



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

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

**ESTUDIO BIODIRIGIDO DE *Solanum nigrum* Y *Coriaria ruscifolia* CON
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
AISLADOS DE MASTITIS BOVINA**

LEANDRO JESÚS CASTRO CHAMORRO

ASESOR: PHD. YADIRA FERNANDA ORDOÑEZ VIVANCO

IBARRA, 19 FEBRERO del 2025

Ibarra, 23 de enero de 2025

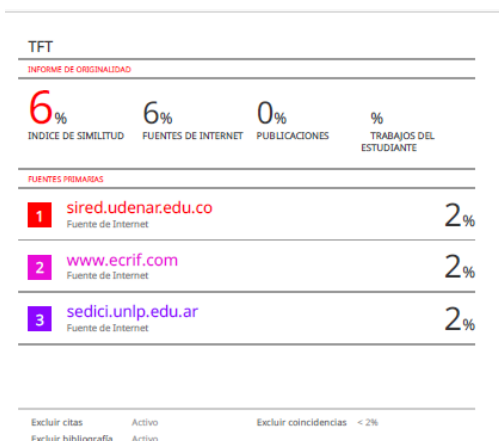
CERTIFICACIÓN TUTOR

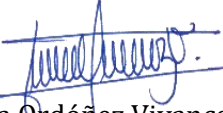
En mi calidad de Tutor del trabajo de integración curricular titulado Estudio biodirigido de *Solanum nigrum* y *Coraria ruscifolia* con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina, presentado por el estudiante Leandro Jesús Castro Chamorro con cédula de ciudadanía N° 0401853775, 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.

Captura:



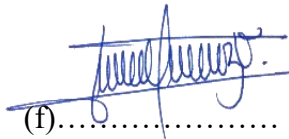

Yadira Ordóñez Vivanco

C.I.: 1103764864

FECHA: 23 de enero 2025

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

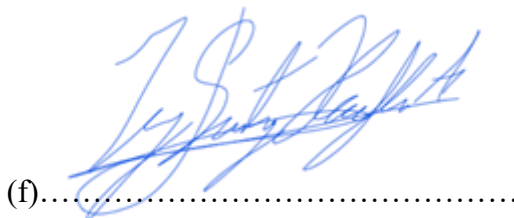
El tribunal examinador, aprueba el presente trabajo en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra:



(f).....

Ph.D. Yadira Fernanda Ordoñez Vivanco

C.C.: 1103764864



(f).....

Msc. Santiago Mafla

C.C.: 1002658399



(f).....

PhD. LEON TAPIA DIEGO MANUEL

C.C.: 1711668895

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo LEANDRO JESÚS CASTRO CHAMORRO, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 de 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:



LEANDRO JESÚS CASTRO CHAMORRO

C.C.: 0401853775

AUTORÍA

Yo, LEANDRO JESUS CASTRO CHAMORRO, autor, portador de la cédula de ciudadanía N° 0401853775, 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):

LEANDRO JESÚS CASTRO CHAMORRO

C.C.: 0401853775

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a Dios, a mis padres y familiares que siempre estuvieron apoyándome en los buenos y malos momentos con sus ánimos, siendo una fuente de inspiración que cada día me recuerda el valor y la lucha para poder conseguir mis metas y me reposa en la satisfacción de contar con la presencia de ellos en mi caminar.

AGRADECIMIENTO

Me siento profundamente agradecido por aquellas personas que me ayudaron de alguna forma en realizar este trabajo de investigación. Quiero expresar mi sincero agradecimiento a mi familia que, con su amor incondicional, apoyo y comprensión me han ayudado a salir adelante en el transcurso de este gran proceso. Agradezco a Dios por darme fortaleza, sabiduría y la inspiración necesaria para realizar la investigación y guiarme por el camino más indicado. A mis compañeros que se convirtieron en amigos ayudándome con sus aportes y ánimos que nunca faltaron. Finalmente agradezco aquellas personas que de una u otra manera siempre estuvieron ayudándome.

Leandro Castro

ÍNDICE

PORTADA	i
CERTIFICACIÓN TUTOR	ii
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS	iii
AUTORÍA	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	x
INDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	16
ABSTRACT	17
CAPITULO I	18
INTRODUCCIÓN	18
CAPÍTULO II	19
OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo general	19
2.2. Objetivos específicos	19
2.3. Hipótesis	19
CAPÍTULO III	20
ESTADO DEL ARTE	20
3.1. Mastitis bovina.	20
3.1.1. Generalidades.	20
3.1.2. Situaciones de riesgo y situaciones que desarrollan la mastitis.	21
3.1.3. Etiología de la mastitis.	22
3.2. Clasificación de la mastitis.	23
3.2.1. Mastitis clínica.	24
3.2.2. Mastitis subclínica.	24
3.2.3. Mastitis aguda.	24
3.2.4. Mastitis crónica.	25

3.3. Patogénesis de la mastitis.	25
3.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .	26
3.4.1. Mastitis bovina causada por <i>Staphylococcus aureus</i> .	26
3.4.2. Impacto socio-económico de la mastitis causada por <i>Staphylococcus aureus</i>	27
3.4.3. Identificación.	27
3.5. Plantas Silvestres.	28
3.5.1 <i>Solanum nigrum</i> (Hierba mora)	28
3.5.2. Características de la hierba mora.	29
3.5.3. Utilidades de la hierba mora.	29
3.5.4. Descripción botánica.	29
3.5.5. Hábitat y distribución.	29
3.5.6. Características taxonómicas.	30
3.6. <i>Coriaria ruscifolia</i> .	30
3.6.1 Hábitat.	31
3.6.2 Descripción botánica.	31
3.6.3. Taxonomía.	32
3.6.4. Toxicología.	32
3.6.5. Usos de la <i>Coriaria Ruscifolia</i> .	32
CAPÍTULO IV	33
MATERIALES Y MÉTODOS	33
4.2. Materiales.	33
4.2.1. Equipos de laboratorio.	33
4.2.2. Materiales de laboratorio	33
4.2.3. Materiales biológicos	33
4.2.4. Materiales reactivos	33
4.3. Métodos	34
4.3.1. Recolección de especies vegetales.	34
4.4. Obtención de extractos totales.	35
4.4.1. Cultivo y aislamiento de la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>	35
4.5. Preparación de los extractos vegetales.	36
4.6. Determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI) y crecimiento bacteriano.	36
4.6.1. Diseño experimental.	37

4.6.2. Variables.	38
4.6.3 Variables independientes.	38
4.6.4 Variables dependientes.	38
CAPÍTULO V	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	40
5.1. Recolección e identificación taxonómica de especies vegetales.	40
5.2. Obtención de extractos totales.	42
5.3. Prueba de normalidad y homogeneidad de varianza.	43
5.3.1. Análisis de varianza de la variable capacidad microbiana in vitro de <i>Solanum nigrum</i> y <i>Coriaria ruscifolia</i> frente a Mastitis proveniente de bovinos en fase de lactancia	44
CAPITULO VI	52
CONCLUSIONES	52
CAPITULO VII	53
RECOMENDACIONES	53
CAPITULO VIII	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXOS	58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Características taxonómicas de la especie <i>Solanum nigrum</i>	30
Tabla 2 Características taxonómicas de la especie <i>Coriaria ruscifolia</i>	31
Tabla 3 Concentraciones de los extractos vegetales de <i>Solanum nigrum</i> y <i>Coriaria ruscifolia</i>	37
Tabla 4 Esquema de tratamientos utilizados de cada especie vegetal.	38
Tabla 5 Anova de cada especie vegetal: <i>Solanum nigrum</i> y <i>Coriaria ruscifolia</i>	38
Tabla 6 Área de recolección de las especies vegetales.....	40
Tabla 7 Rendimiento total de las especies <i>Solanum nigrum</i> y <i>Coriaria Ruscifolia</i>	42
Tabla 8 Porcentaje de crecimiento bacteriano de la especie vegetal <i>Solanum nigrum</i> . 43	
Tabla 9 Porcentaje de inhibición de la especie vegetal <i>Solanum nigrum</i>	43
Tabla 10 Porcentaje de crecimiento bacteriano de la especie vegetal <i>Coriaria ruscifolia</i>	44
Tabla 11 Porcentaje de inhibición de la especie <i>Coriaria ruscifolia</i>	44
Tabla 12 Prueba de normalidad y homogeneidad de varianza	45
Tabla 13 Anova de la especie <i>Solanum nigrum</i> en el crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
Tabla 14 Anova de la especie <i>Solanum nigrum</i> en la inhibición bacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Tabla 15 Anova de la especie <i>Coriaria ruscifolia</i> en el crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i>	49
Tabla 16 Anova de la especie <i>Coriaria ruscifolia</i> en la inhibición bacteriana de <i>Staphylococcus aureus</i>	50

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mapa Referencial De San Pablo	39
Figura 2 Montaje de la especie <i>Coriaria Ruscifolia</i> .	40
Figura 3 Montaje de la especie <i>Solanum nigrum</i> .	41
Figura 4 Resultados de la prueba tukey de la especie <i>Solanum nigrum</i> en el crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Figura 5 Resultados de la prueba tukey de la especie <i>Solanum nigrum</i> en la inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
Figura 6 Resultados de la prueba de tukey de la especie <i>Coriaria ruscifolia</i> en el crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> .	48
Figura 7 Resultados de la prueba de tukey de la especie <i>Coriaria ruscifolia</i> en el pocertanje de inhibición bacteriana de <i>Staphylococcus aureus</i> .	49

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Tratamientos y repeticiones de <i>Solanum nigrum</i> y <i>Coriaria ruscifolia</i>	59
Anexo 2 Análisis molecular de <i>Staphylococcus aureus</i>	60
Anexo 3 Recolección de especie <i>Solanum nigrum</i>	60
Anexo 4 Recolección de especie <i>coriaria ruscifolia</i>	61
Anexo 5 Desinfección de la especie <i>Solanum nigrum</i>	61
Anexo 6 Desinfección de la especie <i>Coriaria Ruscifolia</i>	61
Anexo 7 Etapa 1 de secado de las especies vegetales.....	62
Anexo 8 Etapa 2 de secado de las especies vegetales.....	62
Anexo 9 Clasificación de las especies vegetales	62
Anexo 10 Trituración de las especies vegetales	63
Anexo 11 Pre-trituración de la especie <i>Solanum nigrum</i>	63
Anexo 12 Pre-trituración de la especie <i>Coriaria ruscifolia</i>	64
Anexo 13 <i>Solanum nigrum</i> triturada.	64
Anexo 14 <i>Coriaria ruscifolia</i> triturada	65
Anexo 15 Pesaje de las especies vegetales	65
Anexo 16 Pesajes de las especies vegetales.....	66
Anexo 17 Maceración dinámica.....	66
Anexo 18 Filtración de <i>Coriaria ruscifolia</i>	67
Anexo 19 Filtración de <i>Solanum nigrum</i>	67
Anexo 20 Especies vegetales filtradas.....	68
Anexo 21 Obtención de extractos mediante rotavapor.....	68
Anexo 22 Obtención de extractos	69
Anexo 23 Extractos obtenidos de las especies vegetales <i>Solanum nigrum</i> y <i>Coriaria ruscifolia</i> . 69	
Anexo 24 Espectrofometria.....	70

RESUMEN

El presente estudio biodirigido de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*, tiene como objetivo principal evaluar la actividad antimicrobiana de extractos de dos plantas medicinales de la región de Imbabura, Ecuador, estas plantas son conocidas como *Solanum nigrum* (hierba mora) y *Coriaria ruscifolia* (shashi), contra la bacteria *Staphylococcus aureus*, causante de la mastitis bovina, debido a que la mastitis constituye una de las enfermedades más prevalentes en el ganado bovino, generando importantes pérdidas económicas para los productores y afectando negativamente el bienestar animal. En este estudio, se propone una estrategia biodirigida para el desarrollo de un tratamiento alternativo contra la mastitis bovina, utilizando extractos de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*. Estas plantas han sido tradicionalmente empleadas en la medicina popular para el tratamiento de diversas afecciones, incluyendo infecciones bacterianas. La investigación se basa en la obtención de extractos concentrados de ambas plantas, mediante procesos estandarizados, para luego evaluar su actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. Para ello, se empleará una metodología de diluciones seriadas y pruebas de susceptibilidad microbiana. Los resultados de este estudio proporcionaran evidencia científica sobre el potencial terapéutico de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* en el tratamiento de la mastitis bovina. De esta manera, se podría contribuir al desarrollo de alternativas naturales y sostenibles para el control de esta enfermedad, beneficiando tanto a la salud animal como a la economía del sector ganadero.

