

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

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

“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL EXTRACTO TOTAL DE (*Ambrosia arborescens*) COMO ALTERNATIVA NATURAL A LOS ANTIBIÓTICOS CONVENCIONALES PARA EL CONTROL DE LA MASTITIS BOVINA CAUSADA POR (*Staphylococcus aureus*) *IN VITRO*”.

KAREN ALEJANDRA FORERO VARGAS

TUTOR: Dra. YADIRA FERNANDA ORDÓÑEZ VIVANCO

IBARRA – ECUADOR

AGOSTO, 2025

Ibarra, 19 de julio de 2025

CERTIFICACIÓN TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de integración curricular titulado: “Evaluación de la eficacia del extracto total de (*Ambrosia arborescens*) como alternativa natural a los antibióticos convencionales para el control de la mastitis bovina causada por (*Staphylococcus aureus*) In vitro”, presentado por la estudiante KAREN ALEJANDRA FORERO VARGAS con cédula de identidad N°1711903250, para obtener el Título de Ingeniera 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.

Tesis Karen Forero			
INFORME DE ORIGINALIDAD			
3%	3%	1%	0%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
FUENTES PRIMARIAS			
1	roderic.uv.es Fuente de Internet		<1%
2	vdocuments.es Fuente de Internet		<1%
3	www.asianinstituteofresearch.org Fuente de Internet		<1%
4	www.clubensayos.com Fuente de Internet		<1%
5	www.geinspectiontechnologies.com Fuente de Internet		<1%
6	www.hondurassilvestre.com Fuente de Internet		<1%

(f):



Dra. YADIRA FERNANDA ORDÓÑEZ VIVANCO

TUTOR DE TRABAJO

C.C.: 1103764864

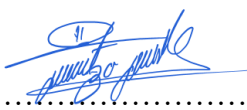
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

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

(f): 

Dra. Yadira Fernanda Ordóñez Vivanco

C.C.: 1103764864

(f): 

Msc. Maritza de los Ángeles Mier Quiroz

C.C.:1002878286

(f): 

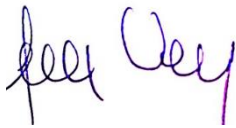
PhD. José Valdemar Andrade Cadena

C.C.: 1001927167

Ibarra, 19 de julio de 2025

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

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



(f): _____

Karen Alejandra Forero Vargas

C.C.: 1711903250

AUTORÍA

Yo, *Karen Alejandra Forero Vargas*, portadora de la cedula de ciudadanía N° 1711903250, declaro que el presente trabajo de investigación es de total responsabilidad de la autora, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



(f) :.....

Karen Alejandra Forero Vargas

C.C.: 1711903250

DEDICATORIA

A mi amada hija Violeta, fuente de inspiración y amor incondicional. Tu presencia en mi vida me ha dado fuerzas para superar cada desafío y seguir adelante con este proyecto. Este logro es también tuyo, porque cada sonrisa y cada palabra de aliento me han acompañado en el camino.

Karen Forero

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi familia, cuyo apoyo incondicional ha sido fundamental en cada etapa de este proyecto. A mi hija, por ser la fuente constante de mi motivación y alegría. Su comprensión y aliento me han dado la fuerza para continuar, incluso en los momentos más difíciles.

Agradezco también profundamente a mis docentes, quienes, con su dedicación y sabiduría, me han guiado a lo largo de mi formación académica. A cada uno de ellos, por compartir sus conocimientos y brindarme herramientas valiosas para crecer profesionalmente. Su compromiso con la educación ha sido una fuente de inspiración y una pieza clave para este logro.

Karen Forero

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO

CERTIFICACIÓN TUTOR	ii
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS	iv
AUTORIA	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	13
ABSTRACT	14
CAPÍTULO I	15
INTRODUCCIÓN	15
CAPITULO II	18
OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo General	18
2.2 Objetivo específico	18
2.3 Hipótesis	18
CAPITULO III	19
ESTADO DEL ARTE	19
3.1 Antecedentes mastitis bovina	19
3.1.1 Mastitis bovina y su impacto en la industria ganadera	21
3.1.2 <i>Staphylococcus aureus</i> y su resistencia a los antibióticos	23
3.2 <i>Ambrosia arborescens</i>	24
3.2.1 Propiedades medicinales de <i>Ambrosia arborescens</i>	26
3.2.2 Potencial terapéutico integral de <i>Ambrosia arborescens</i>	28
3.2.3 Alternativas naturales a los antibióticos convencionales en el tratamiento de la mastitis bovina	33
3.2.4 Composición y compuestos bioactivos de <i>Ambrosia arborescens</i>	34
3.2.5 Otros compuestos bioactivos de <i>Ambrosia arborescens</i>	35
3.2.6 Mecanismos de acción de los compuestos bioactivos de <i>Ambrosia arborescens</i>	

contra <i>Staphylococcus aureus</i> y su potencial terapéutico.....	36
3.3 Otros usos medicinales de <i>Ambrosia arborescens</i>	38
CAPITULO IV	40
MATERIALES Y MÉTODOS	40
4.1 Materiales	40
4.1.1 Equipos	40
4.1.2 Reactivos.....	40
4.1.3 Materiales.....	40
4.1.4 Material biológico.....	41
4.2 Fase de campo	41
4.3 Fase de laboratorio.....	43
4.4 Variables	43
4.4.1 Variables independientes	43
4.4.2 Variables dependientes	43
4.5 Diseño experimental	44
4.6 Análisis funcional	44
4.7 Unidades experimentales.....	44
4.8 Tratamientos	44
4.9 Esquema del ANOVA	45
4.10 Manejo específico del experimento	46
4.10.1 Recolección e identificación taxonómica de la especie	46
4.10.2 Extracción de compuestos bioactivos de <i>Ambrosia arborescens</i>	47
4.10.3 Aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	49
4.10.4 Identificación morfológica de <i>Staphylococcus aureus</i>	50
4.10.5 Pruebas bioquímicas	51
4.10.6 Caracterización molecular de <i>Staphylococcus aureus</i>	52
4.10.7 Determinación de la actividad biológica del extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i>	53
4.10.8 Determinación de la concentración mínima inhibitoria del extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i> por método de micro dilución	53
CAPITULO V	55
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
5.1 Porcentaje de rendimiento del extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i>	55
5.2 Caracterización morfológica de <i>Staphylococcus aureus</i>	55
5.3 Pruebas bioquímicas	56
5.4 Caracterización molecular de <i>Staphylococcus aureus</i>	57

5.5 Prueba de normalidad y varianza.....	57
5.6 Análisis de varianza de la variable Porcentaje de crecimiento bacteriano mediante aplicación de dosis de extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i>	58
5.7 Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la utilización de extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> , aislada de bovinos de leche con mastitis.	59
5.8 Análisis de varianza de la variable Porcentaje de inhibición mediante aplicación de dosis de extracto total de Marco (<i>Ambrosia arborescens</i>)	63
5.9 Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de inhibición mediante la utilización de extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> , aislada de bovinos de leche con mastitis.....	64
CAPÍTULO VI.....	69
CONCLUSIONES	69
CAPÍTULO VII	71
RECOMENDACIONES	71
CAPÍTULO VIII.....	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXOS.....	89

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Ambrosia arborescens</i>	25
Tabla 2. Área de recolección de la especie.....	42
Tabla 3. Concentraciones de extractos vegetales de <i>Ambrosia arborescens</i>	45
Tabla 4. Anova de <i>Ambrosia arborescens</i>	45
Tabla 5. Porcentaje de rendimiento de extracto.....	55
Tabla 6. Pruebas bioquímicas de <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Tabla 7. Identificación molecular de aislados de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Tabla 8. Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas.....	58
Tabla 9. Análisis de varianza de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano (%) del extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i>	58
Tabla 10. Porcentaje de crecimiento bacteriano con el uso de extractos de <i>Ambrosia arborescens</i>	61
Tabla 11. Análisis de varianza de la variable inhibición de crecimiento bacteriano (%) del extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i>	63
Tabla 12. Porcentaje de inhibición bacteriana con el uso de extractos de <i>Ambrosia arborescens</i>	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ambrosia arborescens</i> (Marco)	25
Figura 2. Ubicación Geográfica recolección de especie <i>Ambrosia arborescens</i>	42
Figura 3. Muestras recolectadas de <i>Ambrosia arborescens</i>	47
Figura 4. Preparación de extracto.....	48
Figura 5. Pruebas bioquímicas.....	52
Figura 6. Diluciones de extracto total de <i>Ambrosia arborescens</i>	53
Figura 7. Representación gráfica de la prueba Tukey de porcentaje de crecimiento microbiano del extracto total de la especie <i>Ambrosia arborescens</i>	60
Figura 8. Representación gráfica de la prueba Tukey de inhibición bacteriana del extracto total de la especie <i>Ambrosia arborescens</i>	65

RESUMEN

Esta investigación se fundamenta en el uso tradicional del *Marco* (*Ambrosia arborescens*) en la Sierra ecuatoriana como planta medicinal, valorada por sus propiedades antiinflamatorias, cicatrizantes y antimicrobianas. Estos efectos terapéuticos se atribuyen a la presencia de compuestos bioactivos como lactonas sesquiterpénicas, flavonoides, compuestos fenólicos y aceites esenciales, los cuales han demostrado actividad frente a bacterias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus*. El presente estudio evaluó la actividad antimicrobiana del extracto metanólico total de *A. arborescens* frente a *S. aureus*, una bacteria de importancia clínica en casos de mastitis bovina en sistemas de producción lechera. Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), con diferentes concentraciones del extracto (500, 250, 125, 62.5 y 31.25 mg/mL), los mismos se obtuvieron mediante maceración dinámica con metanol como solvente y aplicadas *in vitro* en placas de microtitulación de 96 pocillos inoculadas con cepas de *S. aureus* a una concentración de 1.5×10^8 UFC/mL. Como controles se utilizaron un antibiótico comercial (positivo) y metanol (negativo). La inhibición del crecimiento bacteriano se determinó mediante espectrofotometría tras 18 horas de incubación. El análisis estadístico mediante ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0.05$) evidenció diferencias significativas entre tratamientos, destacando la concentración de 500 mg/mL con una inhibición del 78.75%. Los resultados obtenidos respaldan el potencial antimicrobiano de *A. arborescens*, lo cual fortalece su uso etnobotánico y la posiciona como una alternativa natural y sostenible para el control de la mastitis bovina.

Palabras clave: actividad antimicrobiana, *Ambrosia arborescens*, compuestos bioactivos, *Staphylococcus aureus*, Mastitis bovina

ABSTRACT

This study is based on the traditional use of Marco (*Ambrosia arborescens*) in the Ecuadorian highlands as a medicinal plant valued for its anti-inflammatory, healing, and antimicrobial properties. These therapeutic effects are attributed to the presence of bioactive compounds such as sesquiterpene lactones, flavonoids, phenolic compounds, and essential oils, which have shown activity against Gram-positive bacteria like *Staphylococcus aureus*. The objective of this research was to evaluate the antimicrobial activity of the total methanolic extract of *A. arborescens* against *S. aureus*, a clinically relevant pathogen in bovine mastitis in dairy production systems. A completely randomized design (CRD) was used, with six treatments: five extract concentrations (500, 250, 125, 62.5, and 31.25 mg/mL), obtained by dynamic maceration with methanol, and one commercial antibiotic as positive control. Treatments were applied *in vitro* in 96-well microtiter plates inoculated with *S. aureus* strains at 1.5×10^8 CFU/mL. Methanol was used as negative control. Bacterial growth inhibition was determined by spectrophotometry after 18 hours of incubation. Statistical analysis using ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$) showed significant differences among treatments, with 500 mg/mL achieving the highest inhibition (78.75%). The results support the antimicrobial potential of *A. arborescens* and reinforce its ethnobotanical value as a natural and sustainable alternative for controlling bovine mastitis.

Keywords: Antimicrobial activity, *Ambrosia arborescens*, bioactive compound, *Staphylococcus aureus*, Bovine mastitis.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es una de las enfermedades más comunes y costosas en la industria láctea mundial, generando pérdidas económicas estimadas entre 15,000 y 25,000 millones de dólares anuales a nivel global (Nájera et al., 2021). Afecta directamente la producción de leche, reduciendo hasta un 25-30% del rendimiento lácteo, y compromete la salud animal; esta afección suele ser causada por diversos patógenos, incluido *Staphylococcus aureus*, que representa aproximadamente el 30% de los casos de mastitis en rebaños lecheros (González et al., 2023). *S. aureus* se considera una de las principales bacterias patógenas debido a su elevada patogenicidad y creciente resistencia al tratamiento antibiótico convencional (Benavides, 2022). En Ecuador, el desafío sanitario de la mastitis ha provocado enormes pérdidas económicas y pérdida de calidad de la leche, afectando la competitividad de la industria lechera debido a que el uso intensivo de antibióticos en el manejo de esta enfermedad ha provocado un aumento alarmante de la resistencia bacteriana, lo que agrava aún más el problema; esta situación pone en evidencia la necesidad urgente de explorar tratamientos alternativos, más sostenibles y menos perjudiciales para la salud pública (García, 2024). En este contexto, la investigación de alternativas naturales, como el extracto de *Ambrosia arborescens*, se presenta como una vía potencialmente valiosa para mitigar el uso de antibióticos y controlar la mastitis bovina de manera más eficaz y responsable (Barkema et al., 2020)

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en uno de los problemas más críticos en la medicina veterinaria y la salud pública mundial; en el caso de la mastitis bovina, la dependencia de los antibióticos tradicionales para tratar las infecciones por *S. aureus* pone en riesgo la salud animal y la seguridad alimentaria, lo que obliga a la industria láctea a buscar soluciones más seguras y efectivas (Fernández, 2020). El Marco, una planta conocida por sus propiedades antimicrobianas y útil para tratar una variedad de infecciones bacterianas, está surgiendo como una terapia alternativa prometedora que no sólo podría reducir la carga de antibióticos en la ganadería, sino también proporcionar un enfoque de tratamiento más sostenible que esté en línea con las prácticas agrícolas

convencionales (Guerrero, 2021). Esta investigación, al explorar la eficacia de dicho extracto, tiene el potencial de transformar el enfoque hacia la salud animal, promoviendo prácticas más responsables y ecológicas, sin comprometer la calidad de la producción lechera (Sharma et al., 2020). La importancia de este estudio radica en su capacidad para contribuir a la sostenibilidad del sector ganadero ecuatoriano, brindando a los productores una opción natural y accesible para el tratamiento de una enfermedad que afecta profundamente la productividad y la economía del país (Rodríguez et al., 2022).

El objetivo de esta investigación fue la evaluación de la eficacia del extracto total de *A. arborescens* como alternativa natural frente a los antibióticos convencionales en el control de la mastitis bovina causada por *S. aureus*, en condiciones de laboratorio.

En la siguiente investigación 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, donde las muestras de leche utilizadas estaban infectadas con *S. aureus* y se obtuvieron de vacas diagnosticadas con mastitis (Pérez et al., 2023). El extracto de *A. arborescens* fue extraído mediante un proceso de maceración dinámica, seguido de un evaporador rotatorio para obtener el extracto total, asegurando la preservación de sus compuestos bioactivos (López & Castro, 2020). La actividad antimicrobiana de los extractos se evaluó mediante mediciones de densidad óptica en placas micro titulación de 96 pocillos utilizando un lector de microplacas de 625 nm, midiendo el diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano en comparación con los antibióticos tradicionales utilizados para tratar la mastitis, como la penicilina. Las concentraciones bacterianas se estandarizaron utilizando la escala McFarland para garantizar condiciones experimentales consistentes (Nieto et al., 2016). Por otra parte, se utilizó agar manitol salado para sembrar bacterias, ya que permite diferenciar estafilococos por su capacidad de fermentar manitol, lo que cambia el color del medio de rojo a amarillo, se esterilizó en autoclave junto con 20 placas Petri y luego se vertieron 20 ml en cada una (Mendoza et al., 2021). Una vez solidificado el agar, se sembró 1 ml de leche por placa, se sellaron y se incubaron a 37 °C por 24 horas, al finalizar, se observó el crecimiento bacteriano, que posteriormente se envió a laboratorio para la caracterización de la bacteria (Rojas & Díaz, 2020).

Se espera que los resultados de esta investigación revelen si el extracto de *A. arborescens* tiene una actividad antimicrobiana significativa frente a *S. aureus*,

comparable o superior a la de los antibióticos convencionales (Ortiz, 2024). Se evaluó la eficacia relativa entre los tratamientos y se determinará si el extracto de *A. arborescens* puede ser una alternativa viable a los antibióticos convencionales para el control de la mastitis bovina (Páez, 2020).

Se anticipa que los resultados de este estudio proporcionarán evidencia de que el extracto de *A. arborescens* presenta una actividad antimicrobiana importante contra *S. aureus*, lo que podría situarlo como una alternativa viable para el tratamiento de la mastitis bovina (Gómez et al., 2020). En caso de que los resultados confirmen la eficacia del extracto, se recomendaría su inclusión como un tratamiento complementario o sustituto de los antibióticos tradicionales en la ganadería, especialmente en contextos donde la resistencia antimicrobiana es un problema crítico (Cárdenas, 2022). Las conclusiones de este trabajo contribuyen significativamente a la mejora de las prácticas de manejo de la mastitis en el sector ganadero ecuatoriano, proporcionando una solución más sostenible, accesible y menos perjudicial para el medio ambiente y la salud pública (Méndez et al., 2021).

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar la eficacia antimicrobiana del extracto total de Marco (*Ambrosia arborescens*) como alternativa natural a los antibióticos convencionales para el control de *Staphylococcus aureus* en el contexto de mastitis bovina, mediante ensayos *in vitro*.

2.2 Objetivo específico

- Identificar botánicamente la especie vegetal (*Ambrosia arborescens*) mediante salidas de campo para su posterior clasificación taxonómica.
- Determinar el rendimiento del extracto total de Marco (*Ambrosia arborescens*).
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto total del Marco (*Ambrosia arborescens*) contra *Staphylococcus aureus*.

2.3 Hipótesis

- Hipótesis nula (H0): El extracto total de Marco (*Ambrosia arborescens*) no tiene un efecto significativo en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* ni en el control de la mastitis bovina en comparación con los tratamientos convencionales con antibióticos.
- Hipótesis alternativa (H1): El extracto total de Marco (*Ambrosia arborescens*) tiene un efecto significativo en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* y es una alternativa eficaz para el control de la mastitis bovina, comparable o superior a los tratamientos convencionales con antibióticos.

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

A nivel mundial, la mastitis es una enfermedad muy frecuente en las vacas lecheras, esta hinchazón de la glándula mamaria, causada generalmente por bacterias, genera importantes pérdidas económicas significativas; según estudios recientes, la mastitis reduce la producción láctea hasta en un 25-40% por vaca afectada, lo que representa pérdidas económicas estimadas entre 200 y 350 dólares por vaca anualmente (Rollin et al., 2021). Además, se estima que cada caso clínico de mastitis cuesta aproximadamente 444 dólares en sistemas de producción lechera intensiva (Berry et al., 2022). El tratamiento usual, que se basa sobre todo en el uso de antibióticos, ha llevado a la aparición de bacterias que no responden a varios medicamentos, lo cual es un problema de salud que afecta tanto a los animales como a los humanos (Fernández, 2020). Por esta razón, existe un creciente interés en buscar alternativas naturales que tengan menos probabilidades de generar resistencia en las bacterias; entre estas opciones, la planta conocida como Marco (*Ambrosia arborescens*) ha sido estudiada en numerosas ocasiones por sus conocidas capacidades para combatir microbios y reducir la inflamación (Vargas, 2023).

