La información adquirida por la clave dicotómica permitió describir taxonómicamente la especie vegetal *Basella obovata*, por lo que se afirma que es una De igual manera sus estambres están ubicados dentro del tubo del perianto, con los filamentos insertados cerca del extremo, siendo muy cortos y erguidos en la yema, su propagación se da por estacas y raíz (Eriksson, 2007).

**Figura 5.**  
Muestras de planta *Baccharis latifolia* y *Basella obovata*.



### 4.3.2. Extracción de compuestos activos

Las especies vegetales *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* fueron sometidas a un procedimiento de deshidratación en una cámara de secado con flujo de aire. Posteriormente, se procede a triturar repetidamente las fracciones de gran tamaño de cada especie en un molino de cuchillas Retsch GM 200, hasta alcanzar un polvo homogéneo, facilitando así la posterior extracción de compuestos bioactivos. Finalmente pesamos y guardamos las muestras en bolsas de papel con su respectiva etiqueta.

La extracción de los compuestos activos de las plantas se realizó mediante el método de maceración dinámica, para este proceso se utilizó metanol como solvente orgánico debido a su baja selectividad, lo que permite una extracción más exhaustiva de los diversos componentes presentes en el material vegetal. La elección de este solvente se basó en su capacidad para disolver y extraer una amplia gama de compuestos, maximizando así el rendimiento y la diversidad de los extractos obtenidos.

Por cada especie vegetal, se preparó una muestra de 20g que se introdujo en un matraz y a su vez se añadió metanol en una proporción de 1:10 (peso/volumen). La mezcla se sometió a maceración dinámica utilizando un agitador orbital durante 18 horas a 250 rpm, manteniendo la temperatura ambiente. Al finalizar este periodo, se realiza una filtración para separar el residuo líquido del material sólido, el filtrado se reservó, mientras que el residuo sólido se somete a dos extracciones adicionales bajo las mismas condiciones. Una vez completas las tres extracciones, se combinaron y concentraron mediante un rotavapor a 40 °C, este proceso se continuó hasta la completa evaporación del solvente, obteniendo así un extracto sólido concentrado, para finalmente almacenarlo en frascos de boca ancha para su posterior análisis y uso.

Para cuantificar la eficiencia de la extracción, se calculó el rendimiento del extracto total. Este se expresó como un porcentaje en relación con la masa inicial de material vegetal seco, utilizando la fórmula descrita en la ecuación 1.

### Ecuación 1.

Porcentaje de rendimiento del extracto total.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{gramos de extracto seco}}{\text{gramos de la muestra}} \times 100$$

Los resultados se mostraron en gramos y en porcentajes.

### Figura 6.

Obtención de extractos.



#### 4.3.3 Procedimiento aislamiento de *Staphylococcus aureus*

Conforme al procedimiento de Younis & Hala (2018), primeramente, se mezcló agar Manitol Salado: por cada 100ml de agua destilada se diluyó 111 g de agar, tras esto se esterilizó a 120°C en la autoclave, a continuación, se sirvió 20 ml de solución Manitol Salado en 30 cajas petri (una por muestra). Las muestras fueron obtenidas de 30 vacas diferentes provenientes de la provincia del Carchi. Tras endurecerse, se agregó 1 ml de la muestra *Staphylococcus aureus* obtenida de la leche de vacas con diagnóstico clínico de mastitis bovina (Campaña, 2021).

Para sembrar la bacteria, se calentó el asa 30 segundos en el mechero de bunsen para asegurarnos que quede desinfectada para evitar cualquier tipo de contaminación, a continuación, se hicieron rayas con el asa en un cuarto de la caja, luego se giró y realizó el mismo proceso en otro cuarto de la caja.

Finalmente se tapó cada caja con Parafilm para evitar contaminaciones y se las marcó para identificarlas, posteriormente se las dejó en incubadora entre 24 y 48 horas a 37°C, al terminar el tiempo de incubación se revisó la existencia de *Staphylococcus aureus* y se contó las colonias más importantes.

#### **4.3.4 Identificación morfológica de *Staphylococcus aureus***

Según Regasa et al. (2019) para identificar si la bacteria pertenece al grupo Gram positivo o negativo, se implementó la técnica de Tinción Gram, la cual examina las variaciones estructurales en la pared celular del microorganismo. Una vez culminado el tiempo de incubación, se ejecutó la tinción de Gram dentro de la cámara de flujo laminar previamente desinfectada, donde se extrajo una colonia empleando un asa de siembra esterilizada y se elaboró un extendido sobre la lámina portaobjetos creando una zona circular y homogénea, tras esto se dejó su secado natural durante algunos minutos, posteriormente se depositó dos gotas de solución yodada manteniéndolas por dos minutos, continuando con un lavado con agua purificada y se adicionó cristal violeta, permitiendo su acción durante cinco minutos, tras otro enjuague, se incorporó safranina dejándola reposar durante tres minutos, por último, se enjuagó, se vertió alcohol y se examinó la muestra en el microscopio.

#### **4.3.5 Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus***

Para la identificación molecular de la bacteria, se remitieron cuatro muestras (cuatro placas inoculadas directamente con leche) al laboratorio IDgen-identificación molecular en Quito, donde utilizaron la metodología de identificación molecular por barcoding 16S específica para bacterias.

- El proceso que ejecutaron comenzó con la obtención del ADN mediante un método convencional usando 100 mg de muestra; posteriormente verificaron la calidad e

integridad del material genético extraído a través de espectrofotometría de micro volúmenes y visualización en gel de agarosa.

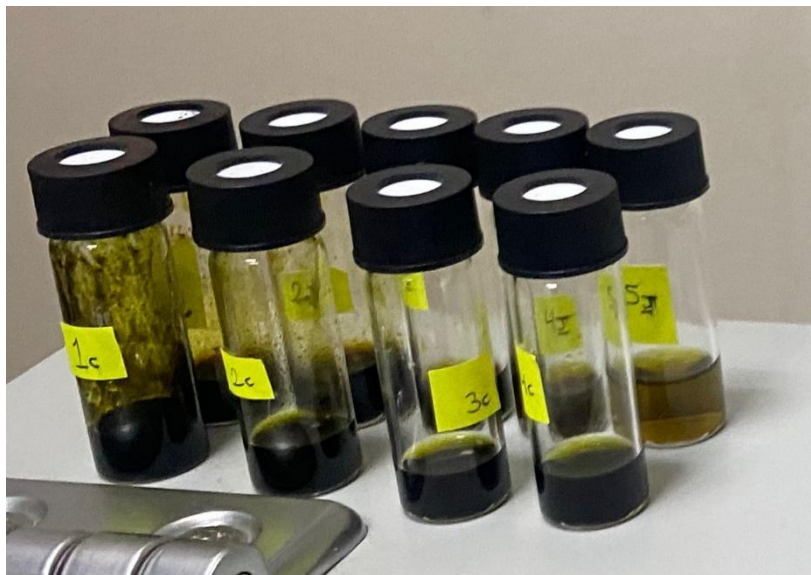
- El ADN fue diluido hasta alcanzar una concentración de 20 ng/uL para su amplificación mediante PCR, empleando dos cebadores específicos (16S: 27F/1492R).
- Los productos de PCR fueron purificados previo a la secuenciación por el método SANGER, tras lo cual las secuencias obtenidas se procesaron y ensamblaron utilizando herramientas bioinformáticas.

#### 4.3.6 Determinación actividad biológica de los extractos vegetales

La obtención completa de las plantas de *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* se elaboraron partiendo del concentrado deshidratado, para lo cual se tomaron 500 mg en un recipiente de vidrio y se mezclaron en 1 ml de metanol hasta conseguir una solución homogénea. Se formularon cinco soluciones para cada concentrado que corresponden respectivamente a 500, 250, 125; 62.5 y 31.25 mg/ml. En la figura 6 se observan los recipientes utilizados con las diluciones de los concentrados totales de las plantas analizadas preparados a las distintas concentraciones.