Palabras clave: *Solanum nigrum*, *Coriaria ruscifolia*, actividad antimicrobiana, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The main objective of the present biodirected study of *Solanum Nigrum* and *Coriaria Ruscifolia* is to evaluate the antimicrobial activity of extracts of two medicinal plants from the Imbabura region, Ecuador, these plants are known as *Solanum nigrum* (nightshade) and *Coriaria ruscifolia* (shashi). , against the bacteria *Staphylococcus aureus*, which causes bovine mastitis, because mastitis is one of the most prevalent diseases in cattle, generating significant economic losses for producers and negatively affecting animal welfare. In this study, a biodirected strategy is proposed for the development of an alternative treatment against bovine mastitis, using extracts of *Solanum nigrum* and *Coriaria ruscifolia*. These plants have traditionally been used in popular medicine to treat various conditions, including bacterial infections. The research is based on obtaining concentrated extracts of both plants, through standardized processes, to then evaluate their antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. To do this, a methodology of serial dilutions and microbial susceptibility tests will be used. The results of this study will provide scientific evidence on the therapeutic potential of *Solanum nigrum* and *Coriaria ruscifolia* in the treatment of bovine mastitis. In this way, we could contribute to the development of natural and sustainable alternatives for the control of this disease, benefiting both animal health and the economy of the livestock sector.

Keywords: *Solanum Nigrum*, *Coriaria Ruscifolia*, antimicrobial activity, *Sthapylococcus aureus*

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina, es una inflamación de la glándula mamaria, representa una de las principales enfermedades que afectan a la industria láctea a nivel mundial. Esta afección no solo reduce significativamente la producción de leche, sino que también deteriora su calidad, causando pérdidas económicas importantes para los productores. La principal bacteria responsable de la mastitis es *Staphylococcus aureus*, un patógeno que presenta una considerable resistencia a múltiples antibióticos, lo que complica su tratamiento y gestión (Bedolla, 2018).

Esto tiene una creciente preocupación por la resistencia a los antibióticos y la búsqueda de alternativas naturales y sostenibles, las plantas medicinales emergen como una opción prometedora. Entre estas, *Solanum nigrum* (hierba mora) y *Coriaria ruscifolia* (shashi) se destacan por sus potenciales propiedades antibacterianas. Estas plantas, nativas de varias regiones, han sido tradicionalmente utilizadas en la medicina popular para tratar diversas enfermedades, aunque su aplicación específica contra patógenos como *Staphylococcus aureus* en el contexto de la mastitis bovina no ha sido ampliamente investigada (Andrade, 2023).

El presente trabajo de titulación se centra en un enfoque biodirigido para evaluar los efectos de los extractos de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis bovina (Campaña, 2021)

El término biodirigido se refiere a la utilización de métodos biológicos y químicos para guiar el proceso de selección y evaluación de compuestos con actividad biológica específica, en este caso, actividad antibacteriana (Erskine, 2020).

Ambos extractos poseen propiedades antibacterianas significativas, sugiriendo su potencial uso en el tratamiento de la mastitis bovina. Este enfoque no solo podría ofrecer una alternativa eficaz a los antibióticos tradicionales, sino que también contribuiría a la sostenibilidad y seguridad de la producción láctea (Rodríguez, 2024).

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la actividad microbiana *in vitro* de la bacteria de *Staphylococcus aureus* proveniente de bovinos en fase de lactancia.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento del extracto total de la especie vegetal de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* obtenido mediante solventes orgánicos.
- Evaluar la capacidad microbiana *in vitro* del extracto de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* frente a Mastitis proveniente de bovinos en fase de lactancia.

2.3. Hipótesis

Ho: Los extractos no presentan actividad antimicrobiana.

Ha: Uno de los extractos vegetales presenta actividad antimicrobiana.

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

3.1. Mastitis bovina.

La mastitis bovina es la reacción inflamatoria de origen infeccioso, traumático y tóxico que se da en la glándula mamaria, esta enfermedad es de las más frecuentes y costosas en vacas de origen lechero teniendo un impacto en la producción animal, bienestar animal y la calidad de leche producida (Fernández, et al., 2012).

Esta enfermedad se trata de una inflamación en la glándula mamaria que está asociada con una infección intramamaria, las bacterias son el agente etiológico más frecuente esto lleva consigo traumatismos físicos o irritaciones químicas que puede alterar el sistema inmunológico de un hato ganadero, causando pérdidas económicas elevadas (Mycofix, 2011).

Cuando se presenta la mastitis se reduce la producción de leche debido a que altera su composición cambiando el sabor y cargando su actividad bacteriana normal, de acuerdo a su duración se puede clasificar en clínica o subclínica y en muchos casos hay putrefacción, dolor y endurecimiento de la glándula mamaria por lo que podría causar la pérdida del animal (Gasque, 2007).

3.1.1. Generalidades.

Durante la temporada de invierno en general se aumenta el brote de plagas, vectores y condiciones que son desfavorables para los bovinos causando enfermedades como la mastitis, debido a que ellos se encuentran expuestos al ambiente, en este caso se reduce la productividad de leche de una manera significativa y desfavorable en la producción láctea (Bedolla, 2017).

En el Ecuador esta enfermedad es considerada como una de las más importantes respecto a que se disminuye la producción, aumentando los costos de insumos por su tratamiento óptimo, teniendo pérdidas económicas y a veces descartando vacas improductivas por la pérdida de cuartos glandulares y el desperdicio de leche para evitar la presencia de residuos antibióticos (Corpoica, 2012).

La mastitis bovina se da por un proceso inflamatorio que se presenta en la glándula mamaria de la ubre del bovino y es por una infección microbiana causada por patógenos

que se introducen a través del canal del pezón, dando así cambios físicos y químicos (Bolaños, et al., 2012).

La enfermedad comienza con la entrada de microorganismos patógenos desde la parte externa al ambiente al interior de la ubre por el conducto glandular esto da a una invasión total de gérmenes e inflamación del tejido de la ubre, que da como resultado una formación de fibrosis, edema inflamatorio, atrofia del tejido mamario y abscesos; la etapa terminal da como finalizada en la perdida parcial o total de la urbe (Sipsa, 2014).

Esta enfermedad tiene como consecuencia una disminución notable en la producción de leche, aumento de leucocitos, composición y aparición de grumos, fiebre, cuartos mamarios afectados con un color rojizo e hinchados (Bolaños, et al., 2012).

Es una enfermedad multifactorial debido a que el riesgo de infección dependerá de la habilidad del bovino para contrarrestarla, del tipo y numero de patogenicidad de las bacterias que se encuentren presentes y sobre todo de las condiciones del medio ambiente y el manejo sanitario general y del ordeño (Acosta., et al., 2017).

3.1.2. Situaciones de riesgo y situaciones que desarrollan la mastitis.

Las situaciones y riesgos más comunes que provocan las mastitis son:

- Error en el manejo del ordeño causando daño al pezón y a la ubre.
- Pezoneras del tamaño inadecuado que no se adaptan al tamaño del pezón.
- No realizar el sellado correcto de los pezones al terminar el ordeño.
- Inadecuado lavado de la ubre.
- No limpieza de los equipos y materiales utilizados en el ordeño.
- Edad de las vacas dado que a partir del cuarto parto desarrollan con mayor predisposición la mastitis.
- Malas instalaciones, condiciones sanitarias y limpieza de confinamiento de la sala de ordeño (Gasque, 2007).

Según Noriega (2021), las consecuencias más relevantes de la mastitis en cuestión de producción de leche son:

- Disminución de producción y pérdidas económicas.
- Altera la calidad y los componentes de la leche.
- Altera la actividad metabólica de las células productoras de leche.

- Produce complicaciones físicas en el ganado infectado.
- Produce hiperalgesia y alodinia.

3.1.3. Etiología de la mastitis.

Existe un gran número de bacterias Gram positivas que resultan siendo útiles, sin tomar en cuenta que hay otras que resultan siendo perjudiciales como son las saprofitas y patógenas, estas últimas pertenecen: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Propionibacterium*, *Bacillus* y *Clostridium*. (Acosta, et al., 2017).

Dentro de los patógenos que mayormente se han aislado se encuentran la *Staphylococcus coagulasa* negativa, que tiene una prevalencia entre 5,5 y 27,1% por cuarto positivo, bacterias coliformes y *Staphylococcus coaguasa* positiva se destaca la *Staphylococcus aureus* (Ramírez, et al., 2011).

Principalmente la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* son los más importantes, siendo agentes de la mastitis bovina subclínica que contribuyen en cantidad de elevados recuentos de células a nivel de la explotación lechera, lo que puede agravarse con una mastitis bovina de tipo clínico (Sánchez, 2007).

3.1.4. Agentes etiológicos bacterianos causantes de mastitis bovina.

Según Herrera (2014) existe una gran variedad de microorganismos involucrados como agentes causales de la mastitis bovina, esto se da de acuerdo a su hábitat, interacción con el pezón, canal y patogenicidad estos son clasificados como microorganismos ambientales, oportunistas y otros.

En un estudio realizado por (Cruz y Estepa, 2017), se encontró que las bacterias Gram positivas son la principal causante de la mastitis bovina, estos vienen siendo un agente causal de mastitis clínica y subclínica, donde la bacteria *Staphylococcus aureus* tiene un porcentaje mayor a las otras especies de *Staphylococcus*, donde su estado de resistencia, se observó una sensibilidad a la tetraciclina, penicilina y estreptomina.

En los agentes etiológicos que causan la mastitis encontramos más de 100 especies de variedad de microorganismos que han sido encontrados, como los principales causantes de infecciones intramamarias en bovinos de producción lechera, donde los agentes más contagiosos son la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus*

agalactie, que principalmente se alojan en el canal del pezón originando un contagio durante el ordeño (Quisphe, 2022).

3.1.5. Microorganismos contagiosos.

La invasión de microorganismos se da desde el exterior de la ubre hacia el conducto glandular, en esta etapa de infección, las bacterias proliferan e invaden el tejido mamario causando daño al tejido glandular lo que crea inflamación dando origen a la mastitis (Gasque, 2015).

Las fuentes de microorganismos son las ubres infectadas, las cuales transmiten desde los cuartos infectados a los no infectados en el ordeño, la mayoría de especies que se encuentran aisladas son del grupo de la *Staphylococcus aureus*, los cuales han desarrollado estrategias para evitar el sistema inmune de los animales y así permanecer en la mama (Aguilar y Álvarez, 2019).

La *Staphylococcus aureus* es la primera causa de la infección intramamaria de los rumiantes por la que se considera como la agente causal más importante y frecuente de la mastitis bovina; no obstante, también se puede encontrar esta enfermedad por lesiones en la piel de los pezones (Bolaños, et al., 2012).

3.2. Clasificación de la mastitis.

Según Caggiano y Castrillón (2018), la mastitis bovina se manifiesta con una inflamación en la glándula mamaria y sus tejidos secretores cuando su etiología se da en forma traumática, tóxica e infecciosa.

Esto perjudica al volumen de la leche, su composición, así mismo elevando su porcentaje bacteriano normal (Quisphe, 2022). Acorde a su permanencia se la puede clasificar en:

3.2.1. Mastitis clínica.

Según (Osejo, 2020): “La mastitis clínica presenta signos y síntomas en la glándula mamaria que su pueden o no ser acompañados de síntomas sistémicos”.