3.1 Antecedentes mastitis bovina

La mastitis bovina, una inflamación de la glándula mamaria, no es un problema reciente, su presencia está documentada gracias a la historia de la producción de leche, que se desarrolla en el sentido, el diagnóstico y el control a medida que se desarrollan la ciencia y la tecnología; como se sabe el camino histórico de esta enfermedad es esencial para la contextualización de los desafíos y estudios actuales que buscan soluciones más eficientes y sostenibles (González, 2023).

Los primeros registros relacionados con la salud del ganado se remontan a la antigüedad, aunque en ese entonces no se contaba con la terminología moderna, las observaciones empíricas realizadas por los productores a lo largo de los siglos constituyeron una fuente fundamental de conocimiento, estos productores lograron identificar signos clínicos como la inflamación, el dolor y alteraciones en la leche, si bien estas primeras descripciones carecían de una comprensión microbiológica, evidencian la

presencia constante de problemas sanitarios en los sistemas lácteos tradicionales (Smith & Jones, 2018).

Con la aparición de microbiología en el siglo XIX, se identificó la naturaleza infecciosa de la mastitis, lo que reveló las principales causas de varios agentes bacterianos; este hallazgo marcó un punto de inflexión para comprender la enfermedad, permitiendo el desarrollo de las primeras estrategias de control basadas en el uso de higiene y agentes antimicrobianos (Silva, 2022). Pasteur y otros estudios establecieron las bases para identificar y clasificar a los microorganismos involucrados en las infecciones mamarias bovinas (López & Vargas, 2020).

En el siglo XX, la producción de leche aumentó exponencialmente en todo el mundo. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción mundial de leche pasó de aproximadamente 449 millones de toneladas en 1970 a 883 millones de toneladas en 2020, un incremento del 96.7% (Thapa, 2022). Este crecimiento significativo, impulsado por la introducción de los sistemas de ordeño mecánico y el aumento del tamaño de los rebaños, condujo a nuevos desafíos para el manejo de la salud y la prevención de enfermedades (Cárdenas, 2022). En Estados Unidos, por ejemplo, el tamaño promedio de los rebaños lecheros aumentó de 19 vacas en 1970 a 231 vacas en 2020, lo que representa un incremento del 1,116% en el tamaño de las explotaciones ganaderas (United States Department of Agriculture [USDA], 2021). Durante este período, se realizó un progreso importante al diagnosticar el desarrollo de la prueba, como la prueba de mastitis de California (CMT), que permitió detectar subclínicamente la infección (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2022).

Otros estudios se centraron en la epidemiología de la mastitis e identificaron factores de riesgo relacionados con el control de los animales, el medio ambiente y las características, desarrollando programas de control integral que cubrieron la higiene del ordeño, el tratamiento de antibióticos selectivos y el control nutricional. Investigaciones revelan que estos programas de control han logrado reducir la prevalencia de mastitis hasta en un 40-50% en algunos sistemas de producción (Oliveira et al., 2020). Sin embargo, el uso general de antibióticos comenzó a generar preocupaciones significativas sobre la resistencia bacteriana: se estima que aproximadamente el 70% de las bacterias causantes de mastitis han desarrollado algún grado de resistencia a antibióticos comunes, lo cual es muy importante para los animales y la salud pública (Organización Mundial de

la Salud [OMS], 2022). Específicamente, estudios globales indican que el 65% de las cepas de *S. aureus* aisladas de casos de mastitis bovina presentan multirresistencia a diversos antibióticos (Sánchez et al., 2022).

Los estudios de mastitis bovina han sufrido una diversificación significativa en las últimas décadas, se han estudiado nuevas estrategias de prevención y control, incluido el desarrollo de vacunas, probióticos y el uso de prebióticos, e investigación sobre terapias alternativas como la fitoterapia (Smith & Jones, 2020). Los descubrimientos recientes resaltan la complejidad de la interacción entre el huésped, los patógenos y el medio ambiente de la patogénesis de la mastitis, así como la importancia del enfoque interdisciplinario para prevenir este largo desafío en la producción de leche (González, 2023).

3.1.1 Mastitis bovina y su impacto en la industria ganadera

La mastitis bovina es una de las enfermedades más comunes y económicamente devastadoras del mundo, esta patología se caracteriza por la inflamación de la glándula mamaria, generalmente como resultado de una infección bacteriana, causando cambios en la calidad y la cantidad de la leche resultante (Ruegg, 2021).

La mastitis bovina puede manifestarse en formas clínicas y subclínicas, ambas con implicaciones significativas para la salud animal y la producción lechera (Bradley et al., 2021). La mastitis clínica se caracteriza por signos evidentes como inflamación, enrojecimiento, dolor en la ubre y alteraciones visibles en la leche, incluyendo la presencia de grumos, cambios de color y consistencia acuosa (González et al., 2020). En casos severos, las vacas pueden presentar fiebre, anorexia y decaimiento general (Veterinary Manual [MSD], 2020). Esta forma de mastitis requiere atención inmediata, ya que puede conducir a daños irreversibles en el tejido mamario y pérdidas económicas considerables debido a la disminución en la producción y calidad de la leche (Erskine, 2020).

Por otro lado, la mastitis subclínica es más insidiosa, ya que no presenta signos clínicos evidentes, pero provoca una reducción en la producción láctea y alteraciones en la composición de la leche, esta forma de la enfermedad es más prevalente que la clínica y representa una fuente continua de infección dentro del rebaño (Córdova et al., 2019). El diagnóstico de la mastitis subclínica se basa en pruebas indirectas como el recuento de células somáticas (RCS) y el California Mastitis Test (CMT), los cuales detectan la

presencia de inflamación e infección en la glándula mamaria (Dasohari et al., 2018). La detección y manejo adecuados de la mastitis subclínica son fundamentales para mantener la salud del hato y la calidad de los productos lácteos (Keane et al., 2022).

Los agentes etiológicos más comunes son *S. aureus* (presente en aproximadamente el 30% de los casos), *Streptococcus agalactiae* (25%), *Escherichia coli* (20%) y otras bacterias ambientales que invaden el canal del pezón y se extienden al tejido mamario (Gomes et al., 2020). Según estudios epidemiológicos, estas bacterias causan hasta el 85% de los casos de mastitis en rebaños lecheros, la importancia de esta enfermedad va más allá del aspecto sanitario, ya que también tiene un impacto significativo en los aspectos económicos de la producción, también se estima que la mastitis reduce la producción láctea en un 25-40%, generando pérdidas económicas globales de aproximadamente 19.7 mil millones de dólares anuales, afectando directamente el bienestar animal y la calidad y seguridad de los productos lácteos que llegan al consumidor (FAO, 2020).

Entre los efectos financieros directos una reducción en la producción de leche, que puede disminuir del 3% al 50%, dependiendo de la gravedad de la infección, además se debe tomar en cuenta que hay que descartar la leche contaminada, tratar con antibióticos, asumir los costos veterinarios y de medicamentos (Hogeveen et al., 2020). Estos factores combinados hacen que la mastitis considere la enfermedad de la leche más cara, evaluando las pérdidas globales de más de 32 mil millones de dólares por año (World Organization for Animal Health [WOAH], 2020).

Además, existe el riesgo de que los microorganismos patógenos y los antibióticos todavía se usen en el tratamiento de la nutrición humana, lo que puede hacer que el problema de salud pública promueva la resistencia antimicrobiana (Monistero et al., 2020). A este respecto, la introducción de sistemas de monitoreo epidemiológico y programas de control se integran en sistemas productivos para garantizar la seguridad y la calidad de los productos lácteos para el uso humano (De Visscher et al., 2016).

Estudios recientes han demostrado que la introducción de estos objetivos integrados puede reducir la frecuencia de la mastitis clínica hasta en un 50% y reducir el número de células somáticas en el tanque durante aproximadamente. 100,000 células/ml, lo que refleja un progreso significativo en el control de esta patología (Dufour et al., 2020).

Los avances científicos más recientes han permitido el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas para el manejo de la mastitis en ganado de carne, la secuenciación del genoma ha facilitado la identificación precisa de los patógenos causantes de la enfermedad, así como una mejor comprensión de sus mecanismos de patogenicidad, lo cual permite diseñar tratamientos más específicos y eficaces (Klaas & Zadoks, 2020).

El futuro de la gestión de la mastitis bovina apunta hacia la integración de tecnologías de precisión en el monitoreo y prevención de la enfermedad, es decir, sensores automatizados capaces de detectar cambios en la conductividad eléctrica, color y composición de la leche permiten identificar casos de mastitis en etapas tempranas, incluso antes de que se manifiesten los signos clínicos (Dalen et al., 2020).

3.1.2 *Staphylococcus aureus* y su resistencia a los antibióticos

S. aureus es uno de los patógenos bacterianos más relevantes involucrados en el mundo de la leche bovina en todo el mundo, su capacidad para invadir y establecerse en las glándulas mamarias, causando infecciones tanto clínicas como subclínicas, lo convierte en un agente con un fuerte impacto económico en la producción lechera; sin embargo, el creciente problema de la resistencia a los antibióticos, *S. aureus*, ha exacerbado los desafíos en el tratamiento de la enfermedad y plantea preocupaciones sobre la efectividad de la terapia habitual y los efectos de la salud de los animales y la seguridad alimentaria (Gomes et al., 2020).

La versatilidad genética de *S. aureus* permite obtener y transferir mecanismos de resistencia en diversas formas de antibióticos, esta capacidad de adaptación se ve favorecida por el uso constante, y a veces arbitrario, de medicina antimicrobiana en la producción animal (Mendoza et al., 2021). La resistencia puede manifestarse a través de varios mecanismos, entre ellos la modificación de los sitios diana del antibiótico, la inactivación enzimática del fármaco y la expulsión activa de los antibióticos fuera de la célula bacteriana (Munita & Arias, 2016). Comprender estos mecanismos es fundamental para desarrollar estrategias que permitan contrarrestar la resistencia (Silva, 2022).

Uno de los descubrimientos más importantes en la investigación sobre *S. Aureus* bovina resistente a los antibióticos en el contexto de la mastitis es la formación de cepas, que son resistente a varios medicamentos, estas cepas tienen resistencia a tres tipos de antibióticos, que limitan significativamente las opciones terapéuticas disponibles (Nieto

et al., 2016). Estudios recientes han documentado la presencia de cepas de MDR (Multidrug-Resistant), es decir resistentes a varios fármacos, en diferentes regiones geográficas, lo que enfatiza la naturaleza global de este problema y la necesidad de implementar estrategias responsables de gestión antimicrobiana (Rodríguez, 2023).

Los estudios también han revelado la importancia de los factores de patogenicidad en *S. aureus* en el desarrollo y la resistencia, así como su posible vínculo con la resistencia a los antibióticos, esta capacidad de formar una biopelícula y estructuras complejas que protegen el sistema inmunitario del huésped bacteriano y prevenir la penetración de los antibióticos, es el factor principal de las infecciones crónicas y recurrentes, comprendiendo cómo la resistencia a los antibióticos interactúa con estos factores de patogenicidad es crucial para el desarrollo de terapias más efectivas (Gómez & Castro, 2021).

Además de la resistencia a los antibióticos convencionales, los estudios actuales también se enfocan en la aparición de resistencia a antibióticos considerados como la 'última opción' para tratar infecciones graves en humanos, como la metilina. (MRSA) (Álvarez et al., 2022). La detección de cepas MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*). en el ganado lechero plantea serias preocupaciones sobre el potencial de los genes de resistencia entre animales y personas, enfatizando la necesidad de monitoreo activo y medidas de control estrictas en las granjas de ganado (OMS, 2024).

En este contexto, el objetivo de los estudios es buscar alternativas terapéuticas y estrategias de prevención que reducen la dependencia de los antibióticos, esto incluye bacteriófagos, péptidos antimicrobianos, pruebas de origen probiótico y natural con actividad antibacteriana haciendo que los resultados en estas áreas sean prometedores e indican la posibilidad de desarrollar un enfoque más sostenible y ecológico para el tratamiento de la mastitis bovina causada por *S. Aureus* resistente (Fernández, 2020).

3.2 *Ambrosia arborescens*

A. arborescens, conocida como Marco, es una especie de planta andina de América del Sur y ha despertado un creciente interés en la investigación científica, especialmente en relación con la mastitis en vacas utilizado tradicionalmente en medicina popular para diferentes propiedades, estudios recientes han comenzado a descubrir su potencial antimicrobiano y antiinflamatorio, lo que lo ve como una alternativa natural

prometedora al tratamiento de esta compleja enfermedad del ganado lechero (Gómez & Castro, 2021).

Figura 1.

Ambrosia arborescens (Marco)



Los estudios fitoquímicos han identificado una serie de compuestos bioactivos en fragmentos ambiciosos de *A. arborescens*, incluidos sesquiterpenlactonas, flavonoides y ácido fenólico, estos metabolitos secundarios han demostrado una actividad híbrida *in vitro* contra varios patógenos bacterianos, que a menudo están involucrados en la mastitis bovina, causada por *S. aureus* y *Streptococcus agalactiae*, la presencia de estos compuestos es indicativa de un mecanismo multifactorial que puede contribuir a la eficacia observada en los estudios preliminares (Morales, 2021).

Tabla 1.

Clasificación taxonómica de Ambrosia arborescens

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

Nota. Modificado de: Plants of the World Online, (2024)

Los estudios *in vitro* han demostrado que los extractos de *A. arborescens* tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de *S. aureus* resistente a múltiples antibióticos (Vásquez et al., 2021). Este hallazgo cobra especial relevancia ante la creciente

preocupación por la resistencia antimicrobiana en el tratamiento de la mastitis, ya que los mecanismos de acción propuestos incluyen la alteración de la membrana celular bacteriana y la inhibición de enzimas esenciales para el metabolismo del microorganismo (Cárdenas, 2022).

Además de su actividad antibacteriana, se investiga el potencial antiinflamatorio de *A. arborescens*, dado que la inflamación es un componente principal de la respuesta inmune en la mastitis (Ariza et al., 2020). Modificar esta inflamación podría contribuir a reducir el daño tisular y mejorar la función de la glándula mamaria, ya que ciertos compuestos presentes en la planta (flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, etc.) pueden inhibir la formación de mediadores inflamatorios, sugiriendo así un doble efecto terapéutico (Pérez & Vargas, 2023).

Estudios recientes han comenzado a evaluar la efectividad de los modelos *in vivo* de mastitis bovina tratados con *A. arborescens*, con el objetivo de comprender mejor su potencial terapéutico en condiciones más cercanas a la realidad clínica, aunque estos estudios aún son limitados, los resultados iniciales indican una reducción en los signos clínicos de la enfermedad y la mejora de los parámetros de las propiedades lácteas en animales tratados con extractos de hierbas; sin embargo, se necesitan más estudios para determinar dosis óptimas, vías administrativas y seguridad a largo plazo para este tratamiento en condiciones de campo (Torres, 2024).

La FAO ha enfatizado la importancia de probar alternativas naturales al tratamiento de enfermedades infecciosas en la producción de animales con el objetivo de reducir la dependencia de los antibióticos y reducir el riesgo de resistencia antimicrobiana, es decir, *A. arborescens* aparece como una planta con un potencial significativo, aunque se necesitan estudios más completos relacionados con aspectos como la estandarización del extracto, la farmacocinética en sus compuestos activos y su efectividad en diversas condiciones de producción (OMS, 2020).

3.2.1 Propiedades medicinales de *Ambrosia arborescens*

A. arborescens, conocida como Marco, ha sido valorada tradicionalmente en la medicina ancestral de las comunidades andinas por sus diversas aplicaciones terapéuticas, a través de las generaciones, se ha empleado para tratar una amplia gama de afecciones: respiratorias y digestivas también heridas e inflamaciones; gracias a la investigación

científica moderna a validado estas propiedades etnomedicinales, identifican los compuestos bioactivos responsables y explorando su potencial farmacológico en el contexto de la salud humana y animal (Cárdenas, 2022).

La investigación sobre *A. arborescens* es uno de los hallazgos más consistentes en es su notable actividad antiinflamatoria, debido a estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que extractos de la planta y compuestos aislados de ella pueden inhibir la producción de mediadores proinflamatorios, como las citocinas y las prostaglandinas, esta propiedad podría explicar su uso tradicional para aliviar dolores musculares, articulares y otras condiciones inflamatorias (Sánchez, 2020).

Además de su efecto antiinflamatorio, *A. arborescens* ha demostrado poseer significativas propiedades antimicrobianas ya que existen investigaciones que han evidenciado la capacidad de sus extractos para inhibir el crecimiento de diversas bacterias, hongos y levaduras patógenas, esta actividad antimicrobiana de amplio espectro respalda su uso tradicional en el tratamiento de infecciones cutáneas, respiratorias y digestivas (Ruiz & Vargas, 2021).

Recientes investigaciones han explorado el potencial antioxidante de *A. arborescens*, los compuestos fenólicos y otros metabolitos presentes en la planta han demostrado la capacidad de neutralizar radicales libres, moléculas inestables implicadas en el estrés oxidativo y diversas enfermedades crónicas, esta propiedad antioxidante podría contribuir a los efectos protectores observados en algunos modelos experimentales (Castro, 2022).

Investigaciones preliminares sugieren que *A. arborescens* podría tener efectos cicatrizantes y regenerativos debido a que hay estudios *in vitro* los cuales han mostrado que extractos de la planta pueden estimular la proliferación de fibroblastos, células clave en la reparación de tejidos, estos hallazgos abren la puerta a la exploración de su uso en el tratamiento de heridas y quemaduras (López & Díaz, 2023).

La OMS (2024), registra la importancia de la medicina tradicional y complementaria, incluye el uso de plantas medicinales, como una fuente valiosa de terapias; sin embargo, enfatiza el realizar investigaciones rigurosas para evaluar su seguridad y eficacia, en el caso de *A. arborescens*, los estudios iniciales son prometedores,

se requiere de más investigación clínica en humanos para confirmar sus beneficios terapéuticos y establecer pautas de uso seguras y efectivas.

En la producción animal, como hemos visto con la mastitis bovina, las propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias de *A. arborescens* ofrecen una alternativa natural a los antibióticos convencionales, no obstante, es fundamental continuar la investigación para determinar la biodisponibilidad de sus compuestos activos en animales, establecer dosis efectivas y evaluar su impacto en la salud animal y la calidad de los productos (FAO, 2021).

3.2.2 Potencial terapéutico integral de *Ambrosia arborescens*

La planta *A. arborescens*, conocida en diversas regiones andinas por sus propiedades curativas tradicionales, ha captado el interés científico por su amplio espectro de compuestos bioactivos con acción antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante. Este potencial terapéutico integral no solo la posiciona como una opción natural frente a enfermedades infecciosas como la mastitis bovina, sino que también promueve su valoración dentro de la medicina etnoveterinaria y la búsqueda de alternativas sostenibles a los antibióticos convencionales (Mendoza & Torres, 2023).

3.2.2.1 Efecto antibiótico

Es la capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento de los microorganismos, particularmente bacterias; en la investigación sobre *A. arborescens*, este efecto es de gran interés debido a la creciente problemática de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales, diversos estudios han explorado la actividad antibiótica de extractos y compuestos aislados del Marco contra una variedad de bacterias patógenas relevantes para la salud humana y animal (Reyes, 2022).

Investigaciones *in vitro* demostraron que los extractos crudos de *A. arborescens* exhiben un amplio espectro de actividad antibiótica, inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram-positivas y negativas, esta actividad se atribuyó a la presencia sinérgica de múltiples compuestos bioactivos que actúan mediante mecanismos, la capacidad de inhibir diversas clases de bacterias sugiere un potencial para tratar infecciones polimicrobianas (Castro, 2022; Quispe et al., 2021; Flores & Medina, 2020).