#### Figura 7.

*Dilución seriada de extractos totales*



#### **4.3.7 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y crecimiento bacteriano por el método de microdilución.**

Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que representa la concentración más baja en la que un extracto puede inhibir el desarrollo microbiano después de un período de incubación, se tomó de referencia la guía establecida por Arivudainambi et al. (2011).

Las pruebas fueron realizadas en placas de poliestireno de 96 pocillos, donde primero se incubaron las bacterias a 28°C, tras esto, se sembró el microorganismo en placas con agar nutritivo y se incubó por 18 horas a 28°C. Luego se tomó una colonia y se sembró en 5 ml de Nutritive Broth, del cual se transfirió 50 µl a una placa de 96 pocillos. El inóculo fue ajustado según la escala McFarland, alcanzando una absorbancia entre 0.08-0.10 a 650 nm, lo que corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de  $1 \times 10^8$  UFC/ml.

A continuación, se preparó la placa añadiendo 10 µl de las diluciones de cada extracto y 100 µl del inóculo bacteriano, completando 110 µl por pocillo. Se evaluó cinco concentraciones diferentes de cada extracto y se incluyó cuatro controles: Nutritive Broth con metanol, Nutritive Broth con inóculo bacteriano, Nutritive Broth con inóculo bacteriano más penicilina, y Nutritive Broth solo, se realizó el experimento por triplicado.

La primera lectura se efectuó a las 0 horas usando un lector óptico de placas a 650 nm y se incubó las placas durante 18 horas, tras cumplir el tiempo establecido, se tomó una segunda lectura para obtener los datos de absorbancia y verificar el crecimiento o inhibición bacteriana. Para determinar el porcentaje de inhibición, considerando el efecto del color del extracto en la lectura inicial, se utilizó la ecuación 2 para establecer los valores finales de CMI usando el promedio del porcentaje de inhibición de las pruebas repetidas.

#### **Ecuación 2.**

Porcentaje de inhibición de los extractos *totales*

$$\% \text{ inhibición} = \left( 1 - \left( \frac{DO_{18h} - DO_{0h}}{DOC_{18h} - DOC_{0h}} \right) \right) \times 100$$

donde:

DO18h: densidad óptima del pozo de prueba a las 18 h después de la inoculación.

DO0h: densidad óptima del pozo de prueba a las 0 h después de la inoculación.

DOC18h: densidad óptima del pozo de control de crecimiento a las 18 h después de la inoculación.

DOC0h: densidad óptima del pozo de control de crecimiento a las 0 h después de la inoculación.

#### 4.4. Variables

##### 4.4.1. Variable/s independiente/s

- Tipo de planta
- Método de extracción
- Concentración de compuestos activos en la solución

##### 4.4.2. Variable/s dependiente/s

- **Actividad** **microbiana**  
Evaluada mediante la medición de la densidad óptica en placas de 96 pocillos utilizando un lector de microplacas a 650 nm (Balouiri et al., 2016).
- **Concentraciones que van a influir en una mayor o menor inhibición de *Staphylococcus aureus***, medidas en diferentes diluciones del extracto: 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml y 31.25 mg/ml, distribuidas en pocillos de la microplaca (Wiegand et al., 2008).

#### 4.5. Diseño experimental

Las variables serán evaluadas mediante un diseño experimental completamente al azar (DCA), que incluirá 6 tratamientos distribuidos en tres repeticiones, sumando un total de 18 unidades experimentales. Para el análisis estadístico ANOVA, se empleó el programa XLSTAT

(2023.2.0; 1411) con una prueba de rango múltiple de Tukey, con un nivel de significancia del 0.05%.

**Tabla 5.**

*Concentraciones de extractos vegetales de Baccharis latifolia y Basella obovata.*

<b>Especies</b>	<b>Concentraciones</b>	<b>Mg/ml</b>
<i>Baccharis latifolia y Basella obovata</i>	Concentración 1	500.00
	Concentración 2	250.00
	Concentración 3	125.00
	Concentración 4	62.50
	Concentración 5	31.25

*Nota:* En la presente tabla se muestra las concentraciones que se utilizaron para el trabajo de investigación.

**Tabla 6.**

*Esquema de tratamiento utilizados de cada especie vegetal.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>T.U.E</b>	<b>Rep / Trat</b>
T0	3	1	3
C1	3	1	3
C2	3	1	3
C3	3	1	3
C4	3	1	3
C5	3	1	3
<b>TOTAL</b>			<b>18</b>

*Nota:* En la siguiente tabla se presenta el esquema de tratamientos utilizados.

**Tabla 7.**

*Anova de cada especie vegetal: Baccharis latifolia y Basella obovata.*

<b>Variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>
<b>Total</b>	17
<b>Tratamientos</b>	6
<b>Error</b>	11

*Nota:* En la presente tabla se muestra el ANOVA del diseño experimental

## CAPÍTULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1. Obtención de extractos totales

Se obtuvo un extracto metanólico de cada una de las especies vegetales, *Baccharis latifolia* y *Basella obovata*, la tabla 8 muestra el peso del extracto total obtenido y el rendimiento expresado en porcentaje partiendo de 20 g de materia vegetal seca, aplicando la Ecuación 1 se determinó el porcentaje de rendimiento del extracto total

**Tabla 8.**

*Porcentaje de rendimiento de extracto*

<b>Especie vegetal</b>	<b>Materia vegetal deshidratada (g)</b>	<b>Extracto seco (g)</b>	<b>Porcentaje de rendimiento (%)</b>
<i>Baccharis latifolia</i> (Chilca)	20	10.53	52.65
<i>Basella obovata</i> (Juyanguilla)	20	7.08	35.4

#### 5.2. Caracterización morfológica

La caracterización morfológica mediante tinción Gram se realizó seleccionando aleatoriamente 10 muestras representativas de cultivos bacterianos que presentaron un crecimiento máximo de  $1.5 \times 10^6$  UFC de *Staphylococcus aureus*, siguiendo los protocolos establecidos en las Normas Técnicas Ecuatorianas (INEN, 2012); (NTE INEN 1529-5, 2006).

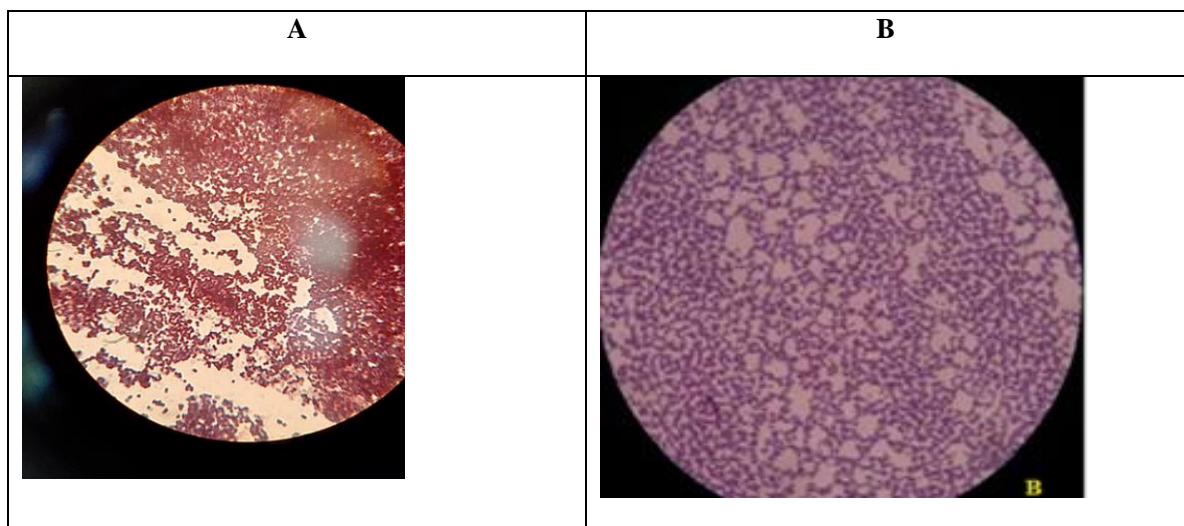
##### 5.2.1 Tinción Gram

Los resultados obtenidos en el laboratorio, como se evidencia en la Figura 9A, revelaron la presencia de bacterias Gram positivas identificadas como *S. aureus*, las cuales exhibieron la característica coloración violeta y una morfología de cocos esféricos. Complementariamente, la

Figura 9B muestra los cultivos obtenidos a partir de muestras de leche bovina, donde el *S. aureus* aislado e inoculado en agar nutritivo desarrolló colonias pequeñas de forma circular, caracterizadas por sus bordes lisos y blanquecinos, además de presentar una consistencia cremosa y convexa, manteniendo en ambos casos la distintiva coloración violeta típica de las bacterias Gram positivas.