En la mastitis clínica se puede observar una reacción inflamatoria con síntomas característicos en la ubre como son el enrojecimiento, fiebre, sensibilidad en las ubres y edema subcutáneo, cambios en las propiedades físico químicas de la leche y organolépticas de la leche (Rodríguez, 2024)

Esto trae como consecuencia la disminución de circulación sanguínea y un eventual daño en los cuartos infectados; en otros casos se puede observar signos sistémicos como temperatura corporal elevada, anorexia, toxemia y postración lo que puede culminar en una bacteriemia, septicemia y la muerte al animal (Sipsa, 2014).

3.2.2. Mastitis subclínica.

En la mastitis subclínica no es muy probable que se observen signos clínicos evidentes en el bovino, la leche tiende a tener una apariencia normal siendo perjudicial debido a que la transmisión del agente infeccioso sea más contaminante dentro de un hato ganadero, de esta forma, la glándula mamaria actúa como un reservorio de agentes causantes de la enfermedad perjudicando de una manera radical a la producción y calidad de la leche (Pérez y Padilla, 2022).

La mastitis subclínica se caracteriza por no mostrar signos evidentes, la leche suele estar aparente normal, sin embargo, los microorganismos se van desarrollando en el establo lechero, lo que produce la disminución de producción de la glándula mamaria y la alteración de componentes que tiene la leche (Ruiz, 2018).

Los gastos causados por la mastitis subclínica se deben a la pérdida de calidad de leche, pago reducido y si no se controla, un sacrificio y sustitución de bovinos afectados (Ruiz y Sandoval, 2018).

3.2.3. Mastitis aguda.

Esta se presenta con frecuencia al postparto y se reconoce su aparición repentina donde se observa una ubre hinchada, rígida y dolorosa, la leche toma un tono coaguloso y acuoso que da como consecuencia la notable reducción de la producción, en algunos casos con apariencia de suero sanguíneo, el bovino demuestra signos como la anorexia, depresión, taquicardia, dificultad para respirar y fiebre (Acosta, et al., 2017).

En esta etapa de mastitis se puede evidenciar la ubre hinchada, rígida y dolorosa, la leche toma un tono acuoso y coaguloso, se presenta la secreción de sangre y la taquicardia seguido por la dificultad de respirar para el animal (Castadeña, 2022).

3.2.4. Mastitis crónica.

La mastitis crónica empieza de una forma clínica o subclínica; se da por un desarrollo progresivo de tejido cicatrizante y muestra un cambio notable en el tamaño que forma de la glándula afectada (Herrera, 2014).

Se presenta cuando el proceso de los microorganismos con esta enfermedad dura muchos meses, esto conlleva a que la leche presente coágulos notablemente evidentes, con un color amarillo verdoso y con mal olor, también el tejido mamario tiende a tener fibrosis, los pezones dan una sensación dura, causando la disminución de tamaño perdiendo así su funcionalidad (Castadeña, 2022).

Esta se presenta cuando la inflamación aguda esta más de cinco días con un endurecimiento notable, sensación caliente también cuando se presentan secreciones continuas con una apariencia en la leche acuosa acompañada de hojuelas, grumos, tolondrones, coágulos o fibrones en los primeros chorros, el animal presenta fiebre, taquicardia, anorexia y atonía ruminal (Aldás, 2019).

3.3. Patogénesis de la mastitis.

Según Barrera (2015), la mastitis es una enfermedad multifactorial que se da por la resistencia natural de la ubre por factores como son el daño en los pezones, elevada presencia de microorganismos, deficiencias de alimentación que se desarrollan con la velocidad y la intensidad de los síntomas clínicos, así como la duración y terminación de la inflamación de la ubre que está determinada por:

- La patogenicidad y virulencia del agente causal
- Los mecanismos de defensa de la vaca
- El nivel funcional de la glándula mamaria
- Eventualmente la efectividad de un tratamiento

3.4. *Staphylococcus aureus*.

La *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva que se distingue de los otros miembros de su género por su capacidad de producir coagulasa, esta coagula la sangre o el plasma lo que crea una línea de defensora contra el sistema inmunológico del huésped (Villarreal, 2023).

La *Staphylococcus aureus* es la bacteria causante de la mastitis bovina está presente en el medio ambiente lo que tiene un papel importante en la transmisión de la infección de las vacas de un mismo rebaño, este se da por el mal manejo del ordeño y la

no higiene del ordeñador en el hato transmiten el agente patógeno de un cuarto infectado a uno sano (Adame y Castro, 2021).

Además de esto la *Staphylococcus aureus*, es un agente zoonótico que puede ocasionar intoxicaciones alimenticias al ser humano por lo que esta bacteria no debe encontrarse en la leche que será consumida (Galarza, 2021).

3.4.1. Mastitis bovina causada por *Staphylococcus aureus*.

La *Staphylococcus aureus* es la causa principal causa para el desarrollo de una mastitis aguda, clínica y crónica, que responde al efecto del tratamiento transmitiéndose de una manera rápida en el momento que se realiza el ordeño, esta bacteria se coloniza dentro y fuera del pezón (Osejo, et al., 2020).

En los hatos ganaderos la mastitis estafilocócica es problema que pueden presentar en el 50% de las vacas con infecciones subclínicas crónicas; las infecciones duran meses lo que provoca una resistencia al tratamiento por el desarrollo de una barrera tisular entre el antibiótico y el microorganismo (Quisphe, 2022).

La mastitis causada por *Staphylococcus aureus* puede ser hiperaguda y fulminante, leve o crónica además la mastitis bovina normalmente se presenta poco tiempo después del parto, se tiende a obtener una gangrena en el cuarto afectado y a elevar la tasa de mortalidad, los cuartos afectados tienen a ser tumefactos, tersos, calientes y firmes con mucho dolor (Herrera, 2014).

La forma y progresión de las diferentes clases de mastitis depende de la toxigenicidad y de la infección al tejido interaccionar para establecerse como un foco de infección ocasionando una reacción granulomatosa, llamada “botriomicosis” (Mellenberger, 2016).

La primera reacción que se da es necrotizante, que genera una respuesta leucocítica intensa; se desarrolla la fibroplasia, que forma una barrera de protección alrededor del foco irritante (Mera, et al., 2017).

3.4.2. Impacto socio-económico de la mastitis causada por *Staphylococcus aureus*

Factores como condiciones de clima, falta de sanidad y mal uso de ordeño, las enfermedades han sido uno de los principales factores que han influido en limitar la

productividad del ganado bovino; una de ellas es la mastitis que ha venido siendo una de las enfermedades más relevantes en bovinos (Pech et al., 2017).

En la mayoría de productores de ganado bovino se puede observar que existen factores, en el cual los hatos ganaderos no cuentan con un manejo higiénico adecuado causando el desarrollo de enfermedades como la mastitis (Erskine, 2020).

La mastitis ha sido una de las enfermedades que a representado una de las mayores causas importantes de pérdidas económicas en sistemas lecheros debido a que representa aproximadamente el 27% de pérdidas anuales en el Ecuador del costo total de las enfermedades (Bedolla, 2018).

El daño en la economía de los productores de leche se produce de manera directa es decir se expresa con un deterioro de la calidad en la leche con una baja productividad, donde se requiere el uso de antibióticos costosos, servicio de veterinario y en ocasiones el sacrificio del animal infectado (Mercado, 2019).

3.4.3. Identificación.

La identificación de *Staphylococcus aureus* se realiza con el empleo de la tinción de Gram, pruebas bioquímicas como: prueba de la catalasa, fermentación de glucosa, que permite diferenciar al género *Staphylococcus* del género *Micrococcus*, que también se considera una catalasa positiva pero no fermenta la glucosa (Calderón, 2017).

Actualmente la identificación de *Staphylococcus aureus*, se puede llevar a cabo mediante la reacción de la cadena polimerasa que detecta genes como nucA, coaA, femA, entre otros (Hamdan, 2015)

Sin duda, la prueba de la coagulasa sigue siendo la más utilizada. Se basa en la capacidad de *Staphylococcus aureus* para producir la enzima extracelular que coagula el plasma; la detección de la coagulasa permite diferenciar *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo de las demás especies de estafilococos coagulasa negativos. (Herrera, 2014).

3.5. Plantas Silvestres.

Actualmente algunas las plantas silvestres han tenido una gran relevancia para la salud animal, éstas han sido empleadas para el desarrollo de la medicina moderna, en las zonas rurales porque ha sido el único recurso médico para las enfermedades que se presentan a diario (Jerves, 2021).

En años anteriores las especies naturales eran nativas, hoy en día se encuentran especies introducidas con una amplia distribución dentro del país que son utilizadas a gran medida por sus beneficios diversos y de gran importancia (Escamilla y Moreno, 2015).

Según (Martínez, et al., 2012), “El medio ambiente y ecosistema ha sido la fuente de bienes y servicios para la sociedad humana como también para los animales”.

A lo largo del tiempo las plantas silvestres medicinales se han empleado como medicamentos para tratamiento de infecciones y enfermedades que se presentan en los animales, estas han sido presentadas en forma de cápsulas, comprimidos, cremas y geles (Leal, 2014)

3.5.1 *Solanum nigrum* (Hierba mora)

La especie *Solanum nigrum* (hierba mora), pertenece a la familia de *Solanaceae*, a esta se le atribuye propiedades curativas debido a que posee una actividad antitumoral, antioxidante y antiinflamatoria (Tello, 2020).

Mediante análisis fitoquímicos que demuestra la presencia de alcaloides, lactonas sesquiterpénicas, terpenoides, fenoles, entre otros; estos compuestos son utilizados por sus propiedades farmacológicas que se han utilizado en la medicina para elaborar productos analgésicos, antibióticos y sedantes, se la puede emplear para tratamientos de desinflamación, mediante sus extractos o infusiones, que se deben aplicar directamente en la zona afectada (Mandal, 2023).

Esta planta posee propiedades curativas, donde predomina su característica su característica analgésica y sedante, cabe recalcar que esta planta tiene un efecto anti purito donde dosis medianas o altas pueden tener cierto grado de toxicidad (Tatés, 2018).

3.5.2. Características de la hierba mora.

Las principales características de la hierba mora según (Realpe, 2014) son:

- Presenta una raíz gruesa, carnosa y blanquecina, de aproximadamente 30 centímetros de largo
- Se caracteriza por ser una planta perenne con tallo robusto
- Contiene hojas verdes oscuras y de tamaño no igual
- Esta planta crece alrededor de medio metro por año

- Las flores aparecen en la temporada de junio, julio y florecen hasta septiembre

3.5.3. Utilidades de la hierba mora.

Según (Chang, 2013). Estas son las utilidades que tiene la hierba mora.

- Cura los eczemas, sarpudillos, pústulas de origen variado, sarna, tiña y erupciones cutáneas.
- Las hojas curan los tumores inflamatorios
- Las ramas sirven para curar el reumatismo en las articulaciones

Entre sus constituyentes químicos se encuentran la solanina y demiscina lo que hace que la hierba mora sea toxica por lo cual hay que tener precaución en su uso.

3.5.4. Descripción botánica.

Es una planta anual o perenne que crece hasta 1 metro de altura, con un tallo verde, erecto y ramificado, las hojas alternas, son de tamaño y tiende a tener formas variables con bordes enteros y ondulados que llegan a medir hasta 10 cm de largo con 7 de ancho con pecíolos finamente alado de 4 cm de largo, el limbo es de color verde oscuro arriba y más claro en el haz inferior. Inflorescencias en corimbos o umbelas saliendo de los entrenudos del tallo por un pedúnculo de 3 cm de largo (Andrade, 2023).

3.5.5. Hábitat y distribución.

Esta planta es muy fácil de conseguir en sitios removidos, bosques, campos, bordes de caminos y carreteras, la hierba mora se ha propagado por el continente americano, desde el sur hasta el noroeste de Estados Unidos hasta Paraguay y Perú (Collaguazo, 2022).

La hierba mora no es exigente en clima o temperatura, su característica principal de crecimiento se desarrolla en casi toda clase de medios y diversas condiciones climáticas, se la encuentra en suelos ricos en nitrógeno, suelos, húmicos y con un pH neutro, resistiendo a temperaturas bajas hasta de -8°C y puede sobrevivir a altitudes mayores y menores de 2200 msnm, por lo que se convierte en un cultivo resistente y de fácil producción en cualquier zona del Ecuador (Rosales, 2011).