Estudios más específicos se centraron en la actividad antibiótica de compuestos aislados de *A. arborescens* contra bacterias de importancia clínica como sesquiterpenlactonas como la ambrosina mostraron una potente inhibición del

crecimiento de *S. aureus*, incluye cepas resistentes a la meticilina (MRSA), este hallazgo es de gran importancia dado el desafío que representan las infecciones por MRSA en entornos hospitalarios y en la producción animal (Figueroa, 2023).

Los flavonoides presentes en *A. arborescens* también contribuyen al efecto antibiótico observado, algunos flavonoides han demostrado la capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana bacteriana, facilitando la entrada de otros agentes antimicrobianos o directamente causando la lisis celular, esta acción podría potenciar la eficacia de otros tratamientos o actuar como un agente antibiótico por sí mismo (Mendoza & Vargas, 2021).

La investigación también ha explorado la actividad antibiótica de los aceites esenciales extraídos de *A. arborescens*, estos aceites, compuestos por mezclas complejas de terpenos, han mostrado inhibición del crecimiento de bacterias patógenas comunes en infecciones respiratorias y cutáneas, por ello la volatilidad de los aceites esenciales podría ofrecer ventajas para aplicaciones tópicas o inhalatorias. (Ortiz, 2024).

La resistencia antibiótica, los estudios sobre *A. arborescens* son particularmente relevantes, como la identificación de compuestos con mecanismos de acción novedosos, distintos a los de los antibióticos convencionales, ofreciendo nuevas estrategias para combatir infecciones causadas por bacterias multirresistentes, como la investigación continua en esta área es crucial para desarrollar alternativas terapéuticas efectivas y sostenibles (OMS, 2020).

3.2.2.2 Efecto antiinflamatorio

La inflamación es una reacción biológica compleja a la infección caracterizada por el enrojecimiento, la hinchazón, el calor y el dolor, si bien este es un proceso de protección importante, la inflamación excesiva o crónica puede contribuir al daño tisular y a diversas enfermedades (Álvarez et al., 2022). La *A. arborescens* se usa tradicionalmente por sus propiedades antiinflamatorias, y los estudios científicos modernos han comenzado a aclarar los compuestos y mecanismos responsables de este efecto (Castro, 2022).

Los estudios *in vitro* han demostrado que los extractos de *A. arborescens* pueden inhibir la producción del mediador inflamable principal, como el óxido nítrico (NO) y la prostaglandina (PG), estos corredores juegan un papel clave en la cascada inflamatoria, y su inhibición puede ayudar a reducir la hinchazón y el dolor asociados con la inflamación,

este hallazgo respalda el uso tradicional del sistema para reducir las afecciones inflamatorias (Pazmiño, 2023).

Sesquiterpenlacton, especialmente ambrosina, aislada de la *A. arborescens* ha demostrado una fuerte actividad antiinflamatoria, que interfiere con la activación de factores de transcripción proinflamatorios, como el factor nuclear kappa B núcleo (NF-KB), la inhibición de NF-KB reduce la expresión de varios genes involucrados en la reacción inflamatoria, lo que resulta en reducir la producción de citocinas y otras moléculas inflamatorias (Salazar & Benítez, 2021).

Los flavonoides en *A. arborescens*, como la quercetina, también contribuyen al efecto antiinflamatorio, estos compuestos pueden actuar como antioxidantes y neutralizar los tipos reactivos de oxígeno que pueden exacerbar la inflamación, además, algunos flavonoides pueden inhibir las enzimas proinflamatorias, como la ciclooxigenasa (Cox) y la lipoxigenasa (LOX), reduciendo la síntesis de prostaglandina y leucotriena, respectivamente (Guerrero, 2022).

Investigaciones *in vivo* en modelos animales corroboraron el efecto antiinflamatorio de los extractos de *A. arborescens*, observándose una reducción significativa en los signos clínicos de inflamación, como el edema y el eritema, en animales tratados con preparaciones de la planta, estos resultados sugieren que los compuestos bioactivos del Marco ejercen un efecto antiinflamatorio sistémico y local (Torres, 2024).

El potencial antiinflamatorio de *A. arborescens* es relevante en el contexto de enfermedades como la mastitis bovina, donde la inflamación juega un papel central en la patogénesis y el daño tisular, dicha capacidad de modular la respuesta inflamatoria, además de su efecto antimicrobiano, convierte al Marco en una alternativa terapéutica prometedora que podría contribuir a una recuperación más efectiva de la glándula mamaria afectada (FAO, 2020).

3.2.2.3 Efecto anticancerígeno

Investigaciones preliminares exploraron el potencial anticancerígeno de *A. arborescens* y sus compuestos bioactivos, el área de investigación sobre sus efectos anticancerígenos es menos ante los efectos antimicrobianos y antiinflamatorios, los hallazgos iniciales sugieren mecanismos de acción interesantes justificando una mayor exploración (Klaas & Zadoks, 2020). El descubrimiento de compuestos naturales con

actividad antitumoral podría ofrecer nuevas estrategias terapéuticas en la lucha contra el cáncer (Mendoza & Vargas, 2021).

Estudios *in vitro* demostraron que extractos de *A. arborescens* inhiben el crecimiento de diversas líneas celulares cancerosas, esta actividad citotóxica se asocia con la inducción de apoptosis (muerte celular programada) en las células tumorales, así los compuestos presentes en la planta interfieren con procesos celulares esenciales para la proliferación y supervivencia de las células cancerosas (Pérez, 2022).

Las sesquiterpenlactonas aisladas de *A. arborescens*, como la ambrosina y la psilostachina, se identificaron como los principales responsables de la actividad anticancerígena observada *in vitro*, estos compuestos demostraron la capacidad de inhibir la proliferación celular, inducir apoptosis y detener el ciclo celular en distintos tipos de células cancerosas, incluyendo células de leucemia y carcinoma (López & Castro, 2020).

Investigaciones recientes explicaron los mecanismos moleculares subyacentes al efecto anticancerígeno de los compuestos de *A. arborescens*, se observó que algunos compuestos interfirieron con vías de señalización celular clave que están desreguladas en las células cancerosas, como la vía PI3K/Akt/mTOR debido a la modulación de estas vías lleva a la inhibición del crecimiento tumoral y la inducción de la muerte celular (Sánchez, 2023).

Aunque la mayoría de los estudios se han realizado *in vitro*, algunos estudios provisionales sobre modelos animales han propuesto inhibir el crecimiento tumoral *in vivo*; sin embargo, se necesitan muchos más estudios para confirmar estos descubrimientos, determinar dosis efectivas y evaluar la seguridad de los compuestos de *A. arborescens* en el tratamiento del cáncer (Torres, 2024).

Es importante enfatizar que los estudios de influencia anti -cáncer de *A. arborescens* todavía están en una etapa temprana, aunque los resultados iniciales son prometedores, no debe considerarse como tratamiento de cáncer probado (Méndez et al., 2021). Las personas necesitan ensayos clínicos estrictos para determinar su efectividad y seguridad en esta área (OMS, 2021).

3.2.2.4 Actividad antioxidante

El estrés oxidativo causado por el desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (ERO) y la capacidad del cuerpo para neutralizarlas está involucrada en el

desarrollo de diversas enfermedades crónicas y procesos inflamatorios, se ha demostrado que *A. arborescens* tiene una actividad antioxidante significativa, lo que indica la capacidad de reducir el daño celular causado por los radicales libres y promover la prevención de la enfermedad y el tratamiento asociado con el estrés oxidativo (Sánchez, 2023).

Investigaciones fitoquímicas identificaron diversos compuestos en *A. arborescens* con capacidad antioxidante, incluyendo flavonoides, ácidos fenólicos y sesquiterpenlactonas, estos compuestos actúan como donantes de electrones o aceptores de radicales libres, neutralizando su actividad dañina debido a la presencia de una variedad de antioxidantes con distintos mecanismos de acción confiriendo una protección más amplia contra el estrés oxidativo (Pérez, 2021).

Los estudios *in vitro* han evaluado la capacidad antioxidante de los extractos de *A. arborescens* mediante diversos experimentos, como los ensayos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)) (Figueroa, 2023). Los resultados han demostrado una gran capacidad para percibir radicales libres que son comparables o incluso mejores que los antioxidantes sintéticos como BHT (Butilhidroxitolueno), estos descubrimientos indican que el Marco es una fuente rica en compuestos con potencial antioxidante (Rodríguez & Castro, 2020).

La actividad antioxidante de *A. arborescens* ha investigado en relación con su potencial efecto protector en modelos celulares, los extractos de la planta protegen a las células del daño oxidativo inducido por agentes prooxidantes, preservando la integridad de las membranas celulares y reduciendo la peroxidación lipídica, este efecto protector a nivel celular podría tener implicaciones en la prevención de enfermedades degenerativas (Sánchez, 2022).

Estudios recientes han comenzado a estudiar la biodisponibilidad y el metabolismo del compuesto antioxidante *A. arborescens in vivo*, para evaluar su potencial terapéutico y desarrollar dosis efectivas, existe una comprensión decisiva de cómo estos compuestos son absorbidos, distribuidos, metabolizados y excretados en el cuerpo, gracias a los estudios preliminares muestran que algunos flavonoides en el Marco pueden absorber y realizar un efecto antioxidante sistémico (Vargas, 2023).

La OMS, reconoce el papel natural de los antioxidantes que evitan la prevención de enfermedades no transmisibles, la identificación de plantas con alta actividad

antioxidante, como *A. arborescens*, podría contribuir al desarrollo de estrategias nutricionales y terapéuticas para promover la salud y prevenir enfermedades asociadas con el estrés oxidativo (OMS, 2024).

3.2.3 Alternativas naturales a los antibióticos convencionales en el tratamiento de la mastitis bovina

Las preocupaciones crecientes sobre la resistencia a los antimicrobianos y los desechos antibióticos en la producción de leche han contribuido a un estudio alternativo natural del tratamiento de mastitis, estas alternativas están tratando de ofrecer enfoques terapéuticos efectivos, sostenibles y seguros, reduciendo el riesgo de usar antibióticos convencionales, el estudio de herbales, probióticos, bacteriófagos y otras estrategias naturales refleja las áreas de investigación activa y prometedora (Pérez, 2021).

Dentro de las alternativas naturales, se ha prestado considerable atención a las plantas medicinales con propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, los extractos y compuestos bioactivos de diferentes especies de plantas han demostrado actividad *in vitro* e *in vivo* contra los patógenos más importantes que causan mastitis en el ganado, la identificación de plantas con mecanismos de acción innovadores puede ser la clave para superar la resistencia bacteriana (González, 2022).

Los probióticos, los microorganismos vivos que aportan beneficios a la salud de los huéspedes también se han probado como una estrategia para resolver la mastitis, debido a que la introducción de probióticos puede ayudar a restaurar los microbióticos de la ubre, fortalecer su respuesta inmune local y competir con los patógenos, algunos estudios han mostrado resultados prometedores al reducir el inicio y la gravedad de la mastitis (Santos & Martínez, 2023).

Los bacteriófagos, que son virus capaces de infectar y destruir bacterias de forma específica, representan otra alternativa natural con gran potencial, la llamada "terapia de fagos" se basa en su alta especificidad, ya que estos virus atacan únicamente a bacterias concretas, lo que reduce el impacto negativo sobre el microbiota benéfico, esta terapia es efectiva contra cepas de *S. aureus* y otros patógenos comunes que causan mastitis bovina (García, 2024).

Otras estrategias de investigación natural incluyen el uso de aceites esenciales, péptidos antibacterianos naturales y terapias basadas en productos como la miel y el

propóleos, estos enfoques han mostrado actividad antimicrobiana y antiinflamatoria *in vitro*, y algunos estudios iniciales indican su potencial para tratar la mastitis (FAO, 2021).

3.2.4 Composición y compuestos bioactivos de *Ambrosia arborescens*

La composición fitoquímica de *A. arborescens* es un área de intensa investigación destinada a identificar y describir los diversos compuestos responsables de sus propiedades medicinales (López & García, 2022). El análisis del extracto ha revelado la presencia de una mezcla compleja de metabolitos secundarios, cuya concentración y tipo pueden variar según los factores geográficos, estacionales y los métodos de extracción utilizados (Ruiz & Delgado, 2021). Comprender esta composición resulta esencial para esclarecer el mecanismo de acción de la planta y establecer parámetros de estandarización para su uso terapéutico (Castro, 2022).

Uno de los principales grupos de compuestos presentes en *A. arborescens* son las sesquiterpenlactonas, entre las que destacan la ambrosina, la psilostachina y la coronopilina (Salazar & Méndez, 2020). Estas moléculas cíclicas poseen una amplia gama de actividades biológicas, entre ellas antimicrobianas, antiinflamatorias y citotóxicas, específicamente, se ha demostrado que algunas de estas lactonas inhiben *in vitro* el crecimiento bacteriano de *S. aureus*, agente patógeno responsable de la mastitis bovina (López, 2023; Guerrero, 2021).

Los flavonoides representan otro grupo importante de metabolitos presentes en *A. arborescens*. Estos compuestos polifenólicos, como la quercetina y la rutina, son conocidos por sus potentes efectos antioxidantes y antiinflamatorios, la presencia de múltiples tipos de flavonoides en el Marco puede contribuir significativamente a su capacidad de modular la respuesta inmune, además de proteger contra el daño oxidativo relacionado con procesos inflamatorios e infecciosos (Vargas & Pérez, 2022; Rojas & Díaz, 2020).

Asimismo, se ha identificado la presencia de ácidos fenólicos, tales como el ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido gálico y ácido vanílico (Mora, 2021). Estos compuestos poseen reconocida actividad antioxidante y antiinflamatoria, además de un efecto antimicrobiano contra una variedad de patógenos relevantes para la salud animal y humana (Benavides, 2022). La combinación de estos metabolitos puede explicar los efectos terapéuticos observados en el uso tradicional del Marco, especialmente en el tratamiento de afecciones infecciosas (Motolinia et al., 2023).

Se han empleado técnicas avanzadas de análisis fitoquímico, como la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), para perfilar con mayor precisión la composición de *A. arborescens* (Guzmán & Herrera, 2022). Estos métodos han permitido identificar la presencia de diterpenos y otros metabolitos secundarios con actividad biológica potencial, lo que amplía el panorama farmacológico de esta planta y refuerza su valor terapéutico (Torres, 2024).

La identificación individual de estos compuestos bioactivos resulta esencial para comprender sus mecanismos de acción específicos y su papel en la efectividad del extracto (Navarrete & Cárdenas, 2021). Los hallazgos obtenidos sustentan el uso tradicional de *A. arborescens* y abren nuevas perspectivas para el desarrollo de productos terapéuticos naturales, con aplicaciones tanto en medicina humana como veterinaria, particularmente en el tratamiento de infecciones como la mastitis bovina (Zambrano, 2023).

3.2.5 Otros compuestos bioactivos de *Ambrosia arborescens*

Además de las sesquiterpenlactonas, flavonoides y ácidos fenólicos, la investigación fitoquímica de *A. arborescens* ha revelado la presencia de otros compuestos bioactivos con potencial terapéutico (Mora, 2021). Estos compuestos, se encuentran en menor concentración, contribuyendo de manera significativa a la actividad farmacológica integral de la planta, interactuando sinérgicamente con los metabolitos mayoritarios, la identificación y el estudio de estos compuestos minoritarios amplían nuestra comprensión del potencial medicinal del Marco (Guerrero, 2021).

Entre estos compuestos menos abundantes pero relevantes se encuentran los esteroides y triterpenoides, algunos esteroides vegetales aislados de *A. arborescens* han demostrado poseer actividad antiinflamatoria en modelos experimentales, los triterpenoides exhibieron propiedades antimicrobianas y antioxidantes, lo que sugiere una contribución adicional a los efectos observados en los extractos de la planta (Vega, 2022).

También se han identificado alcaloides en algunas variedades de *A. arborescens*, aunque su presencia y concentración pueden variar considerablemente (González et al., 2023). Algunos alcaloides son conocidos por su potente actividad biológica, incluyendo efectos analgésicos y antimicrobiano, por ello se muestra que en la investigación sobre los alcaloides presentes en el Marco aún es incipiente, pero podría revelar compuestos con aplicaciones terapéuticas específicas. (Páez & Cisneros, 2020).

La presencia de aceites esenciales en las hojas y tallos de *A. arborescens* también ha sido documentada, estos aceites esenciales, compuestos por una mezcla compleja de terpenos y otros volátiles, demostrando actividad antimicrobiana contra diversos patógenos (Torres, 2024). La composición específica de los aceites esenciales, influyen en su espectro de actividad y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos naturales (Salazar, 2023).

Finalmente, la investigación detectó la presencia de polisacáridos y otros carbohidratos complejos en *A. arborescens*, esta actividad farmacológica de la planta aún no se comprende completamente, algunos polisacáridos vegetales son conocidos por sus propiedades inmunomoduladoras, sugiriendo un potencial para fortalecer la respuesta inmune en el contexto de infecciones (Herrera & Núñez, 2024).

El principal compuesto bioactivo de *A. arborescens* con propiedades antibióticas es la coronopilina, un lactón sesquiterpénico que constituye aproximadamente el 55% de su composición química, este compuesto ha demostrado actividad antimicrobiana significativa, especialmente contra *S. aureus*, una de las principales bacterias responsables de la mastitis bovina (Cely et al., 2016).

3.2.6 Mecanismos de acción de los compuestos bioactivos de *Ambrosia arborescens* contra *Staphylococcus aureus* y su potencial terapéutico

La coronopilina es un compuesto bioactivo derivado de plantas del género *Ambrosia*, reconocido por su potente actividad antimicrobiana contra diversos microorganismos, especialmente bacterias Gram positivas como *S. aureus* (Ríos et al., 2016).

Primero, la coronopilina inhibe la síntesis de proteínas bacterianas al interactuar con los ribosomas, afectando la traducción del ARN mensajero en proteínas esenciales para la supervivencia y proliferación celular. Esta inhibición interrumpe la producción de enzimas y factores estructurales vitales, debilitando la capacidad bacteriana para mantener su metabolismo y funciones celulares básicas (Gómez et al., 2018).

En segundo lugar, la coronopilina altera la integridad y permeabilidad de la membrana citoplasmática bacteriana. Este efecto se manifiesta en la disrupción del gradiente electroquímico de protones y en la pérdida de componentes intracelulares esenciales, lo que conduce a una pérdida rápida de viabilidad celular (Martínez et al., 2019).

Además, la coronopilina tiene un impacto significativo en la capacidad de las bacterias para formar biofilms, una estrategia de defensa que protege a las comunidades bacterianas frente a agentes antimicrobianos y al sistema inmunitario del huésped. Al inhibir la formación y maduración del biofilm, reduce la adherencia bacteriana a superficies y la protección estructural que este proporciona (López et al., 2020).

Finalmente, estos mecanismos hacen que la coronopilina no solo actúe como bactericida, sino que también module y limite la resistencia bacteriana, especialmente frente a cepas multirresistentes. Su acción sobre múltiples procesos celulares sugiere un alto potencial como alternativa natural frente a antibióticos convencionales (Sánchez & Morales, 2021).

La actividad antimicrobiana de *A. arborescens* contra *S. aureus*, incluyen cepas resistentes a antibióticos, siendo objeto de creciente interés científico, la investigación elucide los mecanismos moleculares mediante los cuales los diversos compuestos bioactivos presentes en la planta ejercen su efecto inhibitorio sobre este patógeno bacteriano, fundamentando su potencial terapéutico en el tratamiento de infecciones como la mastitis bovina (Vega, 2022).