**Figura 8.**

*Resultados tomados en microscopio prueba Tinción Gram*



*Nota.* La Figura 9A evidencia los resultados de la prueba de Tinción Gram, donde se observa la característica coloración violeta de las bacterias dispuestas en forma de cocos agrupados en racimos, mientras que la Figura 9B presenta una comparación de estos resultados con los previamente documentados por Leal Rojas & Amorocho Cruz (2017).

### 5.3. Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus*

En la tabla 9 y anexo 11, se muestra los resultados de la identificación molecular de aislados bacterianos mediante la técnica de secuenciación correspondiente al marcador 16s.

**Tabla 9.**

*Identificación molecular de aislados bacterianos*

Código IDgen	Muestra	Longitud	Calidad	Organismo	Fragmento	% de identidad	Nº Accesoión
B648	173-8	1336	96.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	99.8	CP035101.1

B649	190-2	1362	97	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	99.9	CP035101.1
B650	173-3	1304	96	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	100	CP038183.1
B651	190-7	1314	98.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	100	CP038183.1

*Nota.* Elaborado por laboratorio IDgen

En la muestra de leche con código B648 se identificó la presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus* con una calidad de 96.2, longitud de 1336, fragmento de 16s y 99.8% de identidad. Mientras que la segunda muestra (B649) mostró una calidad de 97 con longitud de 1362, se mostró la presencia de *Staphylococcus aureus* representando un 99.9% de identidad. La tercera muestra (B650) indicó una calidad de 96 con una longitud de 1304, se halló la presencia de *Staphylococcus aureus* representando un 100% de identidad. Finalmente, la cuarta muestra (B651) mostró presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus* con una calidad de 98.4, una longitud de 1314, fragmento de 16s y 100% de identidad.

#### 5.4 Porcentajes de inhibición de crecimiento bacteriano

En la tabla 10 se muestra el crecimiento bacteriano de la bacteria *Staphylococcus aureus* a las diferentes concentraciones de extracto total de *Baccharis latifolia*, en donde se puede observar que a menor concentración del extracto total el crecimiento bacteriano es mayor.

**Tabla 10.**

*Porcentaje de crecimiento bacteriano de la especie Baccharis latifolia*

Extracto	Concentraciones N°	Concentración (mg/ml)	Crecimiento bacteriano (%)			Promedio (%)
			Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	
<i>Baccharis latifolia</i>	T		4.02	3.49	5.53	4.35
	C1	500	22.25	22.68	20.71	21.88
	C2	250	33.72	34.46	36.22	34.80
	C3	125	52.14	47.59	51.89	50.54
	C4	62.5	57.45	61.53	60.57	59.85
	C5	31.25	63.6	64.22	69.26	65.69

En la Tabla 11 se presenta el porcentaje de inhibición de la bacteria *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de extracto total de *Baccharis latifolia*. Se observa que a

una concentración de 500 mg/mL se alcanza un porcentaje de inhibición del 78.12%. A medida que la concentración del extracto disminuye, el porcentaje de inhibición también se reduce, a la concentración de extracto total más baja, 31.25 mg/mL el porcentaje de inhibición es de 34.31%.

**Tabla 11.**

*Porcentaje de inhibición de bacteria de la especie Baccharis larifolia*

Extracto	Concentraciones N°	Concentración (mg/ml)	Inhibición bacteriana (%)			Promedio (%)
			Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	
<i>Baccharis latifolia</i>	T		95.98	96.51	94.47	95.65 ± 1.06
	C1	500	77.75	77.32	79.29	78.12 ± 1.04 <sup>a</sup>
	C2	250	66.28	65.54	63.78	65.20 ± 1.28 <sup>b</sup>
	C3	125	47.86	52.41	48.11	49.46 ± 2.56 <sup>c</sup>
	C4	62.5	42.55	38.47	39.43	40.15 ± 2.13 <sup>d</sup>
	C5	31.25	36.40	35.78	30.74	34.31 ± 3.10 <sup>e</sup>

En la tabla 12 se muestra el crecimiento bacteriano de la bacteria *Staphylococcus aureus* a las diferentes concentraciones de extracto total de *Basella obovata*, en donde se puede observar que a menor concentración del extracto total el crecimiento bacteriano es mayor.

**Tabla 12.**

*Porcentaje de crecimiento bacteriano de la especie Basella obovata*

Extracto	Concentraciones N°	Concentración (mg/ml)	Crecimiento bacteriano (%)			Promedio (%)
			Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	
<i>Basella obovata</i>	T		4.02	3.49	5.53	4.35
	C1	500	30.19	33.47	29.39	31.02
	C2	250	36.68	38.51	40.92	38.70
	C3	125	55.23	51.70	53.44	53.46
	C4	62.5	61.72	61.90	61.66	61.76
	C5	31.25	66.57	64.10	71.11	67.26

En la Tabla 13 se presenta el porcentaje de inhibición de la bacteria *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de extracto total de *Basella obovata*. Se observa que a una concentración de 500 mg/mL se alcanza un porcentaje de inhibición del 68.98%. A medida que

la concentración del extracto disminuye, el porcentaje de inhibición también se reduce, a la concentración de extracto total más baja, 31.25 mg/mL el porcentaje de inhibición es de 32.74%.

**Tabla 13.**

*Porcentaje de inhibición de bacteria de la especie Basella obovata*

Extracto	Concentraciones N°	Concentración (mg/ml)	Inhibición bacteriana (%)			Promedio (%)
			Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	
<i>Basella obovata</i>	T		95.98	96.51	94.47	95.65 ± 1.06
	C1	500	69.81	66.53	70.61	68.98 ± 2.16 <sup>a</sup>
	C2	250	63.32	61.49	59.08	61.30 ± 2.13 <sup>b</sup>
	C3	125	44.77	48.30	46.56	46.54 ± 1.77 <sup>c</sup>
	C4	62.5	38.28	38.10	38.34	38.24 ± 0.12 <sup>d</sup>
	C5	31.25	33.43	35.90	28.89	32.74 ± 3.56 <sup>e</sup>

## 5.5 Prueba de normalidad y varianza

**Tabla 14.**

*Prueba de normalidad y varianza*

Variables	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Shapiro_test	P- valor	Levene test	
						F (valor crítico)	P-valor (bilateral)
<i>Actividad microbiana (Baccharis latifolia)</i>	18	39.52	22.26	0.97	0.84	0.258	0.927
<i>Inhibicion (Baccharis latifolia)</i>	18	60.48	22.26	0.97	0.84	0.258	0.927
<i>Actividad microbiana (Basella Obovata)</i>	18	42.76	21.92	0.96	0.70	0.918	0.502
<i>Inhibicion (Basella Obovata)</i>	18	57.24	21.92	0.96	0.70	0.918	0.502

Luego de realizar la prueba de normalidad por medio del test de Shapiro-Wilk, los resultados indican que los datos siguen una distribución normal y presentan similitud, pues el

valor de la probabilidad es superior a  $p > 0.05$ . De la misma forma, el test de homogeneidad de Levene, determina que no existen diferencias estadísticamente significativas en las varianzas de los grupos.