3.5.6. Características taxonómicas.

Tabla 1

Características taxonómicas de la especie Solanum nigrum

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Solanales</i>
Familia	<i>Solanoiceae</i>
Subfamilia	<i>Solanoideae</i>
Tribu	<i>Solaneae</i>
Género	<i>Solanum</i>
Subgénero	<i>Solanum</i>
Sección	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum</i> <i>nigrescens</i>

Nota. La presente tabla muestra la taxonomía *Solanum nigrum*.
Adaptado de: Inaturalist (2021).

3.6. *Coriaria ruscifolia*.

Es un arbusto andino, es usada como una planta alucinógena, los frutos no se comen por sus efectos embriagadores, que incluyen las sensaciones anormales. *Coriaria ruscifolia* es una de las 15 especies de la familia de las *Coriaria*, la mayoría de las cuales son arbustos, se encuentran en las montañas desde México hasta Chile, desde el área mediterránea hacia el este hasta Japón, y también en Nueva Zelanda (Ipiales, 2021).

3.6.1 Hábitat.

En Ecuador la *planta Coriaria ruscifolia*. se la encuentra en zonas áridas o laderas de 2.500 a 3.5000 sobre el nivel del mar, alcanzando una altura de 2 metros. Florece en temporadas de abril, sus flores son moradas y pequeñas. (Ipiales, 2021).

Coriaria ruscifolia crece en forma natural, es frecuente observarla en lugares húmedos, orillas de esteros y cortes de caminos con afluentes húmedos. A continuación, se aprecia la distribución geográfica aproximada de este arbusto trepador (Marticorena, 2010).

En Ecuador la *planta Coriaria ruscifolia*. se la encuentra en zonas áridas o laderas de 2.500 a 3.5000 sobre el nivel del mar, alcanzando una altura de 2 metros. Florece en temporadas de abril, sus flores son moradas y pequeñas. (Ipiales, 2021).

3.6.2 Descripción botánica.

La Shashi es un arbusto o árbol más bien pequeño, hasta de 7 m de alto, con las ramas extendidas; hojas sésiles o subsésiles, las de los tallos principales opuesto cruzadas, ovadas a cordiformes o suborbiculares, a veces más anchas que largas, abrazadoras en la base, con 5 a 9 nervaduras basales, las de las ramas laterales oblongo-ovadas a elípticas o lanceoladas, de 0.5 a 7.5 cm de largo y de 0.2 a 3.2 cm de ancho (Calderón, 2017).

El ápice agudo a acuminado o mucronado, base cuneada; racimos con frecuencia largos y delgados, hasta de 25 cm de longitud, tubérculos, originándose en las ramas principales, o bien en las laterales; flores sobre pedicelos delgados, de 2 a 6 mm de largo, acompañados por una bráctea basal; flores de 2 a 3 mm de diámetro, hermafroditas, de color rojizo oscuro con verde, amarillentas o blanquecinas; sépalos ovados, de 1.5 a 2 mm de largo y 1 a 1.5 mm de ancho; pétalos más cortos que los sépalos; fruto subgloboso, de 3 a 4 mm de diámetro, de color oscuro, conteniendo por lo común 5 cocos rodeados por los pétalos carnosos acrescentes (Calderón, 2017).

3.6.3. Taxonomía.

Tabla 2

Características taxonómicas de la especie Coriaria ruscifolia

Reino	<i>Plantae</i>
Filo	<i>Tracheophyta</i>
Subfilo	<i>Agiospermane</i>
Clase	<i>Magnolipsida</i>
Orden	<i>Cucurbitales</i>
Familia	<i>Coriariaceae</i>
Género	<i>Coriaria</i>
Especie	<i>Coriaria ruscifolia</i>
Nombre científico	<i>Coriraria ruscifolia L.</i>

Nota. La presente tabla muestra la taxonomía de la *Coriaria ruscifolia*
Fuente: Inaturalist (2020).

3.6.4. Toxicología.

La *Coriaria ruscifolia*. es calificada como una especie alucinógena o narcótica. Los síntomas frecuentes de intoxicación incluyen estupor, vértigo, convulsiones. La muerte puede ser causada por asfixia, parálisis respiratoria e insuficiencia cardíaca. (González, 2021).

3.6.5. Usos de la *Coriaria Ruscifolia*.

El fruto de la *Coriaria ruscifolia*. sirve para el tratamiento de enfermedades como la sarna o causada por bacterias, las hojas son utilizadas para tratar la bronquitos. Las ramas de la planta también se usan como forraje de animales como bovinos (Ipiates, 2021).

La especie *Coriaria ruscifolia*, contiene fenoles y esteroides con metabolitos secundarios realizado tras un análisis fitoquímico de las hojas, esto ayuda a tener un indicativo útil con propiedades antimicrobianas (Trujillo, 2014).

Mediante el uso de la cromatografía líquida de alta definición para polifenoles se puede evidenciar que la planta *Coriaria ruscifolia*, contiene flavonoides y antocianinas, lo que quiere decir que la especie posee propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes, antiinflamatorias, cardiotónicas, antitrombóticas, hepatoprotectoras y analgésicas (Criollo, 2017).

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.2. Materiales.

4.2.1. Equipos de laboratorio.

- Molino de cuchillas Retsch modelo GM 200
- Estufa BioBase modelo BJPX-Spring
- Agitador magnético MSH-30D WiseStir
- Rotavapor Buchi R-215
- Ultrasonido Wise Clean
- Cámara de flujo laminar N-Biotek
- Balanza analítica ADAM – PW 254
- Incubadora
- Espectrofotómetro Biotek

4.2.2. Materiales de laboratorio

- Papel aluminio
- Frascos de vidrio
- Papel filtro
- Cartón de prensado
- Embudo
- Papel filtro
- Pipeta
- Frasco boeco
- Placas microtituladoras de 96 posillos

4.2.3. Materiales biológicos

- Bacteria reactivada (*Staphylococcus aureus*).
- Extracto de Plantas (*Solanum nigrum* y *Coriaria Ruscifolia*).

4.2.4. Materiales reactivos

- Agua destilada
- Metanol
- Caldo nutritivo
- Penicilina (Shotapen)

4.3. Métodos

4.3.1. Recolección de especies vegetales.

La presente investigación se realizó en los laboratorios de la PUCESI, en la provincia de Imbabura, las especies pertenecientes a las familias *Solanum* y *Coriaria* fueron recolectadas en San Pablo, perteneciente al cantón Otavalo.

La selección de los especímenes *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*, se basó en bibliografía donde se reporta estudios sobre su actividad biológica contra bacterias.

(Ávila, 2020) afirma que las especies *Solanum* y *Coriaria*, se encuentran en la región andina, bosques o carreteras, es por eso que se afirmó que estas especies vegetales crecen desde los 2500 msnm, por lo cual se obtuvo información para recolectar las especies.

Una vez recolectadas las muestras se escogió las muestras más saludables para la obtención de extractos siendo etiquetadas y guardadas en bolsas de papel para ser tratadas, así mismo se tomaron muestras para destinar como ejemplares en el herbario de la PUCESI.

Con el fin de garantizar la calidad científica de los ejemplares vegetales fueron preparados siguiendo los protocolos establecidos. Una vez siendo escogidas las especies vegetales se aplicó un tratamiento de desinfección con alcohol al 70% para evitar la proliferación de microorganismos que puedan afectar al experimento, posteriormente se montaron entre hojas de papel secante y periódico para ser sometidas a una presión uniforme en una prensa botánica.

Transcurrido la prensación se sometieron al proceso de deshidratación al 50°C, por un lapso de 6 horas, las muestras vegetales de las especies *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*, obtenido las mejores muestras se realizó un proceso de limpieza manual con el fin de eliminar partes dañadas y material extraño que se puede presentar, se separaron las hojas de las distintas especies.

4.4. Obtención de extractos totales.

Una vez deshidratadas las especies vegetales de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* se procedió a triturar en fragmentos de menor tamaño en el molino de cuchillas (Retsch GM 200), realizado este proceso fueron pesadas y almacenadas en bolsas de papel.

Para la obtención de extractos totales de cada especie, se utilizó el método de maceración dinámica; este procedimiento se llevó a cabo con el solvente metanol, debido a que es poco selectivo y tiene la capacidad de extraer la mayor cantidad de compuestos.

Se pesaron 25 g de cada especie vegetal, colocando en un matraz, se agregó metanol a una relación de 1:10 (peso/volumen), la muestra fue macerada en un agitador magnético por un tiempo de 24 horas a 250 rpm con temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se procedió a filtrar separando el solvente del sólido, almacenando el solvente en frascos boecos, mientras que el sólido fue utilizado para hacer dos extracciones sucesivas.

Los tres solventes fueron almacenados, mezclados y colocados en un rotavapor de 40°C, para separar el solvente en su totalidad y obtener un concentrado sólido, las muestras fueron almacenadas en frascos de vidrio. El rendimiento del extracto total se calculó con la ecuación 1.

ECUACIÓN 1

Rendimiento del extracto total de las especies

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

4.4.1. Cultivo y aislamiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*

El cultivo y aislamiento de la bacteria se llevó a cabo en las instalaciones de la PUCESI. Se preparó el medio de cultivo Manitol Salado Agar Base, en 100 mL de agua destilada se diluyó 111g de agar, después se procedió a esterilizar en una autoclave a 120°C, se sembró en 30 cajas Petri colocando 20 ml de Manitol Salada por cada caja, una vez solidificado se colocó 1ml de muestra de *Staphylococcus aureus* (Campaña, 2021).

Utilizando el método por estría se procedió a flamear toda la longitud del asa durante 30 segundos en un mechero bunsen para evitar la contaminación de la bacteria, continuamente se realizó el frotis con el asa de una cuarta parte de la caja y se giró para ejecutar otro frotis en la otra cuarta de la caja, finalmente se coloca papel Paraflim para sellar la caja evitando la contaminación (García, 2018).

Una vez realizado este proceso de siembra se procedió a incubar en un tiempo estimado de 24 horas a 48 horas a una temperatura de 37°C que es donde crece la bacteria, finalizado entre proceso se visualizó los resultados de la presencia de *Staphylococcus aureus* y a través del conteo de UFC en las cajas más representativas (Chamorro, 2023).

4.5. Preparación de los extractos vegetales.

El extracto total de las especies vegetales *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* fueron utilizados en ensayos de micro dilución, esto se preparó a partir del extracto total seco, donde se pesó exactamente 500 mg en un frasco de vidrio, y se suspendieron a 1 ml de metanol. Se prepararon 5 diluciones seriadas a diferentes concentraciones, 500, 250, 125, 62.5 y 31.25 mg/mL. (Pérez, 2020).

4.6. Determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI) y crecimiento bacteriano.

La prueba de microdilución en caldo CMI se realizó en una microplaca de 96 pocillos, donde se observa como el extracto inhibe el crecimiento de la bacteria dentro de 0 a 12 horas de cultivo (Ramirez, 2010).

Los ensayos se llevaron a cabo en microplacas de 96 pocillos, las cuales fueron incubadas en una estufa a 28°C. Se utilizó la escala de McFarland para ajustar la absorbancia a 0.08 y 0.1, con una longitud de onda de 650 nm (Osamah, 2024).

Una vez listo el inóculo bacteriano, se prepara microplacas de 96 pozos, colocando 10ul de diluciones seriadas de cada extracto y 100 ul de inóculo bacteriano, teniendo un total de 110 ul en cada microplaca, se prueba 5 concentraciones por cada extracto, también utilizando los controles, caldo nutritivo con inóculo bacteriano, caldo nutritivo con inóculo bacteriano y penicilina (Picazo, 2016).

A continuación, se realizó la lectura a las 0 horas con un lector óptico de placas a 650 nm, para ser leídas a las 18 horas después, donde el tiempo transcurrido se deberá tomar lectura para obtener los datos de absorbancia y así verificar el crecimiento bacteriano e inhibición que tienen los extractos. Los resultados son efectuados como CMI para el crecimiento de las 0 horas al crecimiento dado a las 18 horas, para ver el efecto del extracto desde la lectura 0 horas, se debe utilizar la ecuación 2 para calcular el porcentaje de inhibición que se obtuvo del extracto en la bacteria. La inhibición total de los extractos se calculó con la ecuación 2.