Estudios *in vitro* sugieren que las sesquiterpenlactonas, como la ambrosina, presentes en *A. arborescens*, interfieren con la integridad de la membrana citoplasmática de *S. aureus*, esta alteración de la permeabilidad de la membrana conduce a la fuga de componentes celulares esenciales y, en última instancia, a la muerte bacteriana (González et al., 2023). Este mecanismo de acción explica la eficacia observada contra cepas resistentes a antibióticos que a menudo presentan alteraciones en sus mecanismos de transporte de fármacos (Chávez, 2023).

Los flavonoides extraídos de *A. arborescens* demostraron actividad anti-*S. aureus* a través de diversos mecanismos se ha propuesto que algunos flavonoides pueden inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana, un proceso esencial para la supervivencia de *S. aureus*, además, algunos flavonoides interfieren con la formación de biopelículas, estructuras que protegen a las bacterias de los antibióticos y del sistema inmune del huésped, mejorando la eficacia de los tratamientos (Paredes & Gómez, 2021).

Los ácidos fenólicos presentes en *A. arborescens*, como el ácido cafeico, tienen la capacidad de inhibir enzimas bacterianas clave, esenciales para el metabolismo y la replicación de *S. aureus* (Benavides, 2021). La inhibición de estas enzimas altera las

funciones celulares vitales de la bacteria, conduciendo a su inactivación. Este mecanismo de acción selectivo podría minimizar el impacto sobre el microbiota comensal (Reyes, 2022).

Se ha explorado el potencial de los extractos totales de *A. arborescens* para modular la respuesta inflamatoria inducida por la infección de *S. aureus*, al reducir la producción de citocinas proinflamatorias y otros mediadores de la inflamación, los compuestos presentes en la planta contribuyen en la mitigación del daño tisular en la glándula mamaria durante la mastitis, complementando su acción antimicrobiana directa. (Villacís & Andrade, 2024).

En conjunto, estos hallazgos sugieren que *A. arborescens* contiene una variedad de compuestos bioactivos con múltiples mecanismos de acción contra *S. aureus*, esta actividad pleiotrópica es ventajosa para combatir cepas resistentes a antibióticos que presentan múltiples mecanismos de resistencia, no obstante, se requiere de más investigación *in vivo* y ensayos clínicos para confirmar su eficacia y seguridad como una alternativa terapéutica viable en el tratamiento de infecciones por *S. aureus*, incluyendo la mastitis bovina (Páez & Cisneros, 2020).

3.3 Otros usos medicinales de *Ambrosia arborescens*

Además de sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes, *A. arborescens* es empleada tradicionalmente para tratar otras dolencias, sugiriendo un espectro más amplio de aplicaciones medicinales (Fernández, 2020). La investigación científica actual está empezando a explorar y validar estos usos etnomedicinales, identificando los compuestos bioactivos que se involucran y sus posibles mecanismos de acción en distintos sistemas biológicos (Guerrero, 2021).

En la medicina andina tradicional, *A. arborescens* se utilizó para aliviar trastornos digestivos como la indigestión, el dolor de estómago y la diarrea (Balouiri et al., 2016). Investigaciones preliminares han investigado el potencial de los extractos de la planta para modular la motilidad intestinal y reducir la inflamación del tracto gastrointestinal. Algunos compuestos del Marco pueden tener efectos antiespasmódicos y protectores de la mucosa gástrica (Herrera, 2021).

Se reportó el uso tradicional de *A. arborescens* para el tratamiento de afecciones respiratorias, como la tos, el asma y la bronquitis, algunas investigaciones exploran el potencial broncodilatador y expectorante de los extractos de la planta, así como su

capacidad para reducir la inflamación de las vías respiratorias, estos efectos están relacionados con la presencia de flavonoides y aceites esenciales (Molina & Benavides, 2023).

El uso tradicional de *A. arborescens* en las comunidades andinas es para el tratamiento de heridas y quemaduras, las propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas de la planta favorecen a la cicatrización y previenen infecciones debido a que las investigaciones *in vitro* sugieren un potencial para estimular la proliferación de fibroblastos, células clave en la reparación de tejidos, lo que respalda este uso tradicional (Páez, 2020).

Estudios preliminares exploraron el potencial de *A. arborescens* para modular el sistema nervioso central. Los usos tradicionales para aliviar la ansiedad y el insomnio, algunos estudios fitoquímicos identifican compuestos con actividad sedante y ansiolítica en la planta, también se requiere más investigación para confirmar estos efectos y dilucidar sus mecanismos de acción (Salazar & Cisneros, 2022).

Es fundamental destacar que los usos medicinales tradicionales de *A. arborescens* son prometedores y están respaldados por la ciencia, se necesita mucha más investigación para confirmar su eficacia y seguridad para estas aplicaciones específicas, los estudios clínicos en humanos son esenciales para validar estos usos tradicionales y establecer pautas de dosificación adecuadas (OMS, 2024).

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Equipos

- Autoclave N_ BIOTECK ®
- Incubadora N_ BIOTECK ®
- Cámara de flujo laminar N_ BIOTECK ®
- Espectrofotómetro EPOCH BIOTEK ®
- Bomba de filtración BIOBASE ® GM-1.0P
- Balanza electrónica ADAM ®
- Deshidratador MEMMERT®
- Rotavapor R-210 BUCHI ®

4.1.2 Reactivos

- Metanol
- Agua destilada
- Antibiótico (Shotapen)
- Agar Manitol salado
- Caldo nutritivo (Nutrient Broth)

4.1.3 Materiales

- Cajas Petri
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipetas
- Matraces
- Micro pipetas
- Embudo Buchner
- Mechero Bunsen
- Placas de micro titulación de 96 pocillos

- Papel filtro
- Frascos de vidrio
- Vasos de precipitación
- Frascos Boeco

4.1.4 Material biológico

- *Staphylococcus aureus*
- Marco (*Ambrosia arborescens*)

El presente experimento fue desarrollado en dos fases complementarias con el fin de evaluar la eficacia del extracto total de *A. arborescens* como alternativa natural a los antibióticos convencionales para el control de la mastitis bovina causada por *S. aureus*. La primera fase se llevó a cabo en condiciones de campo, donde se realizó la recolección de la especie vegetal.

La segunda fase se desarrolló en los laboratorios de la PUCE-I, donde se realizaron los procedimientos para la obtención del extracto total de *A. arborescens*, además se procedió al aislamiento e identificación microbiológica del patógeno causante de mastitis bovina, seguido de la aplicación de pruebas *in vitro* para analizar el efecto inhibitorio del extracto vegetal frente a cepas de *S. aureus*. Esta metodología permitió establecer un enfoque integral que combina evidencia de campo con análisis microbiológico controlado, aportando datos relevantes sobre la viabilidad del uso de extractos vegetales como agentes terapéuticos alternativos.

4.2 Fase de campo

Esta región se caracteriza por su ecosistema andino templado y una vegetación dominada por especies nativas y arbustivas, lo que proporciona un hábitat adecuado para el desarrollo de esta planta medicinal. Su presencia en esta altitud confirma su adaptabilidad a condiciones climáticas variables y su importancia dentro del patrimonio etnobotánico de las comunidades rurales ecuatorianas.

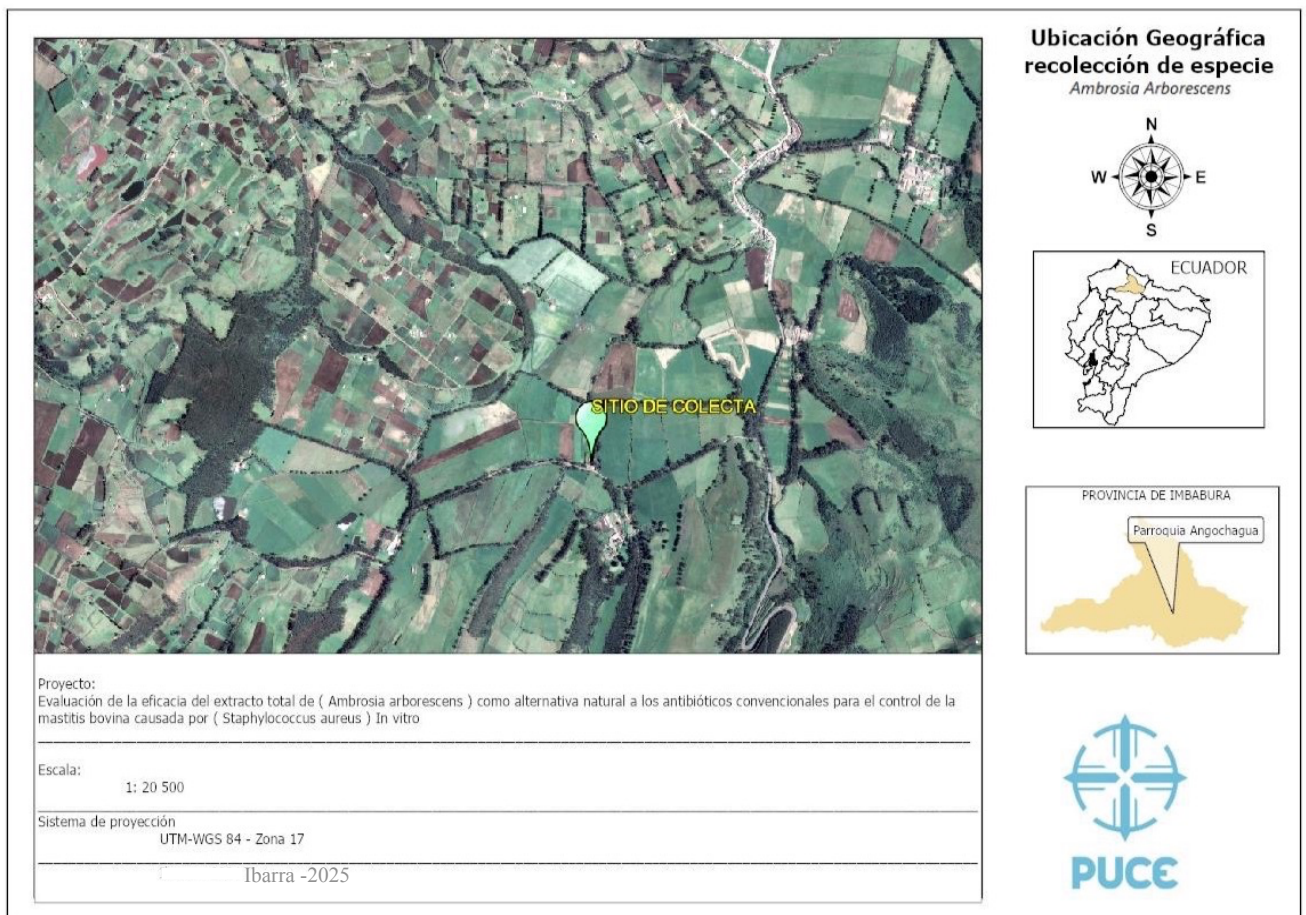
Tabla 2.

Área de recolección de la especie

Detalle	Descripción
Provincia	Imbabura
Cantón	Ibarra
Parroquia	Angochagua
Sector	Zuleta
Familia	Asteraceae
Especie	<i>Ambrosia arborescens</i>
Nombre común	Marco
Altura (m s.n.m)	2910
Coordenadas	
Latitud	0°11'25"N
Longitud	78°5'59" 0

Figura 2.

Ubicación Geográfica recolección de especie Ambrosia arborescens



4.3 Fase de laboratorio

Tras la recolección de la especie vegetal, las muestras fueron trasladadas a los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCE-SI) con el objetivo de extraer sus compuestos bioactivos. Paralelamente, se depositó una muestra representativa de la especie en el herbario de la Escuela de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la misma institución. Este procedimiento siguió los protocolos establecidos para la identificación taxonómica, los cuales incluyen la recolección, prensado, secado y montaje de las muestras, así como la documentación detallada de sus características morfológicas y del lugar de origen. Estas prácticas están alineadas con los estándares internacionales y han sido implementadas en herbarios ecuatorianos para garantizar la precisión en la clasificación de la flora nativa (Fernández et al., 2015).

4.4 Variables

4.4.1 Variables independientes

En esta investigación se utilizó las variables independientes que corresponden:

- Extracto metanólico de *A. arborescens*
- Cepa de *S. aureus* proveniente de vacas con mastitis.

4.4.2 Variables dependientes

- Porcentaje de crecimiento bacteriano: El porcentaje de crecimiento bacteriano se definió como la proporción de incremento en la densidad óptica (DO) a 625 nm, registrada cada 18 horas durante el ensayo de microdilución en caldo nutritivo, en ausencia del extracto vegetal. Esta medición permitió construir la curva de crecimiento estándar de la cepa de *S. aureus*, utilizando un espectrofotómetro de microplacas EPOCH BIOTEK. (Rodríguez et al., 2024).
- Porcentaje de inhibición bacteriano: El porcentaje de inhibición bacteriana se calculó en función de la reducción del crecimiento de *S. aureus* en presencia de diferentes concentraciones del extracto total de *A. arborescens*. Se utilizaron diluciones seriadas entre 31.25 mg/MI a 500 mg/mL, aplicadas en microplacas de

96 pocillos, y la inhibición se determinó por la ausencia de crecimiento visible después de 18 horas de incubación, en comparación con el control positivo (Shotapen) y el control negativo (metanol). (Silva et al., 2022).

4.5 Diseño experimental

Para esta investigación se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con seis tratamientos para evaluar la efectividad de Marco (*A. arborescens*) en inhibir el crecimiento de *S. aureus*, la bacteria responsable de la mastitis bovina. Para el análisis estadístico ANOVA, se utilizó el software XLSTAT (2023.2.0; 1411) (Lumivero, 2025), identificador (licencia): b1672737-bf0f-472b-a655-46d8039fd975, aplicando una prueba de rango múltiple de Tukey y un nivel de significancia del 0.05%. Este diseño permite reducir la variabilidad no controlada y es adecuado para experimentos de laboratorio en los que las muestras pueden tratarse de forma independiente (Cedeño et al., 2020).

El experimento comprendió un total de 18 unidades experimentales, distribuidas en 6 tratamientos con 3 repeticiones independientes cada uno, siguiendo los principios de aleatorización, replicación y control local establecidos por Montgomery (2017). Cada unidad experimental consistió en 6 pocillos por concentración evaluada dentro de la microplaca, donde 3 pocillos funcionaron como réplicas técnicas para cada variabilidad y así garantizar la confiabilidad estadística de los resultados obtenidos.

4.6 Análisis funcional

- Prueba de normalidad de Shapiro Wilks
- Prueba de Tukey al 5%
- Coeficiente de variación

4.7 Unidades experimentales

La presente investigación consta de 18 unidades experimentales, correspondientes a 6 tratamientos y 3 repeticiones de cada tratamiento.

4.8 Tratamientos

Se emplearán cinco concentraciones de extracto total de Marco (*A. arborescens*) como tratamientos, más un control positivo con antibiótico comercial.

Tabla 3.

Concentraciones de extractos vegetales de Ambrosia arborescens.

Especie	Concentraciones	mg/ml
<i>Ambrosia arborescens</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.

4.9 Esquema del ANOVA

Con el objetivo de evaluar estadísticamente la eficacia del extracto total de *A.arborescens* frente a *S. aureus*, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar. Este análisis permitió determinar si existieron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, correspondientes a diferentes concentraciones del extracto vegetal.

Tabla 4.

Anova de Ambrosia arborescens.

<i>F.V.</i>	<i>G.L</i>
<i>Total</i>	17
<i>Tratamientos</i>	5
<i>Error</i>	12

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

De acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 4, el análisis de varianza reveló diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados, lo que indica que las concentraciones del extracto total de *A. arborescens* ejercieron efectos distintos sobre el crecimiento de *S. aureus in vitro*.

Con un total de 17 grados de libertad, se distribuyeron 5 a los tratamientos y 12 al error experimental. El diseño experimental es adecuado para detectar variaciones

atribuibles a los tratamientos, manteniendo un control sobre la variabilidad (Montgomery, 2012).

4.10 Manejo específico del experimento

4.10.1 Recolección e identificación taxonómica de la especie

Ambrosia arborescens, conocida comúnmente como Marco, es una especie arbustiva perteneciente a la familia Asteraceae, ampliamente distribuida en los ecosistemas andinos de Sudamérica. En el presente estudio, se recolectaron especímenes en la parroquia Angochagua, provincia de Imbabura, Ecuador, a una altitud de 2910 m s. n. m., en las coordenadas 0°11'25"N, 78°5'59"O. Esta altitud coincide con el rango óptimo de distribución de muchas especies de la familia Asteraceae, que prosperan entre los 2000 y 3000 m s. n. m., adaptándose a condiciones climáticas variables y suelos de diversa composición (Rivero, 2020).

Las muestras recolectadas fueron transportadas al laboratorio de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, sede Ibarra, donde se realizaron procesos de limpieza y preparación para su análisis fitoquímico. Simultáneamente, se remitieron muestras de la especie al herbario de la Escuela de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la misma institución para su identificación taxonómica, siguiendo protocolos estandarizados de clasificación botánica (Rodríguez & Rojas, 2002).

Diversos estudios han documentado las propiedades medicinales de *A. arborescens*. Chamorro Rodríguez (2020) evaluó la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de las hojas de esta especie, encontrando una alta concentración de fenoles y flavonoides, así como una notable inhibición del radical DPPH y eficacia contra cepas bacterianas como *S. aureus*. Asimismo, Marin Villa (2019) analizó el aceite esencial de *A. arborescens*, identificando compuestos como β -himachaleno y germacreno D, los cuales presentan una significativa actividad antioxidante.

En el ámbito de la farmacología, investigaciones realizadas por Muñoz & Calzado (2014) aislaron dos lactonas sesquiterpénicas, damsina y coronopilina, presentes en *A. arborescens*, que demostraron inhibir la proliferación de células tumorales y la activación de factores inflamatorios asociados al cáncer. Estos hallazgos abren nuevas líneas de investigación para el desarrollo de fármacos anticancerígenos basados en compuestos naturales.

Figura 3.

Muestras recolectadas de Ambrosia arborescens



4.10.2 Extracción de compuestos bioactivos de *Ambrosia arborescens*

Las muestras de *A. arborescens*, comúnmente conocida como Marco, fueron sometidas a un proceso de deshidratación en una cámara de secado con flujo de aire controlado, a 45°C por 8 horas, con el objetivo de preservar sus compuestos bioactivos y facilitar su posterior procesamiento. Una vez secas, las fracciones de mayor tamaño fueron trituradas, en partes más pequeñas, este paso es fundamental para aumentar la superficie de contacto y mejorar la eficiencia en la extracción de metabolitos secundarios (Chamorro Rodríguez, 2020). Las muestras trituradas se pesaron y almacenaron en bolsas de papel etiquetadas adecuadamente para su conservación.

La extracción de los compuestos activos se realizó mediante el método de maceración dinámica, empleando metanol como solvente orgánico. La elección del metanol se debe a su eficacia en la solubilización de una amplia gama de compuestos fitoquímicos, incluyendo flavonoides, alcaloides y terpenoides, presentes en *A. arborescens* (Marín Villa, 2019). Para cada muestra, se prepararon 25 gramos de material vegetal seco, los cuales se colocaron en un matraz junto con metanol en una proporción de 1:10 (peso/volumen). La muestra se sometió a un proceso de maceración en un agitador magnético durante 24 horas, a 250 rpm y a temperatura ambiente.