### 5.6. Análisis de varianza de la variable capacidad microbiana in vitro de *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* frente a mastitis proveniente de bovinos infectados.

**Tabla 15.**

Análisis de varianza de la variable crecimiento microbiano (%) del extracto total de la especie *Baccharis latifolia*

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>Pr &gt; F</i>	<i>p-values signification codes</i>
<i>Modelo</i>	5.000	8371.212	1674.242	408.811	<b>&lt;0,0001</b>	***
<i>Total corregido</i>	17.000	8420.357				
<i>Tratamiento</i>	5.000	8371.212	1674.242	408.811	<b>&lt;0,0001</b>	***
<i>Error</i>	12.000	49.145	4.095			

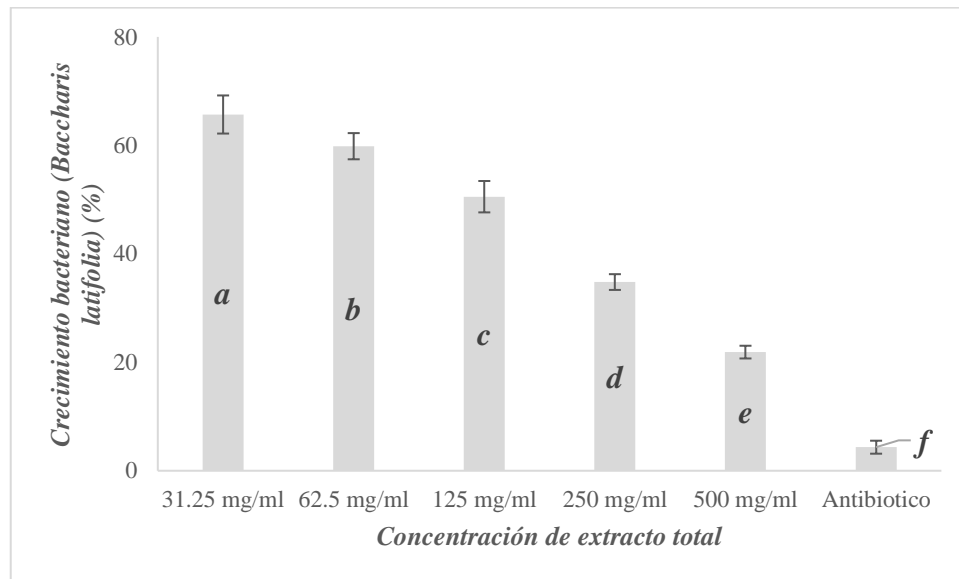
*Promedio = 39.52 %*

*CV = 5.12 %*

El análisis de varianza para la variable crecimiento microbiano (%) (Tabla 15), muestra que existieron diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio. El promedio del rendimiento total para esta variable es de 39.52%. El coeficiente de variación para esta variable es de 5.12% lo que demuestra un poco dispersión de datos en comparación al promedio.

**Figura 9.**

Representación gráfica de la prueba Tukey de crecimiento bacteriano del extracto total de la especie *Baccharis latifolia*



La prueba de Tukey al 5% para la medición del crecimiento bacteriano con las distintas concentraciones del extracto de *Baccharis latifolia* como se observa en la figura 9, determinó seis niveles de significancia. Estos niveles corresponden a las diferentes concentraciones del extracto: 500 mg/ml (tratamiento 1), 250 mg/ml (tratamiento 2), 125 mg/ml (tratamiento 3), 62.5 mg/ml (tratamiento 4), 31.25 mg/ml (tratamiento 5) y Antibiótico (tratamiento 6).

El resultado mostró un fuerte efecto inhibitorio a 500 mg/ml, con un crecimiento bacteriano de solo 20.71-22.68%. Este hallazgo es comparable con lo reportado por Villanueva & Goly, (2020), quienes encontraron que extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales andinas lograron reducir el crecimiento de *S. aureus* a 25-30% a concentraciones similares, aunque nuestro extracto mostró una eficacia ligeramente superior.

La relación dosis-dependiente observada en nuestro estudio, donde el crecimiento bacteriano aumentó progresivamente de 22% (500 mg/ml) a 69% (31.25 mg/ml), sigue un patrón similar al documentado por Calle et al., (2017), el cual, en su investigación con extractos de diferentes especies de Asteraceae (familia a la que pertenece *B. latifolia*), observaron un

incremento gradual en el crecimiento bacteriano del 28% a 75% al reducir la concentración del extracto.

**Tabla 16.**

*ANOVA de inhibición del extracto total de la especie Baccharis latifolia (%).*

<b>Inhibición bacteriana (<i>Baccharis latifolia</i>)</b>						
Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	5.000	8371.212	1674.242	408.811	<b>&lt;0,0001</b>	***
Total corregido	17.000	8420.357				
Tratamiento	5.000	8371.212	1674.242	408.811	<b>&lt;0,0001</b>	***
Error	12.000	49.145	4.095			

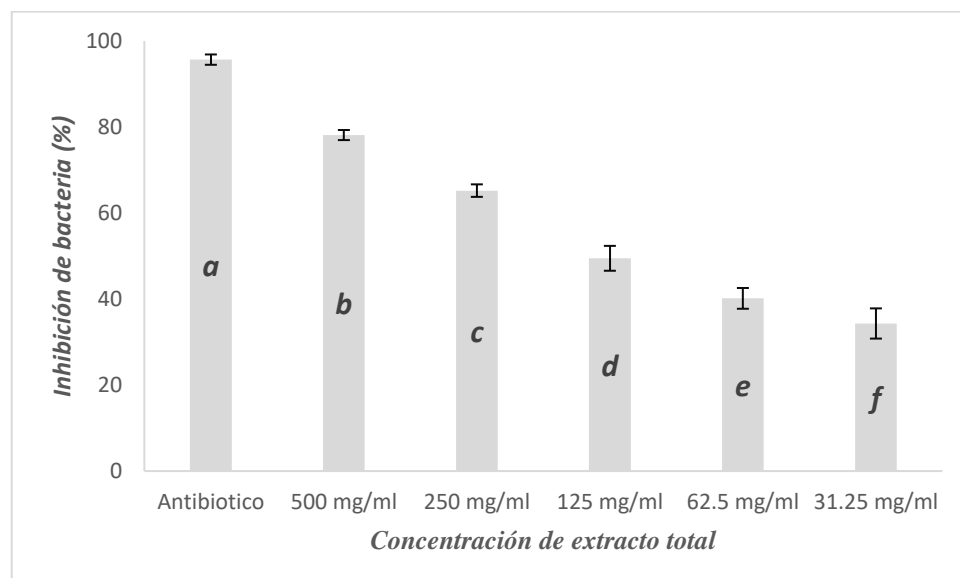
*Promedio = 60.48 %*

*CV = 3.35 %*

El análisis de varianza para la variable inhibición del extracto total (%) (Tabla 16), muestra que existieron diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio. El promedio del rendimiento total para esta variable es de 60.48%. El coeficiente de variación para esta variable es de 3.35% lo que demuestra un poco dispersión de datos en comparación al promedio.

**Figura 10.**

*Representación gráfica de la prueba tukey de inhibición bacteriana del extracto total de la especie Baccharis latifolia.*



La prueba de Tukey al 5% para la medición de inhibición bacteriana con las distintas concentraciones del extracto de *Baccharis latifolia* como se observa en la figura 10, determinó seis niveles de significancia. Estos niveles corresponden a las diferentes concentraciones del extracto: 500 mg/ml (tratamiento 1), 250 mg/ml (tratamiento 2), 125 mg/ml (tratamiento 3), 62.5 mg/ml (tratamiento 4), 31.25 mg/ml (tratamiento 5) y Antibiótico (tratamiento 6).