ECUACIÓN 2

Formula de inhibición bacteriana

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

DO18h: Densidad optima del pozo de prueba de las 18 horas después de la inoculación.

DO0h: Densidad óptima del pozo de prueba a las 0 horas 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 despues de la inoculación.

4.6.1. Diseño experimental.

En la presente investigación las variables se evaluaron con un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 6 tratamientos y 3 repeticiones por cada especie vegetal dando un total de 18 unidades experimentales, para el análisis estadístico ANOVA se utilizó el programa XLSTAT (2023.2.0) con una prueba de rango multiple tukey al 0,05% de probabilidad, para la validación de la normalidad de los datos se empleó la prueba de Shapiro Wilk 0.05%

Tabla 3

Concentraciones de los extractos vegetales de Solanum nigrum y Coriaria ruscifolia

Especies	Concentraciones	mg/ml
<i>Solanum nigrum</i> y <i>Coriaria</i> <i>Ruscifolia</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 4

Esquema de tratamientos utilizados de cada especie vegetal.

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

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

Tabla 5

Anova de cada especie vegetal: Solanum nigrum y Coriaria ruscifolia

	GL
FV.	
Total	17
Tratamientos	5
Error	12

4.6.2. Variables.

4.6.3 Variables independientes.

- Extracto total de *Solanum nigrum*
- Extracto total de *Coriaria ruscifolia*

4.6.4 Variables dependientes.

- Actividad microbiana
- Concentraciones que van a influir en una mayor o menor inhibición.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

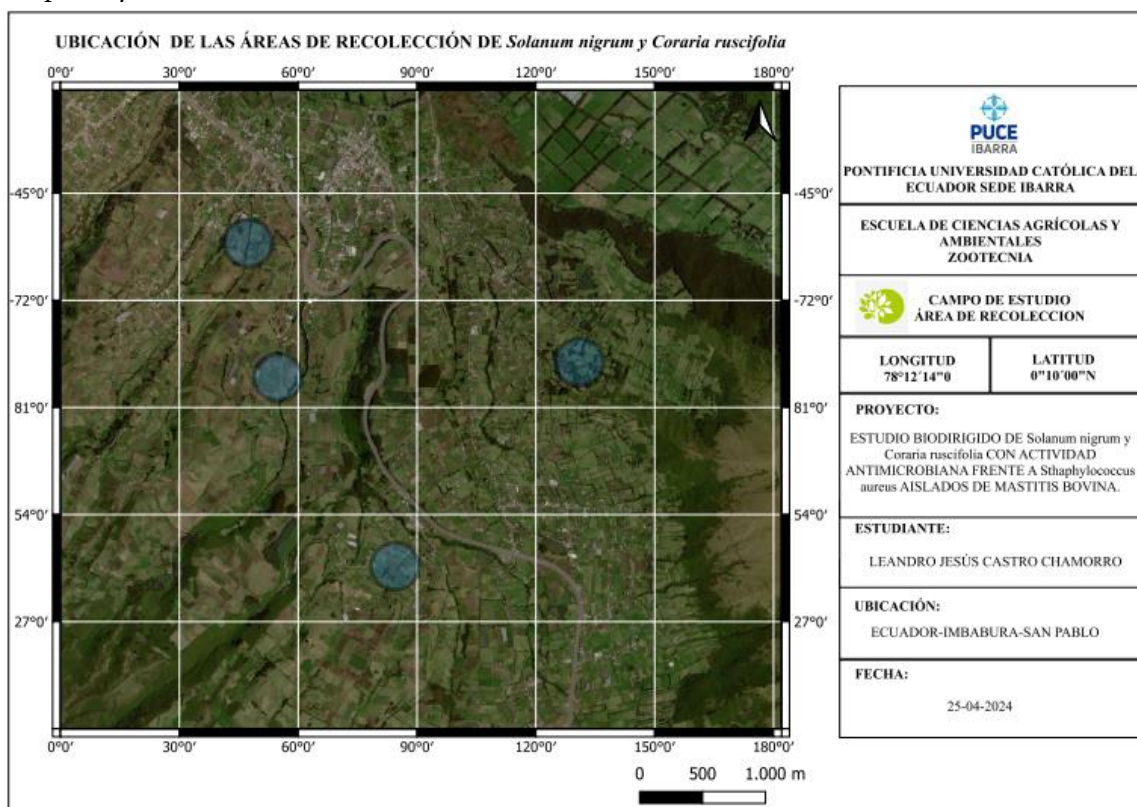
5.1. Recolección e identificación taxonómica de especies vegetales.

El siguiente trabajo de investigación se llevó a cabo en la Provincia de Imbabura, Cantón Otavalo, parroquia San Pablo, con una altitud de 2711 msnm, con latitud de 0°12'22"N, longitud de 78°16'25"O, temperatura promedio de 22°C con un 65% de humedad; donde existe influencia de hatos ganaderos y grandes extensiones de pastos naturales.

Se recolectaron de 6 a 7 muestras botánicas de las especies vegetales *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*, en la figura 2 se muestra el área de colecta de cada una de las especies vegetales en estudio.

Figura 1

Mapa Referencial De San Pablo



Nota. La siguiente imagen muestra el lugar donde se recolecto las plantas: QGIS 3.30.2 En la tabla 7 se muestran las especies vegetales recolectadas, características específicas de cada una de ellas y las coordenadas en las que fueron encontradas.

Tabla 6*Área de recolección de las especies vegetales*

Familia	Especie	Nombre común	Lugar de recolección	Altitud	Coordenadas DMS
<i>Coriariaceae</i>	<i>Coriaria ruscifolia</i>	Shanshi Zumaque	San Pablo – Otavalo – Imbabura	2659 msnm	0°13'0" N, 78°12'0" W
<i>Solanaceae</i>	<i>Solanum nigrum</i>	Hierba mora	San Pablo – Otavalo – Imbabura	2938 msnm	0°12'21"N 78°13'09"O

Nota. En la siguiente tabla se muestra la familia, especie, nombre común, lugar de recolección, altitud y coordenadas donde fueron recolectadas las especies vegetales.

Mediante la prueba dactonómica de la especie *Coriaria ruscifolia*, conocida como shanshi en Ecuador, se afirma que es un arbusto o árbol pequeño que puede alcanzar los 7 metros de altura. Forma parte de la familia *Coriariaceae*, se caracteriza por su toxicidad debido a que toda su planta es venenosa a excepción de sus pétalos (Novillo, 2021).

Figura 2*Montaje de la especie Coriaria Ruscifolia.*

Nota. En la imagen se muestra el montaje de la especie *Solanum nigrum*, que reposa en el herbario de la PUCESI

También mediante la clave dactonómica de la especie *Solanum nigrum* conocida comúnmente como Hierba mora, es una planta anual que alcanza los 30 y 80 cm de altura. Esta presenta tallos ramificados que pueden ser erectos o decumbentes, su morfología da

referencia a que incluye hojas ovado rómbicas y ovado lanceoladas que varían en tamaño de 2.5 a 7 cm por 2 a 6 cm. Las flores son hermafroditas y se agrupan en cimas racemiformes laxas con 3 a 10 flores (Andrada, 2022).

Figura 3

Montaje de la especie *Solanum nigrum*.



Nota. En la imagen se muestra el montaje de la especie *Solanum nigrum*, que reposa en el herbario de la PUCESI

5.2. Obtención de extractos totales.

Se obtuvo un extracto por cada especie vegetal de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*, en la tabla 7 se muestra el peso del extracto total obtenido aplicando de 25 g de materia vegetal seca, aplicando la Ecuación 1, donde se determinó el rendimiento del extracto total por especie.

Tabla 7*Rendimiento total de las especies Solanum nigrum y Coriaria Ruscifolia*

Especie vegetal	Materia vegetal deshidratada (g)	Extracto seco (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
<i>Solanum nigrum</i>	30	9,99	26,76
<i>Coriaria ruscifolia</i>	30	7,66	25,53

Nota. En la siguiente imagen se puede observar el rendimiento total que se obtuvo de cada una de las especies vegetales en estudio.

Con los extractos de las especies vegetales *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* se continuo a obtener las concentraciones de una manera seriada donde al extracto vegetal que contiene 500 mg/ml se añadió 1 mL de metanol para la segunda concentración que contiene 250 mg/ml se añadió 0,5 mL de metanol que se adquirió de la primera concentración, para la tercera concentración 125 mg/ ml se adquirió 0,5 ml de la segunda concentración y se añadió 0,5 ml de metanol, para la cuarta concentración 62,5 mg/ml se adquirió 0,5 de la tercera concentración y se añadió 0,5 ml de metanol y para finalizar con la quinta concentración 31,25 mg/ml se tomó 0,5 ml de la cuarta concentración y se añadió 0,5 ml de metanol.

El rendimiento total del extracto de la especie *Solanum nigrum*, presento un porcentaje de 26,76 % tal y como se muestra en la tabla 7, de igual manera la especie *Coraria ruscifolia* mantuvo un porcentaje de 25,53%, lo que demuestra que estas especies vegetales son fuentes ricas en compuestos antimicrobianas (Cowan,2017).

5.3. Porcentajes de inhibición de crecimiento bacteriano

En la tabla 8 se muestra el crecimiento bacteriano de la bacteria *Staphylococcus aureus* a las diferentes concentraciones de extracto total de *Solanum nigrum*, en donde se puede observar que a menor concentración del extracto total el crecimiento bacteriano es mayor.

Tabla 8

Porcentaje de crecimiento bacteriano de la especie vegetal Solanum nigrum.

Extracto	Concentración N°	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de crecimiento bacteriano %			Promedio % de inhibición	Desviación estándar
			Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3		
<i>Solanum nigrum</i>	T	-	4,02	3,49	5,53	4,35	1,06
	C1	500	15,33	15,00	15,21	15,18	0,17
	C2	250	22,44	26,20	26,70	25,11	2,33
	C3	125	29,85	29,40	28,65	29,30	0,61
	C4	62.5	36,38	37,70	35,48	35,19	1,36
	C5	31.25	70,68	70,90	76,15	72,58	3,10

En la tabla 9 se presenta el porcentaje de inhibición de la bacteria *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de extracto total de *Solanum nigrum*. Se observa que a una concentración de 500 mg/mL se alcanza el porcentaje de inhibición de 84,81 %. A medida que la concentración 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 27,41.

Tabla 9

Porcentaje de inhibición de la especie vegetal Solanum nigrum

Extracto	Concentración N°	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de inhibición %			Promedio % de inhibición	Desviación estándar
			Rep 1	Rep 2	Rep 3		
<i>Solanum nigrum</i>	T	-	95,98	96,51	94,47	95,65	1,06
	C1	500	84,67	84,98	84,79	84,81	0,16
	C2	250	77,56	73,76	73,30	74,87	2,34
	C3	125	70,15	70,58	71,35	70,69	0,61
	C4	62.5	63,62	66,31	64,52	64,82	1,37
	C5	31.25	29,32	29,07	23,85	27,41	3,09

En la tabla 10 se muestra el crecimiento bacteriano de la bacteria *Staphylococcus aureus* a las diferentes concentraciones de extracto total de *Coriaria ruscifolia*, 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 vegetal Coriaria ruscifolia*

Extracto	Concentraciones N°	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de crecimiento bacteriano %			Promedio % de inhibición	Desviación estándar
			Rep 1	Rep 2	Rep 3		
<i>Coriaria ruscifolia.</i>	T	-	4,02	3,49	5,53	4,35	1,06
	C1	500	25,54	25,00	23,09	24,54	1,29
	C2	250	31,43	34,50	34,18	33,37	1,69
	C3	125	38,57	40,40	39,73	39,57	0,93
	C4	62.5	42,59	46,50	48,68	45,92	3,09
	C5	31.25	65,06	66,60	64,28	65,31	1,18

En la tabla 11 se presenta el porcentaje de inhibición de la bacteria *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de extracto total de *Coriaria ruscifolia*. Se observa que a una concentración de 500 mg/mL se alcanza el porcentaje de inhibición de 75,45 %. A medida que la concentración 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 34,70.