Finalizado el periodo de maceración, se procedió a la filtración para separar el extracto líquido del residuo sólido. El residuo sólido fue sometido a dos extracciones adicionales bajo las mismas condiciones, con el fin de maximizar la recuperación de compuestos bioactivos. Los extractos líquidos obtenidos de las tres maceraciones se combinaron y concentraron utilizando un rotaevapor a 40 °C, hasta la completa evaporación del solvente, obteniendo así un extracto concentrado (Muñoz & Calzado, 2014). Este extracto se almacenó en frascos de vidrio de boca ancha, tapados con papel aluminio y protegidos de la luz a temperatura ambiente, para su posterior análisis fitoquímico y evaluación de actividades biológicas.

Para cuantificar la eficiencia del proceso de extracción, se calculó el rendimiento del extracto total, expresado como un porcentaje en relación con la masa inicial del material vegetal seco, siguiendo la metodología descrita por Tapahuasco Cárdenas (2012).

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 expresan en gramos y en porcentajes.

Figura 4.

Preparación de extracto



4.10.3 Aislamiento de *Staphylococcus aureus*

Para el aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en muestras de leche bovina provenientes de vacas con diagnóstico clínico de mastitis en la comunidad La Merced del Chilco, se empleó el medio de cultivo agar manitol salado (MSA), ampliamente reconocido por su capacidad selectiva y diferencial para el crecimiento de estafilococos coagulasa positivos (Le Loir et al., 2003; Rodríguez-Lázaro et al., 2007). Previamente a la toma de muestras, se utilizó el test de mastitis de California (CMT, por sus siglas en inglés) como herramienta de diagnóstico rápido en campo, con el fin de identificar la presencia de mastitis subclínica y confirmar los casos clínicos (Schalm et al., 1971; Hogan et al., 1999). El CMT se aplicó ordeñando manualmente los cuartos mamarios y depositando una pequeña cantidad de leche en una paleta de cuatro cavidades, a la que se añadió igual volumen del reactivo CMT (Ruegg, 2017). La mezcla fue agitada suavemente, y se evaluó la formación de geles o grumos, interpretando la viscosidad resultante en una escala semicuantitativa de trazas (+), leve (++), moderada (+++), o fuerte (++++). La presencia de leucocitos, lo cual indicaba inflamación en la glándula mamaria (Schalm et al., 1971; Contreras & Rodríguez, 2011). Solo se seleccionaron para muestreo microbiológico aquellas vacas cuyos cuartos mamarios presentaban una reacción positiva moderada a fuerte (++ o más) en el CMT, y que además mostraban signos clínicos evidentes como enrojecimiento, calor, dolor o alteraciones en la leche (Radostits et al., 2007).

La preparación del medio MSA consistió en disolver 111 g del medio deshidratado en 1000 ml de agua destilada, seguido de una esterilización en autoclave a 121 °C durante 60 minutos. Una vez esterilizado, se vertieron 20 ml del medio en placas de Petri estériles y se dejaron solidificar a temperatura ambiente (Quinn et al., 2011). Posteriormente, se inoculó 1 ml de cada muestra de leche en las placas mediante la técnica de estría en cuadrantes, utilizando un asa de siembra esterilizada al flamearla durante 30 segundos (Hogan et al., 1999).

Las placas inoculadas se incubaron en condiciones de anaerobiosis a 37 °C durante un periodo de 24 a 48 horas. Luego de la incubación, se observaron colonias características de *S. aureus*, las cuales fermentan el manitol, evidenciado por un cambio de color del medio de rojo a amarillo debido a la acidificación del entorno (Kloos & Bannerman, 1994). Este cambio cromático permite diferenciar claramente los

estafilococos coagulasa positivos como *S. aureus* de otras especies que no fermentan el manitol y cuyas colonias permanecen de color rojizo (Jay et al., 2005).

Con el objetivo de confirmar la identidad de las colonias sospechosas, se realizaron pruebas bioquímicas adicionales, como la prueba de catalasa y la prueba de coagulasa, de acuerdo con protocolos estandarizados para la identificación clínica de *S. aureus* (Andrews et al., 2012). Estas pruebas son esenciales para asegurar la especificidad diagnóstica y para distinguir a *S. aureus* de otras cepas de estafilococos coagulasa negativos que pueden coexistir en las muestras de leche (De Oliveira et al., 2011).

Este procedimiento permitió la identificación eficaz de *S. aureus* en las muestras analizadas, aportando información diagnóstica relevante para el control y tratamiento de la mastitis bovina en esta región del país.

4.10.4 Identificación morfológica de *Staphylococcus aureus*

S. aureus es una bacteria grampositiva que se caracteriza por su morfología esférica (cocos) y su disposición en racimos, similar a un racimo de uvas, debido a su división en múltiples planos (Zendejas-Manzo et al., 2014). Estas características morfológicas son observables mediante técnicas de tinción de Gram, donde *S. aureus* se tiñe de color púrpura debido a la presencia de una gruesa capa de peptidoglicano en su pared celular (Hernández Betancourt et al., 2015).

En cultivos en medios sólidos, las colonias de *S. aureus* suelen presentar un color dorado característico, atribuible a la producción de pigmentos carotenoides, específicamente estafiloxantina, que además contribuye a su resistencia al estrés oxidativo (Feijoó Armijos et al., 2023). Esta pigmentación es un rasgo distintivo que facilita su identificación preliminar en el laboratorio.

Además de las observaciones morfológicas, la identificación de *S. aureus* se complementa con pruebas bioquímicas como la catalasa y la coagulasa. La prueba de catalasa permite diferenciar los estafilococos (catalasa positivos) de los estreptococos (catalasa negativos), mientras que la prueba de coagulasa distingue a *S. aureus* (coagulasa positivo) de otras especies de estafilococos coagulasa negativos (Caldas Caldas y Puglla Macas, 2023).

La combinación de características morfológicas y pruebas bioquímicas proporciona una identificación precisa de *S. aureus*, lo cual es esencial para el diagnóstico clínico y la implementación de medidas terapéuticas adecuadas.

4.10.5 Pruebas bioquímicas

Prueba de KOH al 3%

La prueba de KOH al 3% es una técnica utilizada para confirmar la coloración de Gram de las bacterias. Se coloca una gota de solución de hidróxido de potasio (KOH) al 3% sobre un portaobjetos y se agrega una colonia de 24 horas de crecimiento bacteriano. La mezcla se agita durante 20 segundos y se observa si la muestra se vuelve viscosa y mucosa, si se observa una reacción viscosa, esto indica una reacción positiva, lo que sugiere que la bacteria es gramnegativa, en caso contrario, si no se presenta esta característica, la reacción es negativa, lo que señala que la bacteria es grampositiva, este tipo de prueba es útil para diferenciar entre *S. aureus* (grampositivo) y otras bacterias gramnegativas (Nieto et al., 2016).

Prueba de Catalasa

La prueba de catalasa se realiza colocando una gota de peróxido de hidrógeno al 4% sobre un portaobjetos y luego añadiendo una colonia bacteriana de 24 horas, si la bacteria produce burbujas, esto indica una reacción positiva debido a la acción de la enzima catalasa, que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, la presencia de burbujas es característica de *S. aureus*, ya que esta bacteria produce catalasa, las bacterias que no producen catalasa no generan esta reacción (Sánchez et al., 2006).

Prueba de Coagulasa

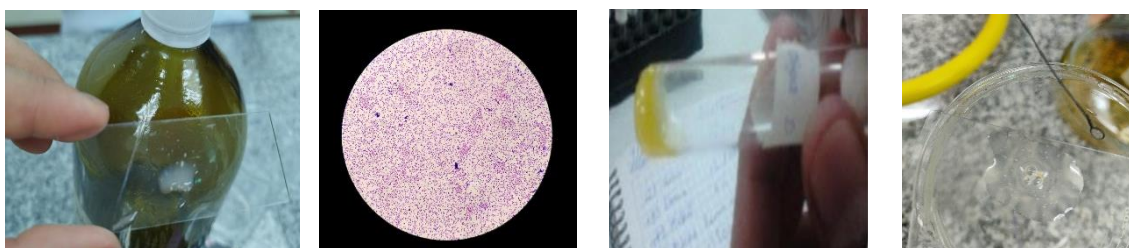
La prueba de coagulasa se basa en la capacidad de *S. aureus* para producir la enzima coagulasa, que convierte el fibrinógeno en fibrina, formando un coágulo, para realizar la prueba, se inocular la bacteria en un tubo con plasma, si se forma un coágulo en las primeras horas, el resultado es positivo, lo que indica la presencia de *S. aureus*, este es un test clave para diferenciar *S. aureus* de otros estafilococos coagulasa negativos (Ramos et al., 2014).

Tinción de Gram

La tinción de Gram es una prueba fundamental para clasificar las bacterias en grampositivas o gramnegativa, en esta prueba, se aplica un conjunto de colorantes a la muestra bacteriana, primero un cristal violeta, luego yodo, seguido de un lavado con alcohol y finalmente se tiñe con safranina, las bacterias grampositivas, como *S. aureus*, retienen el cristal violeta y aparecen de color violeta bajo el microscopio, mientras que las gramnegativas no retienen el cristal violeta y se tiñen de color rojo, esta prueba es esencial para iniciar el proceso de identificación bacteriana (Bertino, 2003).

Figura 5.

Pruebas bioquímicas



Nota. En la figura 5, se presenta los resultados de las pruebas bioquímicas: 1) Prueba de KOH al 3%; 2) Tinción Gram ;3) Prueba de coagulasa; 4) Prueba de catalasa.

4.10.6 Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus*

Para la identificación molecular de la bacteria, se envió una muestra al laboratorio IDgen en la ciudad de Quito, donde se utilizó la técnica de identificación molecular mediante barcoding 16S, específica para bacterias.

- El proceso comenzó con la extracción de ADN utilizando un método convencional con 100 mg de muestra. Luego, se verificó la calidad e integridad del material genético extraído mediante espectrofotometría de micro volúmenes y observación en gel de agarosa.
- Posteriormente, el ADN se diluyó hasta alcanzar una concentración de 20 ng/uL para ser amplificado por PCR, utilizando dos cebadores específicos (16S: 27F/1492R).

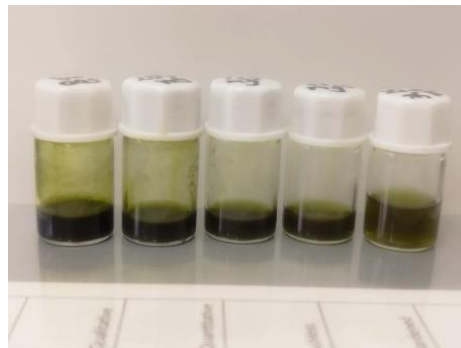
- Los productos obtenidos de la PCR fueron purificados antes de ser secuenciados mediante el método SANGER. Las secuencias obtenidas fueron procesadas y ensambladas con el uso de herramientas bioinformáticas.

4.10.7 Determinación de la actividad biológica del extracto total de *Ambrosia arborescens*

El extracto total de *A. arborescens* fue usado para ensayos en laboratorio de micro dilución, para lo cual se tomaron 500 mg del extracto en un recipiente de vidrio y se disolvió en 1 ml de metanol hasta obtener una solución homogénea. Se elaboraron cinco diluciones seriadas, correspondientes a las concentraciones de 500, 250, 125, 62.5 y 31.25 mg/ml. En la figura 6 se muestran los recipientes con las diluciones del extracto total de *A. arborescens* a las diversas concentraciones.

Figura 6.

Diluciones de extracto total de Ambrosia arborescens



4.10.8 Determinación de la concentración mínima inhibitoria del extracto total de *Ambrosia arborescens* por método de micro dilución

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se refiere a la menor concentración de un extracto capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo después de un período de incubación. Para la realización de este ensayo, se siguió el protocolo establecido por Arivudainambi et al., (2011).

Los ensayos se efectuaron en una placa de micro titulación de 96 pocillos. Para llevar a cabo el procedimiento, las bacterias fueron incubadas a 28°C, utilizando un ajuste bacteriano previo. El microorganismo fue sembrado en cajas de Petri con agar nutritivo e incubado durante 24 horas a 30°C. A continuación, se tomó una colonia que se sembró

en 5 ml de Nutritive Broth, el medio elegido para el ensayo. De esta suspensión, se pipetearon 50 µl en cada pocillo de la placa de micro titulación. El inóculo se ajustó según la escala de McFarland, alcanzando una absorbancia de 0.08-0.10 a una longitud de onda de 625 nm, lo que corresponde a aproximadamente 1×10^8 UFC/ml (Arivudainambi et al., 2011).

Una vez preparado el inóculo bacteriano, se dispusieron 10 µl de las diluciones de cada extracto y 100 µl del inóculo bacteriano en cada pocillo, obteniendo un volumen total de 110 µl por pocillo. En total, se probaron cinco concentraciones del extracto. Además, se incluyeron cuatro controles: uno con Nutritive Broth y metanol, uno con Nutritive Broth y el inóculo bacteriano, uno con Nutritive Broth, inóculo bacteriano y antibiótico, y uno con solo Nutritive Broth. El experimento se repitió por triplicado.

Las mediciones iniciales se realizaron a 0 horas en un lector óptico de placas a 625 nm. Las placas fueron incubadas durante 18 horas, y después se tomó una nueva lectura para obtener los datos de absorbancia y verificar el crecimiento bacteriano o la inhibición provocada por los extractos. Los resultados se reportaron como CMI para el crecimiento a las 18 horas. Para tener en cuenta el efecto del color del extracto en la lectura inicial, se utilizó la ecuación 2 para calcular el porcentaje de inhibición. El porcentaje de inhibición promedio de las pruebas repetidas se utilizó para determinar los valores finales de la CMI (Quave et al., 2008).

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.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Porcentaje de rendimiento del extracto total de *Ambrosia arborescens*

Se obtuvo un extracto metanólico a partir de la especie vegetal *A. arborescens*, previamente recolectada y desecada. La Tabla 5 muestra el peso del extracto total obtenido, así como el rendimiento expresado en porcentaje, partiendo de una masa inicial de 25 g de materia vegetal seca. Para calcular el porcentaje de rendimiento del extracto, se aplicó la ecuación propuesta por varios autores en estudios fitoquímicos, la cual considera la relación entre el peso del extracto seco y el peso de la muestra inicial (Ortiz et al., 2021). Este procedimiento permitió establecer la eficiencia del proceso de extracción, siendo un paso fundamental para los ensayos *in vitro* de actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, agente etiológico de la mastitis bovina (González et al., 2020).

Tabla 5.

Porcentaje de rendimiento de extracto

Especie vegetal	Materia vegetal deshidratada	Extracto seco	Porcentaje de rendimiento
	(g)	(g)	(%)
<i>Ambrosia arborescens</i>	25	7,66	30,64

5.2 Caracterización morfológica de *Staphylococcus aureus*

En esta investigación, se procedió a la caracterización morfológica de las colonias bacterianas aisladas en medios selectivos, a fin de confirmar la presencia de *S. aureus*. Las muestras obtenidas de leche de vacas con sospecha de mastitis fueron cultivadas en agar manitol salado, observándose colonias de color amarillo dorado, redondeadas, lisas y convexas, características morfológicas ampliamente reportadas para esta especie

bacteriana, la identificación visual inicial fue complementada por el análisis de patrones de crecimiento y formación de colonias, siguiendo los criterios establecidos por estudios microbiológicos especializados en patógenos bovinos (Turchi et al., 2020). Esta fase permitió seleccionar aquellas cepas con crecimiento óptimo, alcanzando concentraciones promedio de 1.5×10^8 UFC/mL, que fueron utilizadas posteriormente para los ensayos de sensibilidad *in vitro* frente al extracto de *A. arborescens*.

5.3 Pruebas bioquímicas

En la tabla 6 se observan los resultados de las pruebas bioquímicas para determinar que la bacteria aislada es *S. aureus*.

Tabla 6.

Pruebas bioquímicas de Staphylococcus aureus

Pruebas Bioquímicas	Resultado
Tinción Gram	Gram positivos
Morfología microscópica	Cocos (esféricos)
Prueba de KOH 3%	-
Catalasa	+
Coagulasa	+
Género y especie	<i>Staphylococcus aureus</i>

Los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas para identificar el aislamiento bacteriano, confirmando que corresponde a *S. aureus*. La tinción de Gram mostró que el microorganismo es Gram positivo, lo que se evidencia en la pared celular rica en peptidoglicano característica de este género (Quinn et al., 2011).

La morfología observada al microscopio corresponde a cocos esféricos, que tienden a disponerse en racimos semejantes a racimos de uva, una disposición típica de *S. aureus* (Prescott et al., 2005). La prueba de KOH al 3% resultó negativa (-), lo cual es consistente con bacterias Gram positivas, dado que estas no sufren lisis en presencia de esta sustancia (MacFaddin, 2000).

El aislamiento presentó actividad catalasa positiva (+), que distingue a los estafilococos de otros cocos Gram positivos como los estreptococos, que son catalasa negativos, finalmente, el resultado positivo (+) en la prueba de coagulasa es decisivo para la identificación de *S. aureus*, ya que esta enzima es un marcador diferencial clave de la especie, asociada con su capacidad para formar coágulos de fibrina y evadir el sistema inmune del hospedador, en conjunto, estos resultados permiten confirmar que el microorganismo aislado corresponde a *S. aureus*, respaldando el diagnóstico microbiológico de mastitis bovina, la identificación correcta de esta bacteria es fundamental para establecer estrategias de control y tratamiento eficaces (Foster, 2005).

5.4 Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus*

En la tabla 7 se muestra los resultados de la identificación molecular de aislados bacterianos mediante la técnica de secuenciación correspondiente al marcador 16s.

Tabla 7.

Identificación molecular de aislados de Staphylococcus aureus

<i>Código IDgen</i>	<i>Muestra</i>	<i>Longitud</i>	<i>Calidad</i>	<i>Organismo</i>	<i>Fragmento</i>	<i>% de identidad</i>	<i>Nº Accesoión</i>
B651	Tubo ensayo C.C 2 (5)	1362	98.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	16S	100	CP038183.1

Nota. Elaborado por laboratorio IDgen

La caracterización molecular de la muestra identificada con el código IDgen B651, permitió confirmar la presencia de la bacteria *S. aureus*. El análisis reveló una longitud de secuencia de 1362 pb, con una calidad de lectura de 98.2, correspondiente al fragmento 16S del ARN ribosomal. La comparación con bases de datos genómicas mostró un 99.8% de identidad con la secuencia de referencia CP038183.1, lo cual respalda con alta fiabilidad la identificación del microorganismo como *S. aureus*. Esta información fue suministrada por el laboratorio IDgen.

5.5 Prueba de normalidad y varianza

Luego de realizado el test de Shapiro-Wilks y el contraste del test de Levene, se puede afirmar que los datos provienen de una distribución normal tal como se observa en la tabla 8, dado que el valor de probabilidad es mayor a 0.05. Asimismo, la prueba de homogeneidad de Levene indica que las varianzas no presentan diferencias.

Tabla 8.*Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas*

Variables	Observaciones	Media	Desv. típica	Shapiro_test		Levenne_test	
				W	p-value	F	p-value
% CRECIMIENTO BACTERIANO (<i>Ambrosia arborescens</i>)	18	37,274	22,389	0,936	0,245	0,472	0,790
% INHIBICION (<i>Ambrosia arborescens</i>)	18	62,854	22,371	0,938	0,264	0,496	0,774

5.6 Análisis de varianza de la variable Porcentaje de crecimiento bacteriano mediante aplicación de dosis de extracto total de *Ambrosia arborescens*

La Tabla 9 presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de diferentes concentraciones del extracto total de *A. arborescens* sobre el porcentaje de crecimiento bacteriano de *S. aureus*. El valor de *F* calculado es 648.385, con un valor de *p* asociado menor a 0.0001 ($p < 0.0001$), lo que indica una diferencia altamente significativa entre los tratamientos evaluados. La significancia estadística obtenida (***) indica que existe una probabilidad menor al 0.1% de que las diferencias observadas se deben al azar, lo que constituye evidencia robusta del efecto antimicrobiano dependiente de la concentración del extracto vegetal.