Los resultados obtenidos en la figura 10, presentan los resultados de inhibición del extracto total de la especie *Baccharis latifolia*, esta posee una actividad antibacteriana significativa contra *S. aureus*. La actividad antimicrobiana mostró una clara relación dosis-dependiente, donde la máxima concentración evaluada (500 mg/ml) alcanzó porcentajes de inhibición superiores al 77%, mientras que incluso la concentración más baja (31.25 mg/ml) mantuvo una actividad inhibitoria notable superior al 30%.

Rojas et al., (2007), reportaron que extractos hidroalcohólicos de *B. latifolia* mostraron actividad inhibitoria contra diferentes cepas bacterianas incluyendo *S. aureus*, con porcentajes de inhibición entre 65-70%, valores ligeramente inferiores a los encontrados en nuestro estudio. Esta diferencia podría atribuirse a variaciones en la metodología de extracción o en la concentración de etanol utilizada en la preparación de la tintura.

En el contexto específico de mastitis bovina, Valarezo et al., (2013), evaluaron extractos hidroalcohólicos de diferentes plantas medicinales contra *S. aureus* aislado de casos clínicos, encontrando que las preparaciones que contenían compuestos fenólicos y flavonoides mostraron los mayores porcentajes de inhibición (60-75%). Aunque en nuestro estudio no se realizó análisis fitoquímico, la literatura reporta que *B. latifolia* es rica en estos compuestos, lo que podría explicar la alta actividad antimicrobiana observada.

La relación dosis-dependiente encontrada en nuestro estudio, donde la actividad inhibitoria disminuyó proporcionalmente con la concentración (de 77-79% a 500 mg/ml hasta 30-36% a 31.25 mg/ml), es consistente con lo reportado por Lambrecht Goncalves et al., (2013), quienes observaron un patrón similar al evaluar el compuesto activo de plantas medicinales contra patógenos causantes de mastitis.

Además, la actividad antimicrobiana observada incluso a bajas concentraciones (31.25 mg/ml) sugiere que el compuesto de *B. latifolia* podría ser una alternativa prometedora como tratamiento complementario en casos de mastitis bovina, especialmente considerando la creciente preocupación por la resistencia a antibióticos convencionales.

**Tabla 17.**

ANOVA de actividad microbiana del extracto total de la especie *Basella obovata* (%)

Crecimiento bacteriano ( <i>Basella obovata</i> )						
Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	5.000	8116.846	1623.369	373.329	<0,0001	***
Total corregido	17.000	8169.026				
Tratamiento	5.000	8116.846	1623.369	373.329	<0,0001	***
Error	12.000	52.180	4.348			

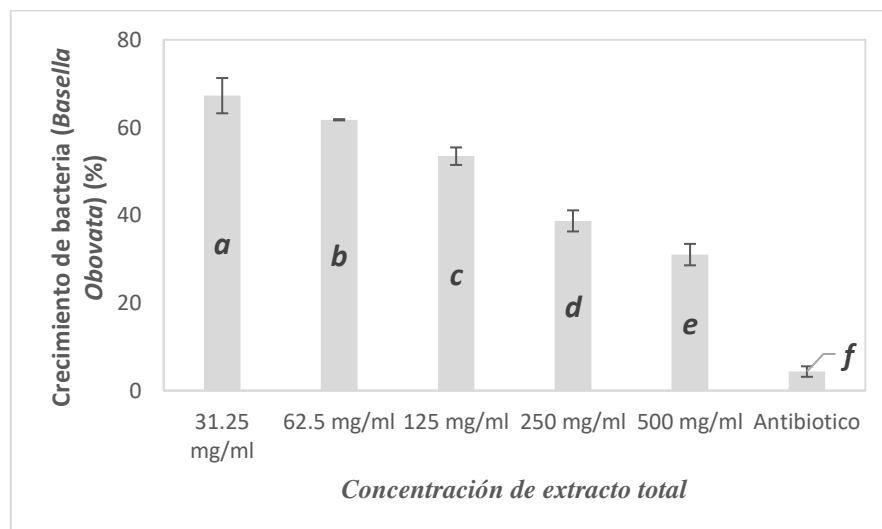
Promedio = 42.76 %

CV = 4.88 %

El análisis de varianza para la variable actividad microbiana (%) (Tabla 17), muestra que existieron diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio. El promedio del rendimiento total para esta variable es de 42.76%. El coeficiente de variación para esta variable es de 4.88% lo que demuestra un poco dispersión de datos en comparación al promedio.

**Figura 11.**

Representación gráfica de la prueba Tukey de crecimiento bacteriano del extracto total de la especie *Basella obovata*



La prueba de Tukey al 5% para la medición del crecimiento bacteriano con las distintas concentraciones del extracto de *Basella obovata* como se observa en la figura 11, determinó seis niveles de significancia. Estos niveles corresponden a las diferentes concentraciones del extracto: 500 mg/ml (tratamiento 1), 250 mg/ml (tratamiento 2), 125 mg/ml (tratamiento 3), 62.5 mg/ml (tratamiento 4) 31.25 mg/ml (tratamiento 5) y Antibiótico (tratamiento 6).

En la figura 11, se presentan los resultados del porcentaje de actividad microbiana del extracto total de la especie *Basella obovata* frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*, donde el primer tratamiento, C1 (500 mg/ml) se observó el menor porcentaje de crecimiento bacteriano, oscilando entre 29.39% y 33.47%. Este resultado es comparable con lo reportado por Djabayan et al., (2022), quienes encontraron niveles similares de supresión del crecimiento (30-35%) utilizando extractos vegetales a concentraciones parecidas e incrementos semejantes en el crecimiento bacteriano al reducir las concentraciones de extractos vegetales antimicrobianos.

Es particularmente relevante notar que incluso a la concentración más baja evaluada (31.25 mg/ml), el extracto mantuvo cierta capacidad para modular el crecimiento bacteriano, manteniendo el crecimiento por debajo del 72%. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de Sunitha et al. (2015), quien reportó que extractos de plantas medicinales pueden mantener efectos moduladores del crecimiento bacteriano incluso a bajas concentraciones.

**Tabla 18.**

*ANOVA de inhibición del extracto total de la especie Basella obovata (%)*

Inhibición bacteriana						
Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	5.000	8116.846	1623.369	373.329	< <b>0,0001</b>	***
Total corregido	17.000	8169.026				
Tratamiento	5.000	8116.846	1623.369	373.329	< <b>0,0001</b>	***
Error	12.000	52.180	4.348			

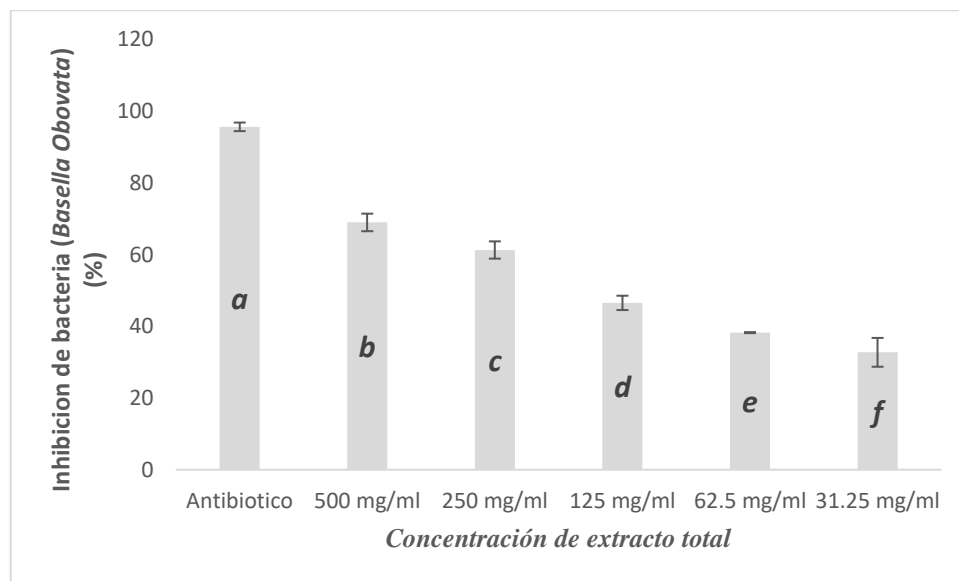
*Promedio = 57.24 %*

*CV = 3.64 %*

El análisis de varianza para la variable inhibición del extracto total (%) (Tabla 18), muestra que existieron diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio. El promedio del rendimiento total para esta variable es de 57.24%. El coeficiente de variación para esta variable es de 3.64% lo que demuestra un poco dispersión de datos en comparación al promedio.