Tabla 11*Porcentaje de inhibición de la especie Coriaria ruscifolia*

Extracto	Concentración N°	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de inhibición %			Promedio % de inhibición	Desviación estándar
			Rep 1	Rep 2	Rep 3		
<i>Coriaria ruscifolia</i>	T	-	95,98	96,51	94,47	95,65	1,06
	C1	500	74,46	74,97	76,91	75,45	1,67
	C2	250	68,57	65,46	65,82	66,62	2,89
	C3	125	61,43	59,58	60,27	60,43	0,87
	C4	62.5	54,00	53,55	51,32	52,96	2,06
	C5	31.25	34,94	33,43	35,72	34,70	1,12

5.3. Prueba de normalidad y homogeneidad de varianza.

Luego de realizada la prueba de normalidad mediante el test de Shapiro-Wilk, se determina que los datos analizados provienen de una distribución normal, debido a que los valores de probabilidad obtenidos son superiores a $p > 0,05$. De igual forma, al aplicar el test de homogeneidad de varianzas de Levene, se confirma que las variables poseen homogeneidad en sus varianzas, dado que los valores de probabilidad son también superiores a $p > 0,05$.

Tabla 12*Prueba de normalidad y homogeneidad de varianza*

Variables	Shapiro_test	p-valor	Levene test	
			F (valor crítico)	p-valor (bilateral)
Actividad microbiana (<i>Solanum nigrum</i>)	0,972	0,842	0,507	0,766
Inhibicion (<i>Solanum nigrum</i>)	0,973	0,843	0,510	0,764
Actividad microbiana (<i>Coriaria ruscifolia</i>)	0,966	0,711	0,587	0,710
Inhibicion (<i>Coriaria ruscifolia</i>)	0,942	0,313	0,067	0,996

Nota. En la siguiente tabla se muestra la prueba de normalidad y de homogeneidad de varianza.

5.3.1. Análisis de varianza de la variable capacidad microbiana in vitro de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* frente a Mastitis proveniente de bovinos en fase de lactancia

Tabla 13

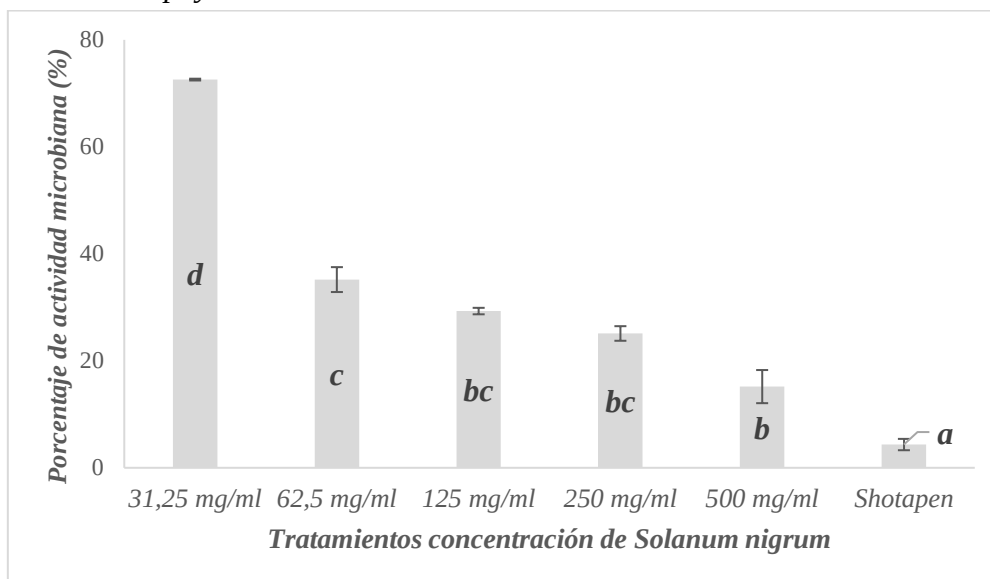
Anova de la especie *Solanum nigrum* en el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values significación codes
Modelo	5	8223,858	1644,77	536,71	<0,0001	***
Total corregido	17	8260,632				
Tratamiento	5	8223,858	1644,77	536,71	<0,0001	***
Error	12	36,774	3,06			
Promedio (%)	30,28					
CV (%)	5,78					

El Anova realizado para el porcentaje de crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* donde se evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados (valor $p < 0,0001$). Estos resultados reflejan que las diversas concentraciones del extracto tienen un impacto en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

Figura 4

Resultados de la prueba tukey de la especie *Solanum nigrum* en el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*



En la prueba Tukey para el porcentaje de actividad microbiana de *Solanum nigrum*, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones evaluadas. Las concentraciones más bajas, exhibieron una actividad microbiana considerablemente mayor en comparación con las concentraciones intermedias. Por su parte, las concentraciones más altas, mostraron una actividad significativamente reducida, posicionándose como las menos efectivas en términos de actividad microbiana. Este patrón sugiere que las concentraciones más bajas del extracto promueven un mayor crecimiento bacteriano, reflejando una menor eficacia en la inhibición de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 14

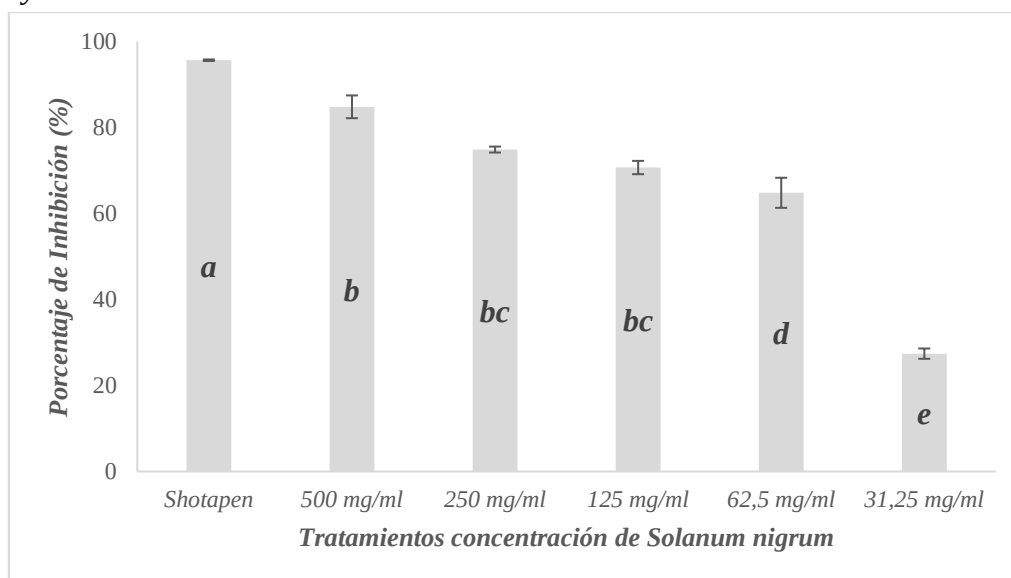
Anova de la especie *Solanum nigrum* en la inhibición bacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values significatio n codes
Modelo	5	8225,241	1645,05	536,58	<0,0001	***
Total corregido	17	8262,030				
Tratamiento	5	8225,241	1645,05	536,58	<0,0001	***
Error	12	36,789	3,07			
Promedio (%)	69,71					
CV (%)	2,51					

El ANOVA realizado para el porcentaje de crecimiento bacteriano de *Solanum nigrum* evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados (valor $p < 0,0001$). Estos resultados reflejan que las diversas concentraciones del extracto tienen un impacto en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, confirmando que el nivel de concentración del extracto afecta significativamente su capacidad en la inhibición del crecimiento.

Figura 5

Resultados de la prueba tukey de la especie *Solanum nigrum* en la inhibición de *Staphylococcus aureus*



Al comparar los resultados del test de Tukey al 5% de las concentraciones de extractos de *Solanum nigrum*, se puede afirmar que el tratamiento de el antibiótico (Shotapen) presenta el mayor porcentaje de inhibición cercano con el 95.65%, indicando la mayor eficacia antibacteriana en comparación con los tratamientos con extractos de la especie, donde el tratamiento: b 500 mg/ml (84.81 %), donde se demostró que este tratamiento fue el más efectivo para combatir a la bacteria (*Staphylococcus aureus*), mientras que los tratamientos c 250 mg/ml (74,87 %), d 125 mg/ml (70,69 %) y e 62.5 mg/ml (64,82%), mientras que el tratamiento f 31.25 (27.41%) presento el menor porcentaje de inhibición;

Afirmando que a medida que disminuye la concentración del extracto de *Solanum nigrum*, el porcentaje de inhibición decrece significativamente.

Los resultados del estudio de la especie *Solanum nigrum* muestran que hay una relación inversamente proporcional, cuando las concentraciones son altas la capacidad de inhibir la bacteria *Staphylococcus aureus* son favorables, en cambio cuando las

concentraciones van decreciendo se observa un crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* notables.

Por otra parte, las concentraciones más elevadas logran reducir significativamente el crecimiento bacteriano reflejando así la actividad de compuestos bioactivos como alcaloides y flavonoides; cuya eficiencia depende de alcanzar una concentración mínima inhibitoria (Schnur et al., 2021).

Estos hallazgos resaltan la relevancia de ajustar las concentraciones empleadas para asegurar una eficacia antimicrobiana coherente, en línea son investigaciones que enfatizan el impacto de la dosificación en la actividad antibacteriana de los extractos de plantas.

Estos resultados concuerdan con investigaciones previas que destacan la efectividad antimicrobiana de *Solanum nigrum*, la cual se debe principalmente a la presencia de compuestos bioactivos como flavonoides, alcaloides y saponinas. Estos compuestos han sido identificados como responsables de inhibir el crecimiento bacteriano y, en algunos casos, destruir membranas celulares de microorganismos patógenos (Chen et al., 2022).

En estudios similares, como el desarrollado por Abbas et al. (2014) se observaron que los extractos metanólicos de hojas de *Solanum nigrum* presentan una actividad antimicrobiana significativa contra bacterias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus*, lo que respalda los hallazgos del presente estudio.

De igual manera, se tiene el estudio desarrollado por Fonseca et al. (2013) en el cual se evaluó la actividad antibacteriana de tres diterpenos aislados de especies vegetales contra *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae* responsables de la mastitis bovina, obteniendo como resultado que alternativas naturales pueden ser capaces de reemplazar antibióticos convencionales en el tratamiento de mastitis bovina, destacando además la eficacia de metabolitos secundarios (en el presente estudio de flavonoides, alcaloides, saponinas) frente a bacterias Gram-positivas.

Conjuntamente, en el estudio de Kaseke et al. (2023) en el cual se evalúa el uso de plantas como alternativas para el control de la mastitis en ganado lechero, se obtuvo que las especies de plantas más citadas incluyeron *Allium sativum* L., *Azadirachta indica* y

Eucalyptus globulus Labill, siendo esta última la que exploró más a fondo sus componentes. Las especies microbianas que causan mastitis fueron principalmente *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los métodos de extracción utilizados incluyeron el enfoque de maceración con etanol, metanol y agua como solventes para los fitoquímicos, y técnicas cromatográficas para los aceites esenciales.