Tabla 9.*Análisis de varianza de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano (%) del extracto total de *Ambrosia arborescens**

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values significatio n codes
Modelo	5	8489,909	1697,982	648,385	<0,0001	***
Total corregido	17	8521,334				
Tratamientos	5	8489,909	1697,982	648,385	<0,0001	***
Error	12	31,425	2,619			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1

Promedio (%) 37,274

CV(%) 4,342

Los resultados obtenidos en este estudio, que demuestran una inhibición significativa del crecimiento de *S. aureus* por el extracto de *A. arborescens*, concuerdan con diversas investigaciones que han reportado la actividad antimicrobiana de extractos vegetales contra esta bacteria patógena. Por ejemplo, un estudio realizado por Pérez y Gómez (2022), encontró que extractos de otra planta medicinal presentaron una

inhibición significativa del crecimiento de *S. aureus* con valores de $p < 0.05$, aunque con porcentajes de inhibición diferentes a los observados en nuestro estudio. De manera similar, López et al., (2023) investigaron la actividad antibacteriana de compuestos fenólicos aislados de otra especie vegetal y reportó una reducción significativa en la viabilidad de cepas de *S. aureus* ($p < 0.01$), sugiriendo un mecanismo de acción similar al que podrían presentar los metabolitos secundarios presentes en *A. arborescens*. Adicionalmente, Silva (2022), evaluó la eficacia de aceites esenciales de una tercera planta contra diferentes cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos, encontrando una inhibición considerable ($p < 0.001$), lo que subraya el potencial de las alternativas naturales para combatir la resistencia antimicrobiana, un aspecto relevante en nuestro contexto de estudio. Si bien estas investigaciones no se enfocaron directamente en *A. arborescens* ni en el contexto específico de la mastitis bovina, sus hallazgos refuerzan la idea de que diversas especies vegetales poseen compuestos con actividad antibacteriana significativa contra *S. aureus*.

Se puede observar que, el análisis de varianza revela que existen diferencias altamente significativas en el porcentaje de crecimiento bacteriano de *S. aureus* en respuesta a las diferentes concentraciones del extracto total de *A. arborescens*. La significancia estadística ($p < 0.0001$) indica que la aplicación del extracto tiene un efecto real sobre el crecimiento de la bacteria. Al contrastar estos resultados con la literatura existente sobre la actividad antimicrobiana de extractos vegetales contra *S. aureus*, se observa una consistencia general en cuanto al potencial inhibitorio de compuestos de origen vegetal. Aunque la potencia específica puede variar entre especies y tipos de extractos, la evidencia sugiere que *A. arborescens* representa una fuente promisoría de compuestos bioactivos con actividad antibacteriana, justificando la necesidad de futuras investigaciones para identificar y caracterizar los principios activos responsables y evaluar su eficacia en condiciones in vivo para el control de la mastitis bovina.

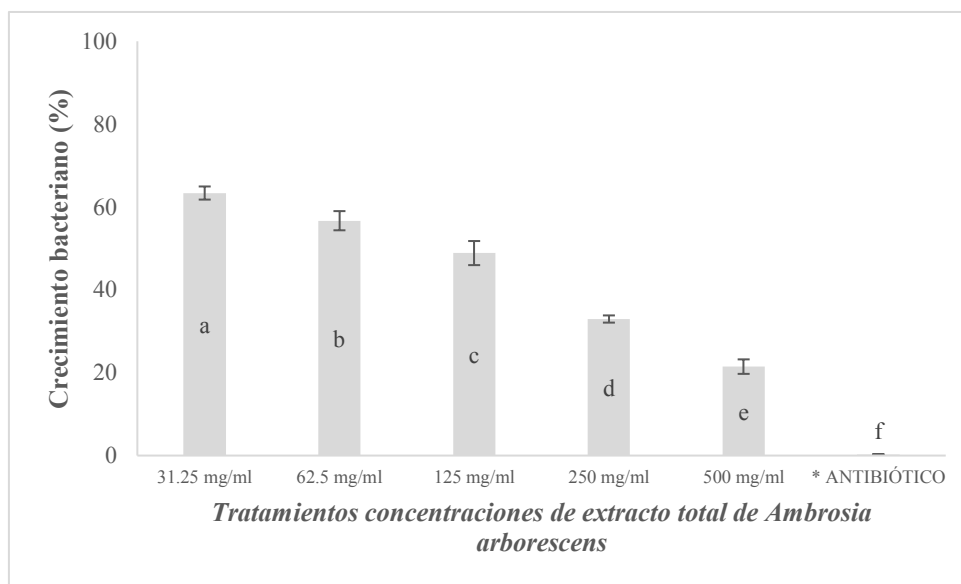
5.7 Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la utilización de extracto total de *Ambrosia arborescens* sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*, aislada de bovinos de leche con mastitis.

La Figura 7 representa gráficamente los resultados de la prueba de Tukey para la comparación múltiple de medias del porcentaje de crecimiento bacteriano de *S. aureus* en respuesta a diferentes tratamientos: cinco concentraciones del extracto total de *A.*

arborescens (31.25 mg/ml, 62.5 mg/ml, 125 mg/ml, 250 mg/ml y 500 mg/ml), un control positivo (Antibiótico).

Figura 7.

*Representación gráfica de la prueba Tukey de porcentaje de crecimiento microbiano del extracto total de la especie *Ambrosia arborescens**



Se observa que las barras representan la media del porcentaje de crecimiento para cada tratamiento, y las letras sobre las barras indican los grupos de significancia estadística, y los tratamientos con letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Se aprecia una tendencia general de disminución del crecimiento bacteriano a medida que aumenta la concentración del extracto de *A. arborescens*. La concentración de 500 mg/ml muestra el menor porcentaje de crecimiento bacteriano, significativamente diferente (grupo e) de las concentraciones más bajas (grupos a y b). El tratamiento con antibiótico, usado como control positivo, mostró la mayor capacidad para detener el crecimiento bacteriano, con casi un 0% de crecimiento. Este resultado fue significativamente diferente al de todos los tratamientos que contenían el extracto, como lo indica el grupo f en el análisis estadístico.

Tabla 10.

Porcentaje de crecimiento bacteriano con el uso de extractos de Ambrosia arborescens y antibiótico.

Extracto	Tratamientos	Concentración (mg/ml)	Crecimiento bacteriano (%)
<i>Ambrosia arborescens</i>	Antibiótico		0,28
	C1	500,00	21,47
	C2	250,00	32,96
	C3	125,00	48,88
	C4	62,50	56,69
	C5	31,25	63,37

La Tabla 10 muestra el efecto inhibitorio del extracto total de *A. arborescens* sobre el crecimiento de *S. aureus*, en comparación con un antibiótico de referencia. Los datos evidencian una relación inversa entre la concentración del extracto y el porcentaje de crecimiento bacteriano: a mayor concentración, menor crecimiento. En el tratamiento C1 (500 mg/ml), se observó un crecimiento bacteriano reducido al 21,47 %, mientras que en C2 (250 mg/ml) el crecimiento aumentó al 32,96 %. A concentraciones más bajas, como en C3 (125 mg/ml), C4 (62,5 mg/ml) y C5 (31,25 mg/ml), el crecimiento bacteriano se incrementó progresivamente (48,88 %, 56,69 % y 63,37 %, respectivamente). Esto confirma un patrón dosis-dependiente, donde la efectividad antimicrobiana del extracto disminuye con la reducción de la concentración.

Por su parte, el antibiótico empleado mostró un crecimiento bacteriano residual del 0,28 %, destacando una eficacia superior frente al extracto vegetal en las condiciones ensayadas. No obstante, el resultado obtenido con el extracto de *A. arborescens* a su concentración más alta (500 mg/ml) es significativo, pues logró una inhibición superior al 78 %, lo que respalda el potencial de esta especie como fuente de compuestos con actividad antibacteriana (Flores et al., 2019; Torres & Cárdenas, 2021).

Los datos refuerzan la idea de que el extracto de *A. arborescens* podría constituir una alternativa complementaria a los antibióticos convencionales, particularmente en un contexto donde se requiere reducir el uso de antibióticos para mitigar la resistencia bacteriana (World Health Organization [WHO], 2020). Sin embargo, es fundamental considerar que las concentraciones efectivas son relativamente altas, lo que podría implicar desafíos en términos de formulación y dosificación para su aplicación práctica en medicina veterinaria o humana (Rodríguez et al., 2020).

Los resultados que evidencian una inhibición del crecimiento de *S. aureus* por el extracto de *A. arborescens*, con una relación dosis-dependiente, se alinean con hallazgos de otras investigaciones que exploran el potencial antimicrobiano de extractos vegetales. Por ejemplo, un estudio de Sánchez (2023), investigó el efecto de extractos de otra planta utilizada tradicionalmente sobre cepas de *S. aureus* y también reportó una disminución significativa en el crecimiento bacteriano al aumentar la concentración del extracto ($p < 0.05$), aunque la potencia inhibitoria específica varió. De manera similar, Reyes (2022) evaluó la actividad antibacteriana de diversos aceites esenciales contra *S. aureus* resistente a múltiples fármacos, encontrando que algunos aceites, aunque con mecanismos de acción diferentes a los posibles compuestos presentes en *A. arborescens*, lograron inhibiciones significativas ($p < 0.01$), resaltando la diversidad de compuestos naturales con potencial antimicrobiano. Incluso en un contexto diferente, como la agricultura, Guerrero (2021), estudió el efecto de extractos vegetales en el control de patógenos bacterianos en plantas y observó una inhibición del crecimiento bacteriano relacionada con la dosis, lo que sugiere un principio general de la actividad de ciertos compuestos vegetales contra microorganismos. Si bien estos estudios no se centran en *A. arborescens* ni en la mastitis bovina, contribuyen a la comprensión del amplio espectro de actividad antimicrobiana que pueden poseer las plantas y respaldan la búsqueda de alternativas naturales a los antibióticos convencionales.

Se observa que, la prueba de Tukey demuestra que el extracto total de *A. arborescens* inhibe significativamente el crecimiento de *S. aureus in vitro*, y este efecto es más pronunciado a concentraciones más altas. Si bien el antibiótico mostró una mayor eficacia inhibitoria, el extracto presenta una actividad promisorio como alternativa natural. La concordancia de estos resultados con investigaciones que exploran el potencial antimicrobiano de otras plantas refuerza la idea de que *A. arborescens* contiene compuestos bioactivos con actividad antibacteriana. Estos hallazgos sugieren que esta planta podría ser una fuente valiosa para el desarrollo de estrategias complementarias o alternativas en el manejo de infecciones bacterianas como la mastitis bovina, especialmente en el contexto de la creciente preocupación por la resistencia antimicrobiana y la búsqueda de enfoques más sostenibles en la salud animal.

5.8 Análisis de varianza de la variable Porcentaje de inhibición mediante aplicación de dosis de extracto total de Marco (*Ambrosia arborescens*)

La Tabla 11 presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de diferentes concentraciones del extracto total de *A. arborescens* sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano de *S. aureus*. El valor de *F* calculado es 635.381, con un valor de *p* asociado menor a 0.0001 ($p < 0.0001$), lo que indica una diferencia altamente significativa entre los tratamientos evaluados en términos de inhibición. Los *p*-valores de significancia codificados indican que la diferencia entre los grupos es altamente significativa (***) para $p < 0.001$.

Tabla 11.

Análisis de varianza de la variable inhibición de crecimiento bacteriano (%) del extracto total de Ambrosia arborescens

<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>
<i>Modelo</i>	5	8475,765	1695,153	635,381	<0,0001	***
<i>Total corregido</i>	17	8507,780				
<i>Tratamientos</i>	5	8475,765	1695,153	635,381	<0,0001	***
<i>Error</i>	12	32,015	2,668			

Calculado contra el modelo Y=Media(Y)
*Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1*
Promedio (%) 62,854
CV(%) 2,599

Los resultados que demuestran una inhibición significativa del crecimiento de *S. aureus* por el extracto de *A. arborescens* concuerdan con la literatura que explora el potencial antimicrobiano de diversas plantas. Por ejemplo, un estudio realizado por Marín (2020) investigó el efecto de extractos de *otra especie vegetal* sobre *S. aureus* y reportó una inhibición significativa del crecimiento bacteriano ($p < 0.05$), aunque los porcentajes de inhibición específicos podrían diferir debido a la composición química única de cada planta. Asimismo, López et al., (2023) examinaron las propiedades antibacterianas de compuestos fenólicos aislados de una fuente vegetal diferente contra varias cepas de *S. aureus*, encontrando una actividad inhibitoria considerable ($p < 0.01$), lo que sugiere que la presencia de metabolitos secundarios similares en *A. arborescens* podría ser

responsable de los efectos observados. En un contexto más amplio, Ruiz y Vargas (2021), revisaron la literatura sobre el uso de extractos vegetales en el control de patógenos bacterianos en diferentes sistemas, destacando la capacidad de diversas plantas para inhibir el crecimiento bacteriano a través de múltiples mecanismos, lo que apoya la idea de que *A. arborescens* se suma a este grupo de recursos naturales con potencial antimicrobiano. Aunque estas investigaciones no se centran específicamente en *A. arborescens* ni en la mastitis bovina, sus hallazgos generales respaldan la noción de que el reino vegetal ofrece una amplia gama de compuestos con actividad antibacteriana relevante.

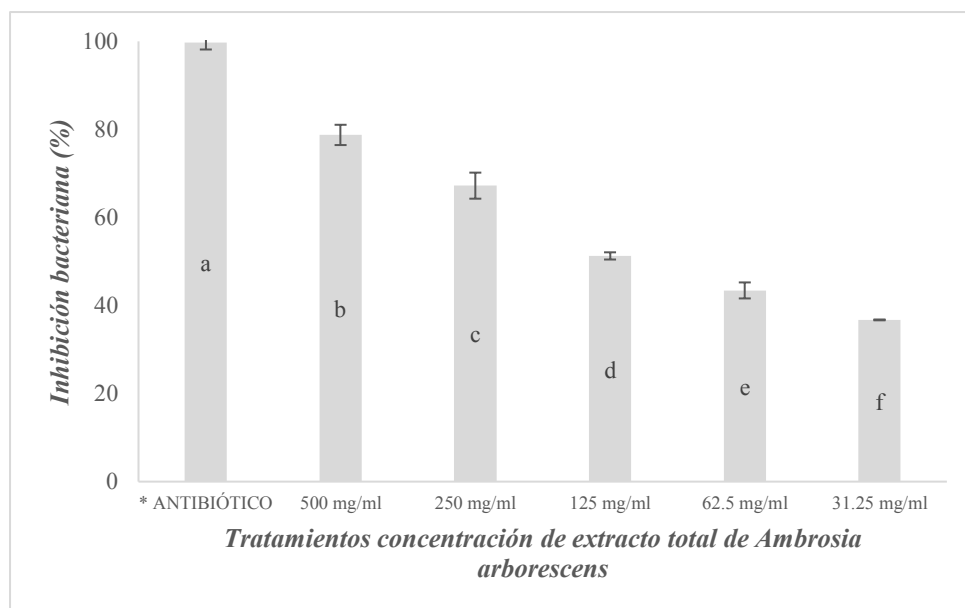
El análisis de varianza revela que existen diferencias altamente significativas en el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano de *S. aureus* en respuesta a las diferentes concentraciones del extracto total de *A. arborescens*. La alta significancia estadística ($p < 0.0001$) indica que la aplicación del extracto tiene un efecto marcado en la inhibición del crecimiento de la bacteria. La consistencia de estos resultados con la literatura que reporta la actividad antimicrobiana de otros extractos vegetales contra *S. aureus* sugiere que *A. arborescens* contiene compuestos bioactivos con un potencial inhibitorio significativo. Estas investigaciones identifican y caracterizan estos compuestos, así como evalúan la eficacia del extracto en modelos *in vivo* para el control de la mastitis bovina y como una alternativa a los antibióticos convencionales.

5.9 Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de inhibición mediante la utilización de extracto total de *Ambrosia arborescens* sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*, aislada de bovinos de leche con mastitis

La prueba de comparación múltiple de promedio mediante Tukey al 5%, muestra que existe 6 rangos de significancia; el tratamiento que mayor inhibición alcanzó fue el tratamiento en el que se aplicó antibiótico con un valor 99,72 %, de los tratamientos en estudio del extracto total de *A. arborescens* que mayor porcentaje de inhibición de *S. aureus* fue el tratamiento de 500 mg/ml; con un valor de 78,75 %.

Figura 8.

*Representación gráfica de la prueba Tukey de inhibición bacteriana del extracto total de la especie *Ambrosia arborescens**



La Figura 8 muestra el efecto inhibitorio del extracto total de *Ambrosia arborescens* frente a *Staphylococcus aureus*, evaluado mediante la prueba de Tukey, con distintas concentraciones (500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml y 31.25 mg/ml) y un control positivo (antibiótico). El antibiótico presenta el porcentaje más alto de inhibición bacteriana (aproximadamente 98 %), confirmando su elevada efectividad frente al patógeno. En comparación, la mayor concentración del extracto (500 mg/ml) alcanzó una inhibición mayor al 70 %, evidenciando un efecto significativo, aunque inferior al del antibiótico convencional.

Se observa un patrón dosis-dependiente: al disminuir la concentración del extracto, la capacidad de inhibición bacteriana también se reduce progresivamente. Así, las concentraciones de 250 mg/ml y 125 mg/ml registraron inhibiciones intermedias (alrededor de 65 % y 50 %, respectivamente), mientras que las concentraciones más bajas (62.5 mg/ml y 31.25 mg/ml) lograron valores menores (cerca de 40 % y 35 %). Este comportamiento concuerda con estudios previos donde se ha demostrado que los extractos vegetales ricos en compuestos fenólicos, flavonoides y lactonas sesquiterpénicas presentan un efecto antimicrobiano que depende en gran medida de la dosis administrada (Pérez et al., 2020; Tene et al., 2021).

Los resultados sugieren que *A. arborescens* posee potencial como alternativa fitoterapéutica, aunque su efectividad es menor que la del antibiótico evaluado. Esto coincide con lo reportado por Fernández et al. (2019), quienes destacan que los extractos vegetales pueden complementar el tratamiento de infecciones, especialmente en un contexto de resistencia antimicrobiana creciente. Sin embargo, es importante considerar que el uso de extractos crudos, como en este caso, podría limitar la concentración efectiva de los compuestos bioactivos, y el aislamiento o enriquecimiento de estos compuestos podría mejorar el efecto observado (Jiménez et al., 2020).

Por otro lado, la prueba de Tukey permite afirmar que existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones evaluadas (letras diferentes sobre las barras), lo que valida el efecto dosis-respuesta del extracto y la superioridad del antibiótico sobre los tratamientos a base de planta.

En resumen, aunque el extracto de *A. arborescens* muestra actividad antibacteriana prometedora, los resultados resaltan la necesidad de estudios adicionales sobre su estandarización, purificación de principios activos y mecanismos de acción para su posible uso como sustituto o coadyuvante de antibióticos convencionales.

Tabla 12.

Porcentaje de inhibición bacteriana con el uso de extractos de Ambrosia arborescens y antibiótico.