**Figura 12.**

Representación gráfica de la prueba Tukey de inhibición bacteriana del extracto total de la especie *Basella obovata*



La prueba de Tukey al 5% para la medición de inhibición bacteriana con las distintas concentraciones del extracto de *Basella obovata* como se observa en la figura 12, determinó seis niveles de significancia. Estos niveles corresponden a las diferentes concentraciones del extracto: 500 mg/ml (tratamiento 1), 250 mg/ml (tratamiento 2), 125 mg/ml (tratamiento 3), 62.5 mg/ml (tratamiento 4), 31.25 mg/ml (tratamiento 5) y Antibiótico (tratamiento 6).

En la figura 12 se presentan los resultados del porcentaje de inhibición del extracto total de la especie *Basella obovata* frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*, indicando tener una potente capacidad antimicrobiana, particularmente a altas concentraciones, por tal motivo que los resultados muestran un patrón de inhibición consistente y dosis-dependiente.

A la máxima concentración evaluada (500 mg/ml), el compuesto demostró una notable actividad inhibitoria, alcanzando porcentajes entre 66.53% y 70.61%. Estos valores son comparables con lo reportado por Martínez et al., (2021), quienes encontraron niveles de inhibición de 65-70% utilizando extractos de plantas medicinales contra cepas de *S. aureus* asociadas a mastitis bovina.

Este patrón de inhibición escalonada coincide con estudios previos como el de Rubio Fontanills et al. (2018) quienes documentaron perfiles similares de reducción en la actividad inhibitoria al disminuir la concentración de extractos vegetales.

La capacidad inhibitoria observada podría atribuirse a la presencia de diversos compuestos bioactivos en *B. obovata*. Aunque en este estudio no se realizó análisis fitoquímico, la literatura reporta que especies del género *Basella* contienen metabolitos secundarios con reconocida actividad antimicrobiana, incluyendo flavonoides, taninos y saponinas (Orozco & Gallo, 2020).

Es particularmente significativo que incluso a concentraciones relativamente bajas, el compuesto mantuvo cierta actividad inhibitoria, lo cual sugiere una potente actividad antimicrobiana intrínseca de los compuestos presentes en *B. obovata*.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

- El porcentaje de rendimiento de los extractos totales fue de 52.65% para la especie *Baccharis latifolia*, mientras que para la especie *Basella obovata* de 35.4%
- El porcentaje de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus* frente a la concentración de 500 mg/mL extracto total de *Baccharis latifolia* fue de 78.12 %, mientras que para el extracto total de *Basella obovata* mostró un porcentaje de inhibición del 68.98 %.
- El extracto total de *Baccharis latifolia* mostró inhibición del crecimiento bacteriano en diferentes concentraciones. A 500 mg/mL alcanzó un 78.12% de inhibición, a 250 mg/mL un 65.20%, a 125 mg/mL un 49.46%, a 62.5 mg/mL un 40.15% y a 31.25 mg/mL un 34.31%. Estos resultados evidencian una disminución progresiva de la actividad inhibidora a medida que se reduce la concentración del extracto.
- El extracto total de *Basella obovata* mostró inhibición del crecimiento bacteriano en diferentes concentraciones. A 500 mg/mL alcanzó un 68.98% de inhibición, a 250 mg/mL un 61.30%, a 125 mg/mL un 46.54%, a 62.5 mg/mL un 38.24% y a 31.25 mg/mL un 32.74%. Estos resultados evidencian una disminución progresiva de la actividad inhibidora a medida que se reduce la concentración del extracto.
- Los extractos totales de las especies vegetales *Baccharis latifolia* y *Basella obovata* mostraron inhibición del crecimiento bacteriano en las cinco concentraciones estudiadas. Esto evidencia su potencial como fuente de compuestos activos, lo que podría contribuir al descubrimiento de antimicrobianos de origen natural. Tales compuestos pueden resultar útiles en los ámbitos ganaderos, ofreciendo una excelente alternativa para reducir el uso de antibióticos comerciales.

## CAPÍTULO VII

### RECOMENDACIONES

- Con base en los resultados obtenidos, se sugiere considerar el uso de *Baccharis latifolia* para el tratamiento de *Staphylococcus aureus*, dado que esta planta mostró una mayor efectividad antimicrobiana.
- Se recomienda continuar con estudios enfocados en las especies vegetales analizadas, orientados al aislamiento de compuestos activos puros para evaluarlos frente a *Staphylococcus aureus*.
- Se considera pertinente investigar la actividad de los extractos totales obtenidos en esta investigación contra otras cepas clínicas de *S. aureus* y diversas bacterias patógenas responsables de la mastitis bovina, con el objetivo de determinar su espectro de acción.

## CAPÍTULO VIII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera-Becerra, A. M., Urbano-Cáceres, E. X., & Jaimes-Bernal, C. P. (2014). Bacterias patógenas en leche cruda: problema de salud pública e inocuidad alimentaria. *Ciencia y Agricultura, 11*(2). <https://doi.org/10.19053/01228420.3860>
- Alarcón O., A. E., & Quicazán, M. C. (2016). Evaluación del proceso fermentativo de polen utilizando microorganismos aislados de productos apícolas del altiplano cundiboyacense. *Agronomía Colombiana, 34*(1Supl.).
- Amorim, A., Generalis, D. S.-S., & 2021, undefined. (2021). MASTITE BOVINA: reflexões sobre controle e prevenção. *scientiageneralis.com.br*.
- Andresen S., H. (2013). MASTITIS: PREVENCIÓN Y CONTROL. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 12*(2). <https://doi.org/10.15381/rivep.v12i2.1634>
- Arivudainambi, U. S. E., Anand, T. D., Shanmugaiyah, V., Karunakaran, C., & Rajendran, A. (2011). Novel bioactive metabolites producing endophytic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology, 61*(3). <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00780.x>
- Bayas-Morejón, F., Ramón, R., Núñez, D., & Mite-Cárdenas, G. (2020). Antibacterial and antioxidant effect of natural extracts from *Baccharis latifolia* (Chilca). *Caspian Journal of Environmental Sciences, 18*(5). <https://doi.org/10.22124/CJES.2020.4476>
- Bedolla, C. (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina ( Methods of detection of the bovine mastitis ). *Redvet, 3*(9).
- Bedolla, C. C. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504, IX*(4).
- Bolaños, F., Fernando, O., Cabrera, P., & Jaiver, J. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico (Bovine Mastitis: general and diagnostic methods). *Revista Electrónica de Veterinaria (REDVET), 3*(11).
- Bonifaz, N., & Colango, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba decaliforniamastitis test con identificación del agente etiológico, en paquiestancia, Ecuador. *La Granja, 24*(2). <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.03>
- Brousett Minaya, M., Torres Jiménez, A., Chambi Rodríguez, A., Mamani Villalba, B., & Gutiérrez Samata, H. (2017). Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche cruda en las cuencas ganaderas de la región Puno –Perú. *Revista de Investigación Universitaria, 4*(2). <https://doi.org/10.17162/riu.v4i2.683>