Tabla 15

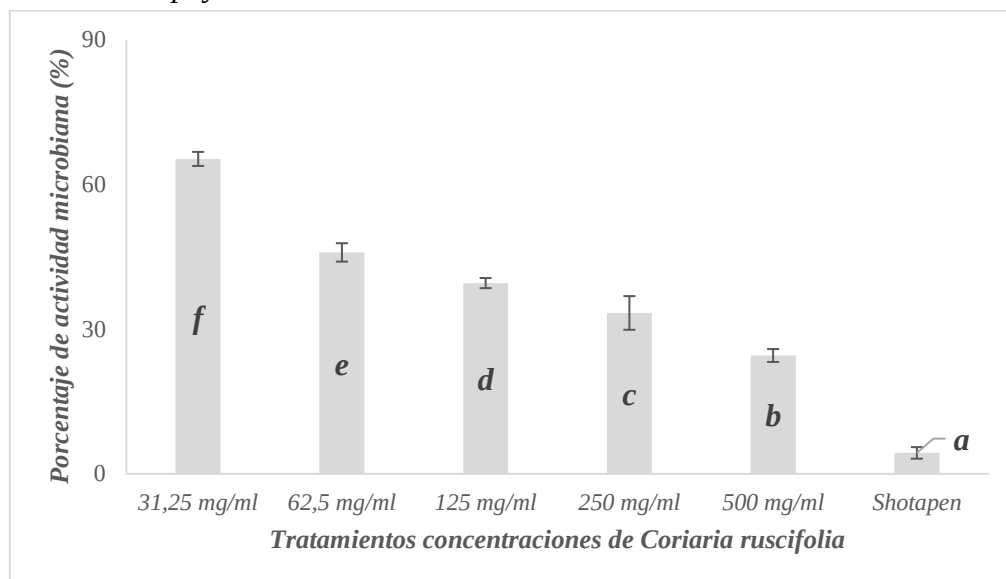
Anova de la especie *Coriaria ruscifolia* en el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>Pr > F</i>	<i>p-values significatio n codes</i>
Modelo	5	6327,400	1265,48	436,42	<0,0001	***
Total corregido	17	6362,197				
Tratamiento	5	6327,400	1265,48	436,42	<0,0001	***
Error	12	34,796	2,90			
Promedio (%)	35,51					
CV (%)	4,80					

El ANOVA realizado para el porcentaje de crecimiento bacteriano de *Coriaria ruscifolia* evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados (valor $p < 0.0001$). Estos resultados reflejan que las diversas concentraciones del extracto tienen un impacto en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

Figura 6

Resultados de la prueba de tukey de la especie *Coriaria ruscifolia* en el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*.



Una vez realizado la prueba Tukey 5%, se identificaron diferencias significativas entre los tratamientos, estos resultados sugieren que las concentraciones más elevadas del extracto de *Coriaria ruscifolia* son más efectivas para limitar el crecimiento bacteriano, destacando su potencial como agente antimicrobiano en función de la concentración aplicada.

Tabla 16

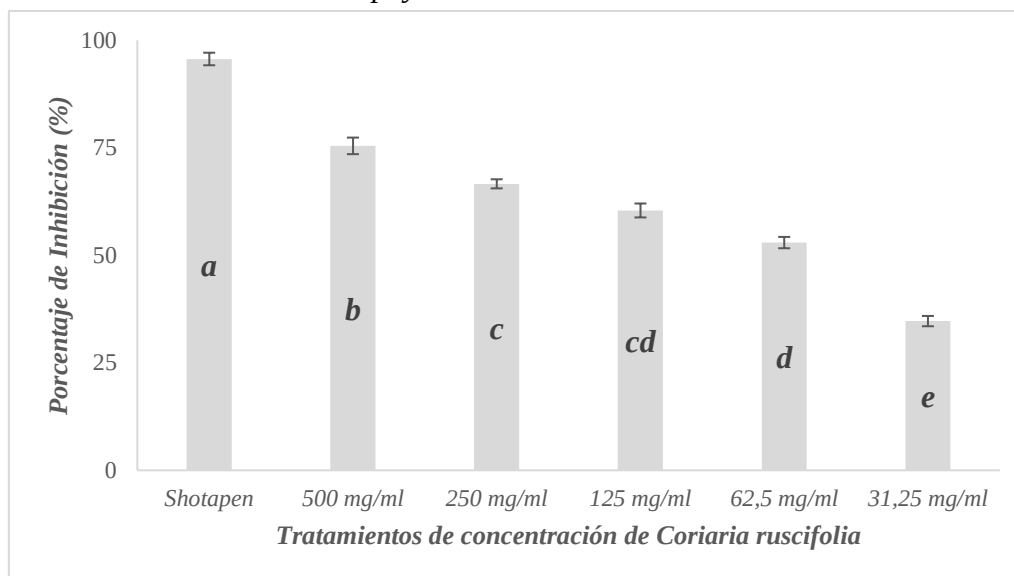
Anova de la especie *Coriaria ruscifolia* en la inhibición bacteriana de *Staphylococcus aureus*.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values significatio n codes
Modelo	5	6398,034	1279,61	769,72	<0,0001	***
Total corregido	17	6417,983				
Tratamiento	5	6398,034	1279,61	769,72	<0,0001	***
Error	12	19,949	1,66			
Promedio (%)	64,30					
CV (%)	2,01					

El ANOVA realizado en relación al porcentaje de inhibición bacteriana de la planta *Coriaria ruscifolia* reveló diferencias significativas entre los distintos tratamientos evaluados (valor $p < 0,0001$). Estos hallazgos indican que las diferentes concentraciones del extracto presentan efectos en la inhibición del crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*.

Figura 7

Resultados de la prueba de tukey de la especie *Coriaria ruscifolia* en el pocertanje de inhibición bacteriana de *Staphylococcus aureus*.



Al comparar los resultados del test de Tukey 5% de las concentraciones de extractos de *Coriaria ruscifolia*, se puede afirmar que el tratamiento del antibiótico el (Shotapen) muestra el mayor porcentaje de inhibición, con el 95.65%, indicando que tiene la mayor eficacia antibacteriana en comparación con los tratamientos con extractos de la especie *Coriaria ruscifolia* donde el tratamiento: b 500 mg/ml (75.45 %) fue el extracto que obtuvo el mejor rendimiento contra la bacteria, mientras que los tratamientos c 250 mg/ml (66.62 %), d 125 mg/ml (60.43 %) y 62.5 (52.96 %) no demostraron diferencias significativas, mientras que el tratamiento f 31.25 (34.70%) presento el menor porcentaje de inhibición frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*. Con el extracto de *Coriaria ruscifolia* se observa una reducción progresiva en la inhibición a medida que disminuye la concentración.

La especie *Coriaria ruscifolia* se encontró una relación inversamente proporcional entre la inhibición del crecimiento bacteriano y la concentración del extracto; esta tendencia se mantuvo constante a lo largo del estudio realizado. A medida que aumentaba la concentración del extracto se observaba una mayor inhibición en el crecimiento de

Staphylococcus aureus; esto sugiere que los metabolitos secundarios como los taninos y las antocianinas ejercen un efecto directo sobre la membrana celular bacteriana.

Por otro lado, las concentraciones más bajas no tuvieron un impacto significativo; lo cual destaca la importancia de utilizar dosificaciones adecuadas para maximizar el efecto antimicrobiano.

Este hallazgo indica que *Coriaria ruscifolia* podría tener un mayor efecto como agente antibacteriano en comparación a *Solanum nigrum* cuando se administra a dosis más elevadas; además concuerda con investigaciones que han destacado la influencia de la concentración en la efectividad de extractos ricos en polifenoles.

El estudio de Sosa et al. (2022) en el cual se ha determinado que el uso de extractos etanólicos de plantas como *Ibervillea sonora*, *Populus alba*, *Ambrosia ambrosioides*, *Krameria sonora* y *Prosopis velutina* han sido efectivos para contrarrestar varios patógenos aislados incluido el *S. aureus*, *Streptococcus* spp. de leche de vacas con mastitis utilizando una concentración de 50 mg/ml de cada extracto.

En el estudio de Arbab et al. (2022) el cual destacó el uso de extractos de plantas como alternativas prometedoras a los antibióticos para combatir la mastitis en el ganado lechero particularmente frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Entre las plantas evaluadas, los extractos de bálsamo de limón (*Melissa officinalis*) y aceite esencial mostraron una alta actividad antimicrobiana, con zonas de inhibición de hasta 23 mm para *S. aureus* y 20 mm para *E. coli*. Estos hallazgos refuerzan el potencial de los extractos vegetales como tratamientos naturales efectivos, especialmente en condiciones de resistencia a los antibióticos.

De acuerdo con (Vargas, 2018), la actividad antimicrobiana se atribuye a la presencia de flavonoides como la quercetina y avicularina, que son conocidos por sus efectos beneficiosos contra microorganismos; además los terpenos tienen la capacidad de cambiar la integridad de las membranas bacterianas, existen investigaciones de la misma familia como la *Coriaria nepalensis* donde se ha demostrado que esta especie posee propiedades antimicrobianas, por lo tanto la planta *Coriaria ruscifolia* tiene características similares, donde se demostró que los extractos metanólicos de las hojas inhiben la actividad antimicrobiana.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

- La especie *Solanum nigrum* reportó un rendimiento total de 26,76%, mientras que la especie *Coriaria ruscifolia* presentó un rendimiento total del 25.53%.
- El extracto total de *Coriaria ruscifolia* demostró una alta capacidad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*. La concentración más alta (500 mg/ml) mostró una inhibición del 75,45%, mientras que a la concentración más baja (31,25 mg/ml) presentaron un 34,70% de inhibición. Estos resultados confirman que la efectividad del extracto está directamente relacionada con la concentración aplicada.
- El extracto total de *Solanum nigrum* demostró una alta capacidad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*. La concentración más alta (500 mg/ml) mostró una inhibición del 84,81%, mientras que a la concentración más baja (31,25 mg/ml) presentaron un 27,41% de inhibición. Estos resultados confirman que la efectividad del extracto está directamente relacionada con la concentración aplicada.
- Los extractos totales de las especies vegetales *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia* inhibieron el crecimiento bacteriano en todas las concentraciones evaluadas. Estos resultados destacan su potencial como fuente de compuestos activos, con posibilidades para el desarrollo de antimicrobianos de origen natural. Dichos compuestos podrían ser de gran utilidad en el ámbito ganadero, brindando una alternativa viable para disminuir el uso de antibióticos comerciales.

CAPITULO VII

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios orientados al aislamiento, purificación e identificación de los compuestos activos responsables de la actividad antimicrobiana. Esto permitirá comprender mejor los mecanismos de acción y facilitará el desarrollo de nuevos antimicrobianos de origen natural.

- Es importante ampliar la investigación para evaluar la eficacia de los extractos totales frente a diversas cepas bacterianas, incluidas aquellas resistentes a antibióticos. Además, se sugiere estudiar posibles efectos sinérgicos al combinar los extractos con antibióticos convencionales, lo que podría mejorar su efectividad y reducir la dosis necesaria de los medicamentos comerciales.

CAPITULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, K., Niaz, U., Hussain, T., Saeed, M., Javaid, Z., Idrees, A., & Rasool, S. (2014). Antimicrobial activity of fruits of *Solanum nigrum* and *Solanum xanthocarpum*. *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*, 71(3), 415–421.
- Aldás, B. (2019). *Potencial bactericida o bacteriostático del veneno de abejas (Apis mellifera) para microorganismos causantes de mastitis clínica en vacas lecheras*.
- Andrade, S. (2023). Plantas medicinales poco comunes de la Provincia de Chimborazo.
- Arbab, S., Ullah, H., Bano, I., Li, K., Ul Hassan, I., Wang, W., Qadeer, A., & Zhang, J. (2022). Evaluation of in vitro antibacterial effect of essential oil and some herbal plant extract used against mastitis pathogens. *Veterinary Medicine and Science*, 8(4), 2655-2661. <https://doi.org/10.1002/vms3.959>
- Bedolla, L. (2018). *Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera*.
- Calderón, G. (2017). *Flora del bajío y regiones adyacentes*. Instituto de Ecología.
- Campaña, A. (2021). Propuestas de métodos de preservación para *Staphylococcus aureus*. *Scielo*, 52(2). <https://doi.org/2221-2450>
- Castadeña, W. (2022). La mastitis bovina. *Hesse*.
- Chang, L. (2013). Caracterización fitoquímica y la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de hojas y tallos de *Solanum nigrum* L. *Scielo*.
- Chen, X., Dai, X., Liu, Y., Yang, Y., Yuan, L., He, X., & Gong, G. (2022). *Solanum nigrum* Linn.: An insight into current research on traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, 13(918071). <https://doi.org/10.3389/fphar.2>
- Corpoica. (2012). *Los residuos de medicamentos de leche problemática y estrategias para su control*.