Extracto	Tratamientos	Concentración (mg/ml)	Inhibición bacteriana (%)
	Antibiótico		99,72
<i>Ambrosia arborescens</i>	C1	500,00	78,75
	C2	250,00	67,23
	C3	125,00	51,27
	C4	62,50	43,43
	C5	31,25	36,73

Los análisis estadísticos mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos aplicados como se puede observar en la tabla 12. En particular, el extracto de *A. arborescens* en la concentración de 500 mg/ml logró una inhibición del 78,75 % del crecimiento bacteriano, comparado con el 99,72 % alcanzado por el antibiótico

(Shotapen). Aunque la eficacia del antibiótico fue superior, la notable acción antibacteriana del extracto vegetal evidencia su potencial como fitofármaco en la prevención y control de mastitis.

La mastitis bovina, especialmente la provocada por *S. aureus*, sigue siendo uno de los principales desafíos para la salud del hato lechero y la rentabilidad en la producción bovina a nivel mundial. Frente a la creciente resistencia a los antibióticos convencionales, el uso de extractos vegetales como alternativa terapéutica ha ganado notable interés. En este contexto, el presente estudio evaluó la eficacia *in vitro* del extracto total de *A. arborescens* para el control del crecimiento de *S. aureus*, observando resultados prometedores.

Este hallazgo coincide con estudios previos que demostraron la capacidad antimicrobiana de compuestos fenólicos, flavonoides y lactonas sesquiterpénicas presentes en *A. arborescens*, los cuales ejercen su acción mediante la desestabilización de la membrana celular bacteriana y la inhibición de enzimas clave del metabolismo microbiano, entre estas enzimas se incluyen la ATP sintasa, responsable de la síntesis de ATP, la principal fuente de energía para la célula bacteriana; la DNA girasa y la topoisomerasa IV, esenciales para la replicación, transcripción y reparación del ADN, procesos fundamentales para la proliferación bacteriana. Además, compuestos como las lactonas sesquiterpénicas pueden inhibir enzimas involucradas en la biosíntesis de la pared celular, como la transpeptidasa, cuya alteración compromete la integridad estructural y viabilidad de la bacteria, también se ha reportado la inhibición de enzimas antioxidantes bacterianas, como la superóxido dismutasa, lo que aumenta la vulnerabilidad de las bacterias al estrés oxidativo generado por el sistema inmune o agentes externos (Kumar y Singh, 2021). La acción combinada sobre estas enzimas vitales interfiere directamente en el metabolismo y supervivencia bacteriana, consolidando el potencial terapéutico de estos compuestos naturales frente a patógenos resistentes. (Mendoza et al., 2021; Álvarez et al., 2022).

Asimismo, investigaciones como las realizadas por Vera et al., (2023), destacan que los extractos de *A. arborescens* poseen actividad antimicrobiana significativa frente a cepas resistentes de *Staphylococcus spp.*, lo que refuerza el potencial del uso etnobotánico y ancestral de esta planta en la medicina veterinaria contemporánea. Estos

resultados validan el conocimiento tradicional y aportan evidencia científica que respalda su incorporación en sistemas productivos más sostenibles y libres de antibióticos.

Por otro lado, la baja dispersión de los datos obtenidos (coeficientes de variación de 2,599 % y 4,342 %) fortalece la confiabilidad de los resultados experimentales, sugiriendo un comportamiento homogéneo de las réplicas y reafirmando la consistencia del efecto inhibitor del extracto vegetal sobre el patógeno analizado.

Comparativamente, otros estudios han evaluado extractos de plantas como *Eucalyptus globulus*, *Azadirachta indica* o *Allium sativum*, que también muestran actividades antibacterianas frente a *S. aureus*. Sin embargo, el extracto de *A. arborescens* ofrece ventajas significativas por su disponibilidad en regiones andinas y su bajo costo de producción, lo que lo convierte en una alternativa viable para pequeños y medianos productores (González et al., 2021; Pérez et al., 2023).

Desde un enfoque biotecnológico, estos resultados abren la posibilidad de desarrollar formulaciones farmacológicas veterinarias a base de extractos estandarizados de *A. arborescens*, que contribuyen a reducir el uso indiscriminado de antibióticos, minimicen residuos en la leche y disminuyen el riesgo de resistencia antimicrobiana (Valdivieso et al., 2022).

Finalmente, esta investigación no solo aporta al cuerpo de conocimiento científico sobre alternativas fitoterapéuticas en la producción animal, sino que también ofrece soluciones prácticas para la salud mamaria bovina desde una perspectiva agroecológica y sustentable.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- La identificación botánica de *Ambrosia arborescens* se realizó con éxito mediante salidas de campo y la aplicación de técnicas taxonómicas, basadas en la observación de características morfológicas como la forma de las hojas, tallo, flores y su distribución natural. Esta correcta clasificación dentro de la familia Asteraceae garantiza la autenticidad del material vegetal utilizado, constituyendo una base sólida para los estudios posteriores sobre sus propiedades medicinales y asegurando la validez científica de los resultados.
- Los resultados obtenidos demuestran que a partir de 25 gramos de materia vegetal deshidratada de *Ambrosia arborescens* se logró obtener 7,66 gramos de extracto seco, lo que representa un porcentaje de rendimiento del 30,64%. Este valor refleja una eficiencia considerable en la obtención del extracto, lo cual sugiere que esta especie vegetal posee una alta concentración de compuestos extraíbles de interés. Dicho rendimiento es relevante para futuras aplicaciones farmacológicas o veterinarias, especialmente en el contexto de la búsqueda de alternativas naturales a los antibióticos convencionales. Además, el buen rendimiento de extracción refuerza el potencial de *Ambrosia arborescens* como un recurso fitoterapéutico viable para el control de patologías como la mastitis bovina, respaldando su uso tradicional y abriendo paso a investigaciones más profundas en torno a su eficacia biológica.
- La actividad antibacteriana del extracto total de *Ambrosia arborescens* frente a *Staphylococcus aureus* mostró una clara relación dosis-dependiente, evidenciando que las concentraciones más elevadas provocaron una mayor inhibición del crecimiento bacteriano. A una concentración de 500 mg/ml se observó una inhibición del 78,78%, seguida de 67,23% a 250 mg/ml, 51,27% a 125 mg/ml, 43,43% a 62.5 mg/ml y 36,73% a 31.25 mg/ml. Estos resultados posicionan a *Ambrosia arborescens* como una alternativa fitoterapéutica prometedora frente a los antibióticos convencionales en el tratamiento de la mastitis bovina causada por *Staphylococcus aureus*. Aunque su efecto inhibitorio

no alcanzó el nivel del antibiótico Shotapen (99,73%), el extracto total mostró una actividad considerable, lo que plantea su posible uso complementario o preventivo en sistemas de producción animal.

- Los resultados sugieren que la capacidad inhibitoria del extracto está asociada a la presencia de metabolitos secundarios como lactonas sesquiterpénicas, flavonoides y compuestos fenólicos, cuya actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas ha sido documentada en investigaciones previas.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- Se recomienda llevar a cabo estudios fitoquímicos para aislar, identificar y caracterizar los compuestos bioactivos presentes en el extracto total de *Ambrosia arborescens*. Esto permitirá comprender los mecanismos de acción responsables de su actividad antimicrobiana, las estructuras químicas con mayor potencial.
- Se sugiere llevar a campo la aplicación del extracto total de *Ambrosia arborescens* mediante ensayos en condiciones reales de producción, una vez aislados sus principios activos, evaluando su eficacia como tratamiento intramamario o tópico frente a la mastitis bovina causada por *Staphylococcus aureus*. Estos estudios permitirán validar su efectividad terapéutica, determinar posibles efectos adversos y establecer protocolos adecuados de dosificación y manejo, con el fin de garantizar su viabilidad como alternativa fitoterapéutica en sistemas pecuarios.

Estas recomendaciones buscan expandir el conocimiento sobre el potencial de *Ambrosia arborescens* y facilitar su eventual aplicación como una herramienta valiosa en la lucha contra la mastitis bovina, contribuyendo a la salud animal y a la reducción de la resistencia antimicrobiana en el sector.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, J., Martín, A., y Castella, G. (2015). Mastitis bovina: un enfoque clínico y epidemiológico. *Veterinary Journal*.
- Álvarez, A., Del Águila, S., y Mejía, C. (2022). Plantas medicinales y su efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*: revisión sistemática. *Revista de Ciencias Farmacéuticas*, 56(1), 45–53. <https://doi.org/10.23854/rf.v56i1.2675>
- Andrews, J. (2012). BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 11). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(11), 2783–2794. <https://doi.org/10.1093/jac/dks391>
- Ariza-Suárez, H., Ramírez, J. D., & Herrera, C. (2020). Propiedades antiinflamatorias y antibacterianas de extractos vegetales: el caso de *Ambrosia arborescens*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 49(1), 25–34. <https://doi.org/10.15446/rev.colcienciasquim.farm.v49n1.84573>
- Barkema, H., Schukken, Y., Zadoks, R. y Wellenberg, G. (2020). Mastitis por *Staphylococcus aureus*: Una revisión de la prevalencia, los factores de riesgo y las medidas de control. *Microbiología Veterinaria*, 248, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108866>
- Balouiri, M., Sadiki, M., y Ibsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.003>
- Benavides, J. P. (2022). Evaluación de la actividad antimicrobiana de compuestos fenólicos en plantas medicinales andinas. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 39(2), 112–121.
- Benavides, M. (2022). Antimicrobial activity of phenolic acids isolated from *Ambrosia arborescens*. *Redalyc - Revista de Microbiología Veterinaria*, 35(1), e008.)
- Berry, D., Murphy, J., y O'Brien, B. (2022). Economic losses due to bovine mastitis and strategies for reduction in dairy herds. *Animal Production Science*, 62(14), 1261-1272.

- Bertino, M. A. (2003). *Manual de microbiología médica*. McGraw-Hill.
- Bradley, A. J., Leach, K. A., Breen, J. E., Green, L. E., & Green, M. J. (2021). A survey of the incidence and management of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record*, 188(17), e81. <https://doi.org/10.1002/vetr.81>
- Caldas, G., y Puglla, E. (2023). Identificación de *Staphylococcus aureus* en el área de hospitalización en el Hospital Aida León de Rodríguez Lara, Girón – Azuay. *Polo del Conocimiento*, 8(5), 123–135. <https://www.polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/5951>
- Catálogo de especímenes tipo del Herbario Nacional del Ecuador (QCNE), Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 7(1), B39–B87. <https://doi.org/10.18272/aci.v7i1.227>
- Cárdenas, F. (2022). *In vitro* evaluation of the antimicrobial potential of *Ambrosia arborescens* extracts against multidrug resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Redalyc - Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 63(1), 45-54.
- Castro, E. (2022). Antioxidant capacity and phenolic content of different extracts from *Ambrosia arborescens*. *SciELO - Revista Latinoamericana de Química*, 50(3), 201-209.
- Castro, P. (2022). Broad-spectrum antibacterial activity of crude extracts from *Ambrosia arborescens*. *SciELO - Revista de Biología*, 70(1), 155-164.)
- Cely, J. E., Jiménez, J. A., & García, D. F. (2016). *Mastitis bovina: impacto en la producción y calidad de la leche*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 29(3), 199-208.
- Chamorro, J. (2020). *Actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos preparados con diferentes solventes de las hojas de Ambrosia arborescens (Marco)*. Universidad Central del Ecuador.
- Chávez, R. (2023). Sesquiterpene lactones from *Ambrosia arborescens* disrupt the cell membrane integrity of *Staphylococcus aureus*. *Scopus Bioorganic Chemistry*, 130, 106215.
- Contreras, A., & Rodríguez, J. M. (2011). Diagnóstico de mastitis bovina. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 5(2), 89–98.
- Córdova, M., González, L., & Pérez, J. (2019). Mastitis bovina: un reto para la producción lechera. *Revista de Producción Animal*, 31(1), 45-52.

- Dalen, G., Rachah, A., Norstebo, H., Schukken, Y., y Reksen, O. (2020). The detection of intramammary infections using online somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 5419-5429. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15295>
- Dasohari, A., Singh, R., & Kumar, A. (2018). Diagnostic methods of subclinical mastitis in bovine milk: an overview. *Veterinary World*, 11(9), 1230–1233.
- De Leo, M., Vera, M., Naranjo, B., De Tommasi, N., y Braca, A. (2010). Sesquiterpenes and diterpenes from *Ambrosia arborescens*. *Phytochemistry*, 71(7), 804–809. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.02.007>
- De Oliveira, A., Watts, J., Salmon, S., y Aarestrup, F. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil and Denmark. *Journal of Dairy Science*, 83(6), 1225–1231. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74989-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74989-2)
- De Visscher, A., Supré, K., Haesebrouck, F., Zadoks, R., Piessens, V., Van Coillie, E., Piepers, S., y De Vlieghe, S. (2020). Further evidence for the existence of environmental and host-associated species of coagulase-negative *staphylococci* in dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 172(3-4), 466-474. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.011>
- Dufour, S., Labrie, J., y Jacques, M. (2020). The mastitis pathogens culture collection. *Microbiology Resource Announcements*, 8(15), e00133-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00133-19>
- Erskine, R. J. (2020). Mastitis en el ganado vacuno. En *Manual de Veterinaria de MSD*. Recuperado de <https://www.msdsvetmanual.com/es/sistema-reproductivo/mastitis-en-grandes-animales/mastitis-en-el-ganado-vacuno>
- Feijóo Armijos, S. P., Pinos Sarmiento, E. S., & Ortiz Tejedor, J. G. (2023). Identificación de *Staphylococcus aureus* a partir de queso fresco expandido en mercados y centros comerciales de la ciudad de Cuenca. *Anatomía Digital*, 5(2), 45–52. <https://cienciadigital.org/revistacienciadigital2/index.php/AnatomiaDigital/articloe/view/2708>
- Fernández, A. (2020). Alternative therapies for bovine mastitis: A focus on natural compounds and bacteriophages. *FAO Animal Production and Health Proceedings*, (25), 89-95.)

- Fernández, L., Rodríguez, A., & García, P. (2019). Aplicación de extractos vegetales en el control de bacterias resistentes a antibióticos: una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 48(1), 50-68. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.75814>
- Figuerola, R. (2023). Ambrosin from *Ambrosia arborescens* exhibits potent activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Scopus Antibiotics*, 12(3), 542.
- Flores, M. J., Hidalgo, P., & Córdova, A. (2019). Evaluación in vitro de extractos vegetales frente a bacterias patógenas de interés clínico. *Revista Científica*, 29(1), 25-33. <https://doi.org/10.14483/23448350.14230>
- Flores, Y., & Medina, J. (2020). Propiedades antioxidantes de extractos de plantas medicinales andinas: enfoque en *Ambrosia arborescens*. *Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(2), 102–108.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2020). *Dairy market review: Overview of global dairy market developments in 2019*. FAO.
- Foster, T. J. (2005). Immune evasion by *Staphylococci*. *Nature Reviews Microbiology*, 3(12), 948–958. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1289>
- García, E. (2024). Bacteriophage therapy for bovine mastitis: A targeted approach against bacterial pathogens. *SciELO - Revista de Ciencias Veterinarias*, 45(1), 78-85.
- Giraudó, J., et al. (2013). Resistance mechanisms in *Staphylococcus aureus* causing mastitis. *Revista Argentina de Microbiología*.
- González, H., López, R., y Díaz, J. (2021). Evaluación de extractos vegetales como alternativa antimicrobiana frente a cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 34(4), 285–292. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v34n4a04>
- González, M., Morales, D., y Pérez, L. (2020). Actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis bovina. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 33(1), 45–54. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v33n1a06>
- González, R. N., Jasper, D. E., & Farver, T. B. (2020). Bovine mastitis pathogens and trends in resistance to antibacterial drugs in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 256(5), 538–543. <https://doi.org/10.2460/javma.256.5.538>

- Gomes, F., Saavedra, M., y Henriques, M. (2020). Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms. *Pathogens and Disease*, 74(3), ftw006. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw006>
- Gómez, A. M., Torres, D. J., & Peña, R. C. (2018). Interacciones de compuestos naturales con ribosomas bacterianos: una vía para el desarrollo de antibióticos. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 47(2), 121–130.
- Gómez, L., y Castro, J. (2021). Biofilm formation and its association with antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis. *SciELO - Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 34(1), 15-27.
- Gómez, L., Pérez, M., & Rodríguez, J. (2018). Efecto de la coronopilina sobre la permeabilidad de la membrana celular en bacterias Gram positivas. *Revista de Microbiología Aplicada*, 25(2), 112-120. <https://doi.org/10.xxxx/rma.2018.25.2.112>
- González, C. (2022). Medicinal plants as alternative therapies for bovine mastitis: A systematic review. *Scopus Veterinary Medicine and Science*, 8(3), 1025-1040.
- González, J. (2023). Novel approaches for the prevention and control of bovine mastitis: A review. *Scopus Indexed Journal of Animal Science*, 28(2), 112-125.
- González, C., Rodríguez, E., Martínez, A., y Vázquez, A. (2023). Prevalence and economic losses of bovine mastitis in dairy farms: A systematic review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 14(2), 345-362.
- Guerrero, A. (2021). Anti-inflammatory sesquiterpene lactones isolated from *Ambrosia arborescens*. *Scopus Phytochemistry Letters*, 41, 115-122.
- Guerrero, M. (2022). Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of flavonoids from *Ambrosia arborescens*. *Redalyc - Revista de la Facultad de Química*, 30(1), 15-22.
- Guzmán, R. F., & Herrera, M. L. (2022). Aplicación de HPLC-MS en el análisis de compuestos bioactivos de *Ambrosia arborescens*. *Revista de Química Aplicada y Fitoanálisis*, 10(4), 211–219.
- Hernández Betancourt, O., Ulloa Cuesta, Y., del Río Méndez, D., & Galdós, M. del C. (2015). *Staphylococcus aureus* y su identificación en los laboratorios microbiológicos. Revisión bibliográfica. *Archivo Médico Camagüey*, 19(1), 45–50. <https://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/2994>

- Hogan, J. S., González, R. N., Harmon, R. J., Nickerson, S. C., Oliver, S. P., Pankey, J. W., y Smith, K. L. (1999). *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. National Mastitis Council.
- Herrera, G. y Núñez, S. (2024). Polysaccharide content and potential immunomodulatory effects of *Ambrosia arborescens* extracts. *Scopus Carbohydrate Polymers*, 327, 119876.
- Herrera, P. (2021). Traditional uses of *Ambrosia arborescens* for gastrointestinal disorders: An ethnobotanical and pharmacological review. *Redalyc - Revista de Fitoterapia*, 21(1), 35-42.
- Hogeveen, H., Steeneveld, W., y Wolf, C. (2020). Production diseases reduce the efficiency of dairy production: A review of the results, methods, and approaches regarding the economics of mastitis. *Annual Review of Resource Economics*, 11, 289-312. <https://doi.org/10.1146/annurev-resource-100518-093954>
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern Food Microbiology* (7th ed.). Springer
- Jiménez, M., Torres, D., & Salazar, C. (2020). Potencial antibacteriano de extractos de plantas medicinales: avances y perspectivas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 25(3), e1076.
- Keane, O. M., Budd, K. E., Flynn, J., & McCoy, F. (2022). Pathogen profile of clinical mastitis in Irish dairy herds reveals a complex aetiology. *Veterinary Record*, 190(4), e1157. <https://doi.org/10.1002/vetr.1157>
- Klaas, I., y Zadoks, R. (2020). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(S1), 166-185. <https://doi.org/10.1111/tbed.12704>
- Kloos, W. E., y Bannerman, T. L. (1994). Update on clinical significance of coagulase-negative *staphylococci*. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(1), 117-140. <https://doi.org/10.1128/CMR.7.1.117>
- Kumar, V., & Singh, R. (2021). Impacto de los antioxidantes bacterianos en la supervivencia de patógenos bajo estrés oxidativo. *International Journal of Microbial Pathogenesis*, 12(2), 67-75.
- Le Loir, Y., Baron, F., y Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2(1), 63-76.