- Calle, A., San Martín, Á., Melgarejo, M., Flores, Y., & Almanza, G. (2017). Evaluation of flavonoid contents and antibacterial activity of five bolivian Baccharis species. *Bolivian Journal of Chemistry*, 34(4).
- Campoprese, A., & Tizianel, G. (2001). Increased incidence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) outside the hospital: An emerging clinical problem. *Rivista di Medicina di Laboratorio*, 2(4).
- Cervantes, P., Portela, S., Hernández, A., Domínguez, B., Gómez-Boucrin, F., Villagómez-Cortes, J. A. S., & Barrientos, M. (2017). Aislamiento de patógenos causantes de mastitis subclínica en vacas del tropico húmedo en Veracruz, México. *Actas Iberoamericanas en Conservación Animal*, 10.
- Chang H, L., Garcia Lopez, A., Rosabal C, Y., Espinosa R, A., Ramos E, M., & Remon R, H. (2013). Caracterización fitoquímica y la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de hojas y tallos de Solanum nigrum L. que crece en Cuba. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 44(4).
- Corbellini, C. N. (2002). La mastitis bovina y su impacto sobre la calidad de la leche. *Seminario Internacional de Competitividad en Leche y Carne (3: Argentina). Memorias. Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*.
- Cosme, I. (2008). El uso de las plantas medicinales. *Revista intercultural*.
- Deluyker, H. A., Chester, S. T., & Van Oye, S. N. (1999). A multilocation clinical trial in lactating dairy cows affected with clinical mastitis to compare the efficacy of treatment with intramammary infusions of a lincomycin/neomycin combination with an ampicillin/cloxacillin combination. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 22(4). <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1999.00205.x>
- Díaz Pérez, L., Suárez Pérez, Y., Rubio Ortega, A., & del Carmen Travieso Novelles, M. (2021). Actualidad y perspectivas de los antimicrobianos naturales. *Revista Cubana de Farmacia*, 54(3).
- Djabayan-Djibeyan, P., González-Ramírez, L. C., Ustariz, M. E. L., & Valarezo-García, C. (2022). Aislamiento y actividad biológica de lectinas obtenidas de semillas de frutas, granos y tubérculos de plantas andinas. *Información tecnológica*, 33(2). <https://doi.org/10.4067/s0718-07642022000200021>
- Echeverri, J., Gómez Zapata, A., & Parra Suescún, J. (2009). Control del crecimiento In Vitro sobre cepas Gram positivas y Gram negativas productoras de mastitis. *Revista Lasallista de Investigación*, 6(1).
- Eriksson, R. (2007). A synopsis of Basellaceae. *Kew Bulletin*, 62(2).
- (Espínola, B. , C. M. & D. M. 2016). (2016). Mastitis. Puesta al día. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 114(6). <https://doi.org/10.5546/aap.2016.576>
- Fetrow, J. (2013). Aspectos Económicos de la Mastitis. *Entorno Ganadero*, 9(57).
- Fonnegra-Gómez, R., & Villa-Londoño, J. (2017). Plantas medicinales usadas en algunas veredas de municipios del altiplano del Oriente antioqueño, Colombia. *Actualidades Biológicas*, 33(95). <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.14320>

- Gonzalez Angela Andrea. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas Angela Andrea Gonzalez villa universidad nacional de Colombia sede manizales departamento de ingeniería química. *repositorio.unal.edu.co*.
- González, R., & Vidal del Río, M. (2021). Mastitis bovina y calidad de la leche, un desafío para la salud humana. *Revista Universidad y Sociedad, 13*(S1).
- Guízar, J. I., & Bedolla, J. L. (2015). Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. *Revista Electrónica Veterinaria, Vol. IX, N.*
- Hillerton, J. E., & Berry, E. A. (2003). The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. En *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* (Vol. 19, Número 1). [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(02\)00069-5](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(02)00069-5)
- Hoe, F. G. H., & Ruegg, P. L. (2006). Opinions and practices of Wisconsin dairy producers about biosecurity and animal well-being. *Journal of Dairy Science, 89*(6). [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72301-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72301-3)
- Ibarra Rosero, E. M., Ormaza Montenegro, D. J., & Rueda Abad, R. J. (2022). Mastitis bovina en el cantón Montufar – Carchi. Prevalencia, agente causal y factores de riesgo. *AXIOMA, 1*(26). <https://doi.org/10.26621/ra.v1i26.735>
- INEN. (2012). Norma Técnica Ecuatoriana Nte Inen 9:2012 Leche Cruda. Requisitos. *Leche Cruda. Requisitos*.
- Jiménez, K. B., Jiménez, L. C., & Andrés, M. A. (2022). The impact of the antibiotic resistance on the sustainable development. *Poblacion y Salud en Mesoamerica, 19*(2). <https://doi.org/10.15517/psm.v0i19.47590>
- Lambrecht Gonçalves, C., Almeida Schiavon, D. B., Voigt Mota, F., Faccin, A., Noremberg Schubert, R., Schiedeck, G., & Dam Schuch, L. F. (2013). Actividad antibacteriana de los extractos de *Cymbopogon citratus*, *Elionurus* sp. y *Tagetes minuta* contra bacterias que causan mastitis. *Revista Cubana de Plantas Medicinales, 18*(3).
- Leal Rojas, B., & Amorocho Cruz, C. M. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de bacterias lácticas aisladas de productos lácteos comerciales frente a *Escherichia coli*. *Ingeniería y Región, 18*. <https://doi.org/10.25054/22161325.1206>
- Liu, C., Bayer, A., Cosgrove, S. E., Daum, R. S., Fridkin, S. K., Gorwitz, R. J., Kaplan, S. L., Karchmer, A. W., Levine, D. P., Murray, B. E., Rybak, M. J., Talan, D. A., & Chambers, H. F. (2011). Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clinical Infectious Diseases, 52*(3). <https://doi.org/10.1093/cid/ciq146>
- López Martínez, C. (2014). Distribución geográfica y ecológica de dos especies de orégano (*Poliomintha Longiflora* Gray. y *Lippia Graveolens* H.B.K) en el estado de San Luis Potosí, México. En *Universidad Autónoma de San Luis Potosí*.

- Martínez, A., Manrique-Moreno, M., Klaiss-Luna, M. C., Stashenko, E., Zafra, G., & Ortiz, C. (2021). Effect of essential oils on growth inhibition, biofilm formation and membrane integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*, *10*(12). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121474>
- Máttar, S., Calderón, A., Sotelo, D., Sierra, M., & Tordecilla, G. (2009). Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública. *Revista de Salud Pública*, *11*(4). <https://doi.org/10.1590/s0124-00642009000400009>
- McDougall, S., Agnew, K. E., Cursons, R., Hou, X. X., & Compton, C. R. W. (2007). Parenteral treatment of clinical mastitis with tylosin base or penethamate hydriodide in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *90*(2). [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71562-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71562-X)
- Mera Andrade, R., Muñoz Espinoza, M., Artieda Rojas, J. R., Ortíz Tirado, P., González Salas, R., & Vega Falcón, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche -. *Revista Electronica de Veterinaria*, *18*(11).
- Molineri, A. I., WELSCHEN, N. M., SUÁREZ-ARCHILLA, G., CAMUSSONE, C., SMULOVITZ, A., CICOTELLO, J., MIOTTI, C., ZBRUN, M. V., & SIGNORINI, M. L. (2023). Principales problemas sanitarios en bovinos identificados por los Médicos Veterinarios que se desempeñan en rodeos lecheros. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*. <https://doi.org/10.14409/favecv.2023.22.e0017>
- NTE INEN 1529-5. (2006). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, *5*.
- Organización Mundial de la Salud. Ginebra-Suiza: Publicaciones UICN, 1986 [Marzo de 2012]. <http://www.who.int/es/>; pp. 1-34. Disponible en: [http://www.urosario.edu.co/urosario\\_files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf](http://www.urosario.edu.co/urosario_files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf)
- Ormea, V., & Gotuzzo, E. (2018). EL ENFOQUE DE UNA «SALUD» EN PERÚ THE «ONE HEALTH» APPROACH IN PERÚ. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, *35*(4).
- Osejo Rodríguez, M. del S., Maya Cancino, A., & Brenes Meseguer, N. (2020). Actualización de la clasificación y manejo de mastitis. *Revista Medica Sinergia*, *5*(6). <https://doi.org/10.31434/rms.v5i6.510>
- Pedrozo, P. R., Torres, Ñ. M., López, R. D., Alonso, V. N., & Valiente, O. L. (2021). Prevalencia de microorganismos y perfil de resistencia antimicrobiana en bovinos lecheros de Paraguay. *Revista Veterinaria*, *32*(1). <https://doi.org/10.30972/vet.3215629>
- Pérez Giráldez, M. J., Vázquez Corpas, M., & Castillo Quesada, E. (2018). Uso de antibióticos en ganadería y su influencia en la antibiorresistencia en humanos. *Ambient*, *18*(2).
- Prada, J., Ordúz-Díaz, L. L., & Coy-Barrera, E. (2016). *Baccharis latifolia*: una Asteraceae poco valorada con potencialidad química y biológica en el neotrópico. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *12*(1). <https://doi.org/10.18359/rfcb.1858>