- Criollo, D. (2017). Evaluación de la actividad antibacteriana de la Sancia en animales. *Udemar*.
- Cruz, A., & Estepa, C. (2017). Identificación de bacterias causantes de mastitis bovina y su resistencia ante algunos antibacterianos. *udca*.
- Erskine, R. (2020). *Mastitis en el ganado vacuno*.
- Escamilla, B., & Moreno, P. (2015). *Plantas medicinales*.
- Galarza, M. (2021). Staphylococcus aureus Resistentes a meticilina en animales de granja en Suramérica: una revisión sistemática. *Scielo*.
- García, E. (2018). *Prácticas de microbiología*.
- Gasque, R. (2007). *Enciclopedia Bovina*.
- Ghane, M., Babaekhou, L., & Shams, M. (2022). Antimicrobial activity of Rhus coriaria L. and Salvia urmiensis Bunge against some food-borne pathogens and identification of active components using molecular networking and docking analyses. *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.08221>
- Hamdan, A. (2015). Identificación de Staphylococcus aureus utilizando como marcadores los genes nucA y femB. *El sevier*. <https://doi.org/10.1016/j.cc.2016.02.002>
- Herrera, C. (2014). *Mastitis bovina causada por Staphylococcus coagulasa negativos*.
- Ipiates, V. (2021). *Estudio farmacognóstico de las partes aéreas de Coriaria ruscifolia L.*
- Jerves, L. (2021). Uso de plantas medicinales y conocimientos ancestrales. *Scielo*, 52(3). <https://doi.org/2221-2450>
- Leal, M. (2014). Eficacia antibacteriana de extractos de plantas: aplicación clínica en mastitis bovina. *Scielo*.
- Mandal, V. (2023). Solanum Nigrum Linn: An analysis of the medicinal properties of the plant. <https://doi.org/https://doi.org/10.47750/pnr.2023.14.S02.194>
- Martínez, M. (2024). Actividad antimicrobiana e irritabilidad vaginal y dérmica de extractos acuosos de hojas secas de Solanum nigrum. *Scielo*.

- Mellenberger, R. (2016). Vacas lecheras infectadas con *Staphylococcus aureus*. *Producción animal*.
- Mercado, D. (2019). Determinación de mastitis subclínica mediante la prueba Mastitis California Test (CMT) y la correlación del período de lactancia del animal con los cuartos mamarios afectados en bovinos (*Bos indicus* y cruces).
- Mycofix. (2011). *Firmenich*. Firmenich: <https://www.dsm-firmenich.com/anh/es/challenges/supporting-animal-health/mastitis.html>
- Osamah, R. (2024). Terapia fotodinámica antimicrobiana con láser de baja potencia de 650 nm para inhibir la actividad oral de *Candida albicans* : un estudio in vitro. *Journal of medicine and life*. <https://doi.org/10.25122>
- Osejo, M. (2020). Actualización de la clasificación y manejo de mastitis. *Revista médica sinergia*. <https://doi.org/https://doi.org/10.31434/rms.v5i6.510>
- Peréz, J. (2020). Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Jatropha dioica* Seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. *Scielo*(49). <https://doi.org/1405-2768>
- Picazo, J. (2016). *Procedimientos en microbiológica*.
- Quisphe, K. (2022). *Principales agentes bacterianos de la Mastitis Bovina*.
- Ramírez, L. (2010). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Technica*. <https://doi.org/0122-1701>
- Ramón, G. (2015). Mastitis bovina. *Producción animal*.
- Realpe, V. (2014). *Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de la hierba mora (solanum nigrum) para usos medicinales utilizando el principio activo (Solanina), en la Parroquia de Santa Bárbara-Cantón Sucumbiós*. Ibarra.
- Reyes, A. (2020). *Revisión sistemática de Solanum americanum (hierba mora) de interés farmacéutico*. Universidad María Auxiliadora.
- Rodríguez, D. (2024). Identificación de bacterias causantes de mastitis clínica en bovinos. *UPAO*.

- Rosales, C. (2011). Evaluación de niveles de nitrógenos, fósforo, potasio y cuantificación de la absorción de macronutrientes en cuatro cortes para el cultivo de hierba mora.
- Ruiz, L. (2018). Diagnóstico de mastitis subclínica de vacunos lecheros mediante el conteo de células somáticas empleando dos métodos diagnósticos. *Realyc*.
- Sanchez, D. (2007). *Control de mastitis causada por staphylococcus en bovinos de raza holstein utilizando una bacteria autógena*.
- Schnur, S. E., Amachawadi, R. G., Baca, G., Sexton-Bowser, S., Rhodes, D. H., Smolensky, D., Herald, T. J., Perumal, R., Thomson, D. U., & Nagaraja, T. G. (2021). Antimicrobial activity of sorghum phenolic extract on bovine foodborne and mastitis-causing. *Antibiotics (Basel)*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050594>
- SIPSA. (2014). La mastitis bovina, enfermedad infecciosa de gran impacto en la producción lechera. *DANE*.
- Sosa, J., Manzanarez, C., Valdez, R., Ibarra, C., Osuna, R., & Rueda, E. (2022). Actividad antimicrobiana de plantas nativas de Sonora, México, contra bacterias patógenas aisladas de leche de vaca. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 13(2). <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i2.6017>
- Tatés, V. (2018). *Evaluación del efecto antibiótico del extracto de la planta medicinal más usada en mastitis bovina en la provincia de Imbabura*.
- Tello, E. (2020). Uso medicinal de *Solanum nigrum* y su relación con la presencia de metabolitos secundarios. *Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado"*.
- Trujillo, G. (2014). Evaluación de la actividad antifúngica de la sancia (*Coriaria Ruscifolia*. L), como tratamiento in vitro de dermatofitosis causada por *Trichophyton* sp. En cuyes (*Cavia porcellus*). *Sired*.
- Villarreal, A. (2023). *Staphylococcus aureus*. *Universidad de Navarra*.

ANEXOS

Anexo 1

Tratamientos y repeticiones de *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*.

	Tratamiento	Repeticio n	% crecimient o bacteriano (<i>Solanum nigrum</i>)	% Inhibició n bacterian a (<i>Solanum nigrum</i>)	% crecimient o bacteriano (<i>Coriaria ruscifolia</i>)	% Inhibició n bacterian a (<i>Coriaria ruscifolia</i>)
500 mg/ml	1	1	15,33	84,67	25,54	74,46
	1	2	15,00	84,98	25,00	74,97
	1	3	15,21	84,79	23,09	76,91
250 mg/ml	2	1	22,44	77,56	31,43	68,57
	2	2	26,20	73,76	34,50	65,46
	2	3	26,70	73,30	34,18	65,82
125 mg/ml	3	1	29,85	70,15	38,57	61,43
	3	2	29,40	70,58	40,40	59,58
	3	3	28,65	71,35	39,73	60,27
62,5 mg/ml	4	1	36,38	63,62	42,59	54,00
	4	2	33,70	66,31	46,50	53,55
	4	3	35,48	64,52	48,68	51,32
31,25 mg/ml	5	1	70,68	29,32	65,06	34,94
	5	2	70,90	29,07	66,60	33,43
	5	3	76,15	23,85	64,28	35,72
Penicilina (Shotapen)	6	1	4,02	95,98	4,02	95,98
	6	2	3,49	96,51	3,49	96,51
	6	3	5,53	94,47	5,53	94,47

Anexo 2

Análisis molecular de *Staphylococcus aureus*.



Av. De los Granados E14-285 y Eloy Alfaro
Teléfono: 0998982450
e-mail: idgen.ecuador@gmail.com
R.U.C. 1713443479001

Informe de Resultados

Nombre del Proyecto: Identificación molecular de bacterias – Menie Mora

Informe No.: A-412

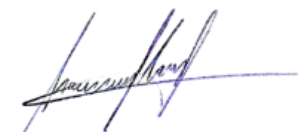
Técnico Responsable: Sofía Garrido, Ing.

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	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: 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 3

Recolección de especie *Solanum nigrum*



Anexo 4**Recolección de especie *coriaria ruscifolia*****Anexo 5****Desinfección de la especie *Solanum nigrum*****Anexo 6****Desinfección de la especie *Coriaria Ruscifolia***

Anexo 7

Etapla 1 de secado de las especies vegetales



Anexo 8

Etapla 2 de secado de las especies vegetales



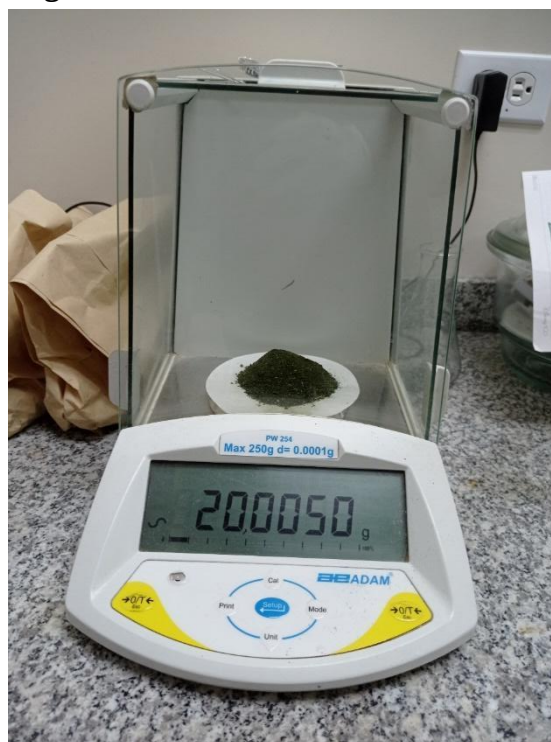
Anexo 9

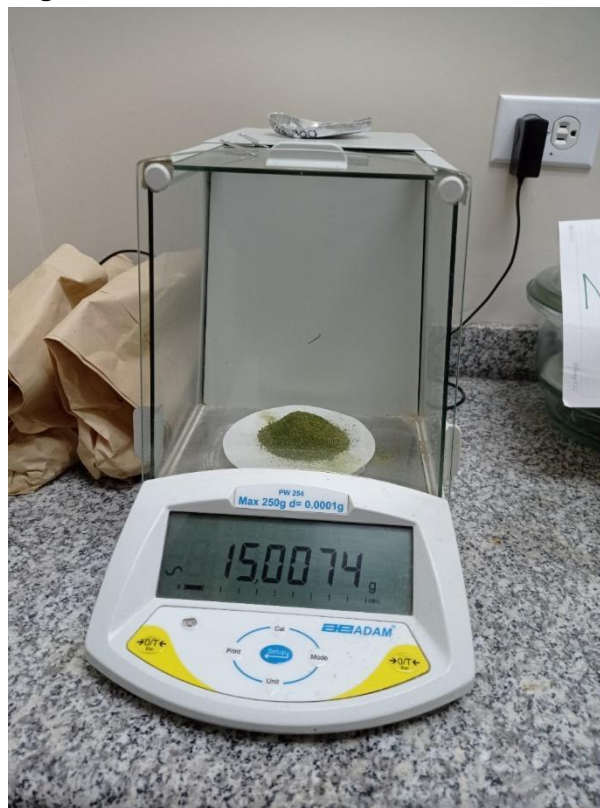
Clasificación de las especies vegetales



Anexo 10**Trituración de las especies vegetales****Anexo 11****Pre-trituración de la especie *Solanum nigrum***

Anexo 12**Pre-trituración de la especie *Coriaria ruscifolia*****Anexo 13*****Solanum nigrum* triturada.**

Anexo 14***Coriaria ruscifolia* triturada****Anexo 15****Pesaje de las especies vegetales**

Anexo 16**Pesajes de las especies vegetales****Anexo 17****Maceración dinámica**

Anexo 18**Filtración de *Coriaria ruscifolia*****Anexo 19****Filtración de *Solanum nigrum***

Anexo 20

Especies vegetales filtradas



Anexo 21

Obtención de extractos mediante rotavapor



Anexo 22

Obtención de extractos



Anexo 23

Extractos obtenidos de las especies vegetales *Solanum nigrum* y *Coriaria ruscifolia*.



Anexo 24
Espectofometria