- Quiñones Pérez, D. (2017). Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque “Una salud”. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 69(3).
- Quispe, R., Peña, G., & Andía, V. (2021). Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* aislados de leche de vacas con mastitis. *Revista Veterinaria*, 32(1).  
<https://doi.org/10.30972/vet.3215640>
- Regasa, S., Mengistu, S., & Abraha, A. (2019). Milk Safety Assessment, Isolation, and Antimicrobial Susceptibility Profile of *Staphylococcus aureus* in Selected Dairy Farms of Mukaturi and Sululta Town, Oromia Region, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3063185>
- Rodríguez, Y., Vera, L., Moreno, K., Montilla, J., Guevara, C., & González, R. (2014). Artículo de investigación sobre el uso del plantago-mayor como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales. En *Revista Venezolana de Investigación Odontológica* (Vol. 2, Número 2).
- Rojas, J., Velasco, J., Rojas, L. B., Díaz, T., Carmona, J., & Morales, A. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Baccharis latifolia* pers. and *B. prunifolia* H. B. & K. (asteraceae). *Natural Product Communications*, 2(12). <https://doi.org/10.1177/1934578x0700201211>
- Rubio Fontanills, Y., Valdivia Ávila, A. L., Camacho Campos, C., Matos-Trujillo, M., Sosa del Castillo, M., & Pérez Hernández, Y. (2018). Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de extractos de hoja de *Hamelia patens* Jacq. *Biotecnología Vegetal*, 18(1).
- Santivañez Ballón, C. S., Gómez Quispe, O. E., Cárdenas Villanueva, L. Á., Escobedo Enríquez, M. H., Bustinza Cardenas, R. H., & Peña Sánchez, J. (2014). Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos\*. *Veterinaria y Zootecnia*, 7(2). <https://doi.org/10.17151/vetzo.2013.7.2.7>
- Scaramelli, Aura .González, Z. (2005). Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. *Manual de Ganadería Doble Propósito*.
- Sequeda-Castañeda, L. G., Célis, C., & Luengas-Caicedo, P. E. (2015). Phytochemical and therapeutic use of *Baccharis latifolia*(Ruiz & Pav.) pers. (Asteraceae). *Pharmacologyonline*, 2.
- Silva, F. (2021). Caracterización de los agentes bacterianos causales de Mastitis Bovina. *Universidad Técnica de Babahoyo*.
- Sunitha, S., Rao, A. N., & Abraham, L. S. (2015). Antibacterial activity of cobalt doped zinc oxide/ carbon nano composite and kinetics for the photocatalytic degradation of acid yellow 110. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 9(Special Edition 1).
- Takano, J. (2010). Mastitis crónica granulomatosa idiopática: *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(4).
- Tang-Ploog, J. (2019). Mastitis en ganado lechero: Etiología, tipos y tratamientos modernos. *Agroveter Market Animal Health*.

- Tena Meza, M., Ávila Palafox, R., & Bauchet, S. (2012). Los mercados de Guadalajara, México. Ejemplo del consumo de plantas silvestres. *Stadium: Revista de humanidades*, 2.
- Valarezo, E., Rosillo, M., Cartuche, L., Malagón, O., Meneses, M., & Morocho, V. (2013). Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) from Loja, Ecuador. *Journal of Essential Oil Research*, 25(3).  
<https://doi.org/10.1080/10412905.2013.775679>
- Verde-Star, M. J., García-González, S., & Rivas-Morales, C. (2016). Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. En *Investigación en plantas de importancia médica*. <https://doi.org/10.3926/oms.335>

## ANEXOS

### **Anexo 1.** *Recolección de plantas*



### **Anexo 2.** *Deshidratación de plantas*



**Anexo 3.**

*Pulverización de muestra en triturador*



**Anexo 4.**

*Muestras aplicadas metanol*



**Anexo 5.**  
*Muestras en agitador.*



**Anexo 6.**  
*Filtración de compuesto*



**Anexo 7.**

*Evaporación de compuesto en rotavapor*



**Anexo 8.**

*Extracto sólido en envase de vidrio*



**Anexo 9.**  
*Pesaje 500 mg de extracto*



**Anexo 10.**  
*Placa de 96 pocillos con concentraciones y testigos*



**Anexo 11.**  
Identificación molecular de bacteria



Av. De los Granados E14-285 y Eloy Alfaro  
Teléfono: 0998982450  
e-mail: [isigen.ecuador@gmail.com](mailto:isigen.ecuador@gmail.com)  
R.U.C. 1713443479001

**Informe de Resultados**

**Nombre del Proyecto:** Identificación molecular de bacterias – Menie Mora  
**Informe No.:** A-412  
**Técnico Responsable:** Sofia Garrido, Ing.  
**Fecha:** 07/08/2023

**Resumen de Resultados**

Código IDgen	Muestra	Longitud	Calidad	Organismo	Fragmento	% de identidad	Nº Accesoión
B648	173-8	1336	96.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	99.8	<a href="#">CP035101.1</a>
B649	190-2	1362	97	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	99.9	<a href="#">CP035101.1</a>
B650	173-3	1304	96	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	100	<a href="#">CP038183.1</a>
B651	190-7	1314	98.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	100	<a href="#">CP038183.1</a>

**Nota:** Los resultados con un porcentaje de identidad menor al 97% no permiten asegurar que el aislado corresponde a esa especie. Es posible que se trate de una especie no descrita o una especie para la cual no hay referencias en la base de datos.

Firma autorizada

**Anexo 12.**  
Tratamientos y repeticiones de *Baccharis latifolia* y *Basella obovata*

	Tratamiento	Repetición	% Crecimiento bacteriano ( <i>Baccharis latifolia</i> )	% Inhibición bacteriana ( <i>Baccharis latifolia</i> )	% Crecimiento bacteriano ( <i>Basella Obovata</i> )	% Inhibición bacteriana ( <i>Basella obovata</i> )
500 mg/ml		1	22.25	77.75	30.19	69.81
		1	22.68	77.32	33.47	66.53
		1	20.71	79.29	29.39	70.61
250 mg/ml		2	33.72	66.28	36.68	63.32
		2	34.46	65.54	38.51	61.49
		2	36.22	63.78	40.92	59.08
125 mg/ml		3	52.14	47.86	55.23	44.77
		3	47.59	52.41	51.7	48.3
		3	51.89	48.11	53.44	46.56
62.5 mg/ml		4	57.45	42.55	61.72	38.28
		4	61.53	38.47	61.9	38.1
		4	60.57	39.43	61.66	38.34
31.25 mg/ml		5	63.6	36.4	66.57	33.43
		5	64.22	35.78	64.1	35.9
		5	69.26	30.74	71.11	28.89
Penicilina (Shotapen)		6	4.02	95.98	4.02	95.98
		6	3.49	96.51	3.49	96.51
		6	5.53	94.47	5.53	94.47