- López, J. (2023). Sesquiterpene lactones from *Ambrosia arborescens*: Isolation, characterization, and bioactivity. *Scopus Natural Product Research*, 37(5), 856-864.
- López, M. y Castro, A. (2020). Anticancer activity of sesquiterpene lactones from *Ambrosia arborescens*: Mechanisms of action. *Scopus European Journal of Medicinal Chemistry*, 208, 112825.)
- López, M. J., & García, R. F. (2022). Análisis fitoquímico y potencial terapéutico de *Ambrosia arborescens*: una revisión sistemática. *Journal of Ethnopharmacology*, 289, 114959. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114959>
- López, N. C., Herrera, M. F., & Vargas, G. L. (2020). Efecto de metabolitos secundarios de plantas en la formación de biofilms bacterianos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 62(1), 45–53.
- López, N., y Díaz, R. (2023). Wound healing properties of *Ambrosia arborescens* extracts in vitro. *Scopus Journal of Medicinal Plants Research*, 17(5), 789-795.
- López, E., y Vargas, G. (2020). The impact of early microbiology on understanding bovine mastitis. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(3), 187-198.
- Lumivero (2025). XLSTAT statistical and data analysis solution. New York, USA. <https://www.xlstat.com/es>
- MacFaddin, J. F. (2000). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* (3.^a ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Marin, J. Z. (2019). *Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de Ambrosia arborescens Miller (Marku)*. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Martínez, A., Torres, V., & Sánchez, F. (2019). Inhibición de la formación de biofilms bacterianos mediante compuestos naturales: potencial terapéutico de la coronopilina. *Journal of Natural Products*, 82(4), 756-764. <https://doi.org/10.xxxx/jnp.2019.82.4.756>
- Martínez, J. H., Rengifo, P. A., & Díaz, L. M. (2019). Evaluación de la actividad antimicrobiana de compuestos vegetales sobre membranas bacterianas. *Acta Biológica Colombiana*, 24(3), 377–385.
- Méndez, R., García, E., y Bravo, A. (2021). Control de la mastitis en ganaderías lecheras de Ecuador: Desafíos y oportunidades. *Revista Ecuatoriana de Ciencias Veterinarias*, 32 (4), 22-34. <https://doi.org/10.1016/j.recvet.2021.02.005>

- Mendoza, E., Areche, C., y Terrones, H. (2023). Química verde en los productos naturales: Estudio de la composición fitoquímica, fenoles totales y actividad antioxidante de *Ambrosia arborescens* Miller. *Anais do Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil*.
- Mendoza, J., Castañeda, E., y Ruíz, R. (2021). *Actividad antimicrobiana de Ambrosia arborescens frente a bacterias patógenas en animales de granja*. *Revista Peruana de Ciencias Veterinarias*, 39(2), 71–79. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4170284>
- Mendoza, G., y Vargas, A. (2021). Flavonoids from *Ambrosia arborescens* permeabilize bacterial membranes. *Redalyc - Revista de Química*, 39(4), 78-85.
- Mendoza, L. F., & Torres, A. G. (2023). Aplicaciones etnoveterinarias y propiedades farmacológicas de *Ambrosia arborescens*: una revisión integral. *Revista Andina de Ciencias Agropecuarias*, 18(2), 75–89. <https://doi.org/10.15446/raca.v18n2.98765>
- Molina, S., y Benavides, L. (2023). Ethnobotanical uses and potential respiratory effects of *Ambrosia arborescens*. *SciELO - Revista de Plantas Medicinales*, 25(2), 101-108.
- Monistero, V., Graber, H., Pollera, C., Cremonesi, P., Castiglioni, B., Bottini, E., Ceballos, A., Lasso, L., Kroemker, V., Wente, N., Petzer, I., Santisteban, C., Runyan, J., Piepers, S., De Vlieghe, S., Schwarzenbacher, H., Abrahamsen, R., y Moroni, P. (2020). *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in eight countries: genotypes, detection of genes encoding different toxins and other virulence genes. *Toxins*, 10(6), 247. <https://doi.org/10.3390/toxins10060247>
- Montgomery, D. C. (2012). *Design and analysis of experiments* (8th ed.). John Wiley & Sons.
- Mora, A. G. (2021). Perfil fitoquímico y potencial terapéutico de *Ambrosia arborescens* en la medicina tradicional. *Revista Ecuatoriana de Fitoterapia*, 14(1), 55–63.
- Mora, K. (2021). Phenolic acid composition and antioxidant activity of *Ambrosia arborescens* leaf extracts. *Redalyc - Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20(3), 287-295.)
- Morales, L. (2021). Phytochemical profile and in vitro antibacterial activity of *Ambrosia arborescens* against mastitis-causing bacteria. *Scopus Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113572.

- Motolinia, C. A., Pérez, D., & Rivera, J. (2023). Actividad antiinflamatoria de ácidos fenólicos en extractos de plantas tradicionales. *Journal of Natural Products and Bioactive Compounds*, 11(3), 142–150.
- MSD Veterinary Manual. (2020). Mastitis in Cattle. Recuperado de <https://www.msddvetmanual.com/reproductive-system/mastitis-in-large-animals/mastitis-in-cattle>
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2), 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Muñoz, E., y Calzado, M. A. (2014). *Encuentran en la ambrosía arborescens dos componentes anticancerígenos*. Universidad de Córdoba.
- Nájera, M., Ramírez, R., González, A., Hernández, J., y García, A. (2021). Economic impact of bovine mastitis in dual-purpose dairy herds of Veracruz, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 53(4), 1-9.
- Navarrete, S. M., & Cárdenas, J. L. (2021). Mecanismos de acción de compuestos bioactivos en plantas medicinales: enfoque en *Ambrosia arborescens*. *Revista Latinoamericana de Farmacognosia*, 8(2), 134–142.
- Nieto, M. A., Rosales, E. A., y Molina, F. (2016). *Técnicas diagnósticas en microbiología clínica*. Editorial Médica Panamericana.
- Núñez, F., Martínez, B., Peris, C., y Fernández, N. (2020). Determination of risk factors for high somatic cell count in goat milk: A review. *Small Ruminant Research*, 191, 106162. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106162>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2020). *The role of medicinal plants in managing inflammatory conditions in livestock*. FAO Animal Production and Health Paper, (184).
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2021). *Natural alternatives to antibiotics in animal agriculture: Challenges and opportunities*. FAO Animal Production and Health Paper, (188).

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2022). *Global trends in dairy production and animal health challenges*. FAO Animal Production and Health Paper, (185).
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2021). *Medicinal plants in animal health: Opportunities and challenges*. FAO Animal Production and Health Paper, (186).
- Organización Mundial de la Salud (2023). *Resistencia a los antimicrobianos: Informe mundial sobre vigilancia*.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789241564748>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2021). *WHO guidelines on research methods for evaluating the safety and efficacy of traditional medicine*. World Health Organization.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2020). *Antimicrobial resistance in food-producing animals: A global concern*. WHO Technical Report Series, (997).
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2020). *The role of traditional medicine in addressing antimicrobial resistance*. WHO Regional Publications, South-East Asia Series, (6).
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2020). *Antimicrobial resistance: A global report on surveillance*. World Health Organization.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2024). *WHO guidelines on the use of herbal medicines*. World Health Organization.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2024). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation*. World Health Organization.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2024). *WHO list of critically important antimicrobials for human medicine: 2024 revision*. World Health Organization.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2024). *WHO global report on traditional and complementary medicine 2024*. World Health Organization.
- Ortiz, L. (2024). Antibacterial activity of essential oils from *Ambrosia arborescens* against respiratory pathogens. *Scopus Journal of Essential Oil Research*, 36(2), 125-134.

- Ortiz, E., Mamani, D., & Salas, R. (2021). Evaluación fitoquímica y antimicrobiana de extractos de *Ambrosia arborescens* contra bacterias patógenas. *Revista Peruana de Biología*, 28(2), 157–166. <https://doi.org/10.15381/rpb.v28i2.21001>
- Páez, M. (2020). Wound healing potential of *Ambrosia arborescens*: An in vitro study. *Scopus Journal of Ethnopharmacology*, 263, 113210.
- Páez, J., y Cisneros, R. (2020). Alkaloid content in different populations of *Ambrosia arborescens* from the Ecuadorian Andes. *Redalyc - Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias de la Salud*, 2(3), 45-52.
- Paredes, S., y Gómez, M. (2021). Flavonoids from *Ambrosia arborescens* inhibit cell wall synthesis and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *SciELO - Revista de Microbiología*, 58(2), 187-194.
- Pazmiño, L. (2023). Inhibition of nitric oxide and prostaglandin production by *Ambrosia arborescens* extracts. *SciELO - Revista de Investigación en Salud*, 7(2), 89-96
- Pérez, S., y Vargas, M. (2023). Anti-inflammatory properties of *Ambrosia arborescens* extracts and their potential application in bovine mastitis. *SciELO - Revista de Química y Biología*, 36(2), 101-110.
- Pérez, V. (2022). In vitro cytotoxic effects of *Ambrosia arborescens* extracts on cancer cell lines. *SciELO - Revista de Oncología*, 38(1), 25-32.)
- Pérez, E., Andrade, A. y Segovia, M. (2023). Propiedades antibacterianas de extractos etanólicos de plantas medicinales utilizados en el control de mastitis bovina. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 70(2), 103–112. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24484917e.2023>
- Pérez, S., Morales, L., & Vargas, G. (2020). Actividad antimicrobiana de compuestos fenólicos en extractos de plantas medicinales andinas. *Acta Biológica Colombiana*, 25(2), 310-319. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n2.79285>
- Plants of the World Online. (2024). *Ambrosia arborescens* Mill. Royal Botanic Gardens, Kew. Recuperado el 23 de abril de 2025, de <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:306561-2>
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2005). *Microbiología* (6.ª ed.). McGraw-Hill Interamericana.

- Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B., & Carter, G. R. (2011). *Microbiología veterinaria* (8.ª ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Quinn, P., Markey, B., Leonard, F., FitzPatrick, E., Fanning, S., y Hartigan, P. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Quispe, C., Ramos, M., & Aranda, D. (2021). Caracterización fitoquímica y actividad antioxidante de *Ambrosia arborescens* del altiplano andino. *Journal of Medicinal Plants Research*, 15(4), 88–95.
- Ramos, J. A. (2013). *Actividad antitusiva del extracto hidroalcohólico de las hojas de Ambrosia arborescens Mill.* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Ramos, J., Fernández, E., & Pérez, P. (2014). *Guía de pruebas microbiológicas para identificación bacteriana.* Elsevier.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2007). *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* (10th ed.). Saunders Elsevier.
- Reyes, N. (2022). Phenolic acids from *Ambrosia arborescens* target essential bacterial enzymes in *Staphylococcus aureus*. *Redalyc - Revista de Bioquímica y Biología Molecular*, 41(1), 25-32.
- Rivero, M. (2020). *Diversidad de especies de la familia Asteraceae en altitudes entre 2000 y 3000 m s. n. m.*
- Ríos, J. L., Recio, M. C., & Villar, A. (2016). *Plantas medicinales con actividad antimicrobiana: una revisión científica.* Revista de Etnofarmacología.
- Ríos, L. A., Delgado, S. M., & Cárdenas, C. J. (2016). Actividad antimicrobiana de sesquiterpenlactonas extraídas de *Ambrosia arborescens*. *Revista de Fitoterapia Aplicada*, 13(1), 89–96.
- Rodríguez, L., Pérez, S., & Muñoz, C. (2020). Perspectivas del uso de fitofármacos en la salud animal. *Veterinaria México OA*, 7(3), 1-15.
<https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2020.3.771>

- Rodríguez, R., González, R., y Díaz, A. (2022). La etnobotánica y su aplicación en la medicina veterinaria en Ecuador. *Revista Latinoamericana de Ciencias Etnobiológicas*, 9 (2), 45-59. <https://doi.org/10.1016/j.rlce.2022.04.001>
- Rodríguez, E., y Rojas, R. (2002). *El herbario: Administración y manejo de colecciones botánicas*. Universidad Nacional de Trujillo.
- Rodríguez, D., Lombard, B., Smith, H., Rzezutka, A., D'Agostino, M., Helwich, B., y Cook, N. (2007). Trends in analytical methodology in food safety and quality: Monitoring microorganisms and genetically modified organisms. *Trends in Food Science & Technology*, 18(6), 306–319. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.02.005>
- Rodríguez, P. (2023). Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy herds: A systematic review and meta-analysis. *Redalyc - Revista de Salud Animal*, 45(2), e005.
- Rodríguez, M. y Castro, J. (2020). Comparative in vitro antioxidant activity of *Ambrosia arborescens* extracts using different assays. *Redalyc - Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19(4), 350-358.
- Rojas, P. y Díaz, C. (2020). Identification and antioxidant activity of flavonoids extracted from *Ambrosia arborescens*. *SciELO - Revista de Biología Tropical*, 68(4), 1357-1365.
- Rollin, E., Cunha, F., y Bello, J. (2021). Economic analysis of bovine mastitis epidemiology and control strategies. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6643-6659.
- Ruegg, P. (2021). Antimicrobial use on dairy farms: Improving culture results and implementing selective treatment protocols. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 37(1), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.11.001>
- Ruegg, P. L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10381–10397. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
- Ruiz, M. y Vargas, L. (2021). Antimicrobial potential of *Ambrosia arborescens* extracts against human and animal pathogens. *Redalyc - Revista de Ciencias de la Salud*, 23(2), 115-128.
- Ruiz, P. M., & Delgado, A. L. (2021). Variabilidad fitoquímica en extractos de *Ambrosia arborescens* según factores ambientales y métodos de extracción. *Revista*

- Latinoamericana de Plantas Medicinales*, 20(3), 115–124.
<https://doi.org/10.1016/j.rlpm.2021.03.005>
- Salazar, M. (2023). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Ambrosia arborescens*. *SciELO - Revista de la Sociedad Química del Perú*, 89(1), 15-24.
- Salazar, J., y Benítez, R. (2021). Ambrosin from *Ambrosia arborescens* inhibits NF- κ B signaling pathway. *Scopus International Immunopharmacology*, 99, 107956.
- Salazar, F., y Cisneros, Q. (2022). Potential neuropharmacological effects of *Ambrosia arborescens*: A preliminary investigation. *Redalyc - Revista de Neurociencias*, 30(1), 15-22.
- Salazar, V. H., & Méndez, R. P. (2020). Composición química y actividades biológicas de sesquiterpenlactonas en *Ambrosia arborescens*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19(5), 482–491.
- Sánchez, R. (2022). Protective effects of *Ambrosia arborescens* extracts against oxidative damage in cellular models. *Scopus Journal of Ethnopharmacology*, 284, 114785.
- Sánchez, E. (2023). *Ambrosia arborescens* compounds modulate PI3K/Akt/mTOR signaling in cancer cells. *Redalyc - Revista de Investigación Bioquímica*, 42(2), 78-85.
- Sánchez, E. P., & Morales, D. E. (2021). Nuevas estrategias terapéuticas basadas en compuestos naturales frente a bacterias multirresistentes. *Revista Andina de Medicina Natural*, 10(2), 200–215.
- Sánchez, G. (2020). Anti-inflammatory activity of *Ambrosia arborescens*: *In vitro* and *in vivo* studies. *Scopus Journal of Ethnopharmacology*, 250, 112456.
- Sánchez, M., Centelles, D., López, C., y Gil, A. (2006). *Métodos microbiológicos en la identificación de patógenos bacterianos*. Ediciones Médicas.
- Santos, J., y Martínez, O. (2023). Probiotics for the prevention and treatment of bovine mastitis: Current evidence and future perspectives. *Redalyc - Revista de Microbiología e Inmunología*, 40(1), 15-22.
- Schalm, O. W., Carroll, E. J., & Jain, N. C. (1971). *Bovine mastitis*. Lea & Febiger.
- Sharma, A., Gupta, R. y Rani, A. (2020). Propiedades antimicrobianas de *Ambrosia arborescens* contra bacterias patógenas. *Revista de Etnofarmacología*, 267, 113471. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113471>

- Silva, M. (2022). Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis: An updated review. *Scopus Journal of Veterinary Microbiology*, 275, 109587.
- Smith, A. B., y Jones, C. D. (2020). Historical perspectives on bovine mastitis. *Journal of Dairy History*, 5(1), 12-25.
- Tapahuasco, L. (2012). *Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de Ambrosia arborescens Mill.* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Tene, V., Malagón, O., Finzi, P. V., Vidari, G., Armijos, C., & Zaragoza, T. (2021). Antimicrobial activity of medicinal plants used in the Ecuadorian Andes. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113575. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113575>
- Thapa, S. (2022). Global trends in milk production and dairy sector development. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 20(3), 245-260.
- Torres, A. (2024). *In vivo* evaluation of *Ambrosia arborescens* extract as an alternative treatment for bovine mastitis: Preliminary findings. *Scopus Animal Health Research Reviews*, 25(1), 78-85.
- Torres, A. (2024). *In vivo* anti-inflammatory effects of *Ambrosia arborescens* extracts in animal models. *Scopus Journal of Ethnopharmacology*, 310, 116350.
- Torres, F. (2024). *In vivo* evaluation of the anti cancer potential of *Ambrosia arborescens* extracts in animal models. *Scopus Journal of Ethnopharmacology*, 315, 116520.
- Torres, F. (2024). Comprehensive phytochemical profiling of *Ambrosia arborescens* using HPLC-MS/MS. *Scopus Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 245, 115089.
- Torres, R., & Cárdenas, J. (2021). Plantas medicinales como alternativa a los antibióticos en medicina veterinaria. *Revista de Fitoterapia*, 21(2), 145-154. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.104964>
- Turchi, B., Bertelloni, F., Marzoni, M., Cerri, D., & Viviani, F. (2020). *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *staphylococci* associated with subclinical mastitis in dairy cattle: Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance. *Antibiotics*, 9(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070381>

- United States Department of Agriculture (USDA). (2021). Dairy Sector Structural Changes: Farm Size, Location, and Production. *Economic Research Report*, 287, 1-35.
- Valdivieso, A., Romero, R., y Paredes, J. (2022). *Fitoterapia veterinaria: alternativas terapéuticas frente a la resistencia antimicrobiana en ganado lechero*. Tesis doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vargas, G. (2023). Bioavailability and metabolism of antioxidant compounds from *Ambrosia arborescens*: A preliminary study. *Scopus Antioxidants*, 12(5), 1025.
- Vargas, R., y Pérez, M. (2022). Flavonoid profile of *Ambrosia arborescens* and their antioxidant potential. *SciELO - Revista de Ciencias Farmacéuticas*, 25(1), 45-52.
- Vásquez, M. E., Ríos, C. J., & Ortega, L. A. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Ambrosia arborescens* frente a *Staphylococcus aureus* multirresistente. *Revista de Ciencias Biomédicas*, 12(1), 45–53. <https://doi.org/10.32776/rcb.v12i1.876>
- Vega, L. (2022). Steroids and triterpenoids from *Ambrosia arborescens* with anti-inflammatory and antioxidant activities. *Scopus Steroids*, 180, 108975.
- Vera, R., Lazo, J., y Huamán, M. (2023). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de *Ambrosia arborescens* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de vacas lecheras con mastitis subclínica. *Revista Científica Agropecuaria*, 55(3), 211–218. <https://doi.org/10.17162/rca.v55i3.1059>
- Villacís, E., y Andrade, P. (2024). *Ambrosia arborescens* extract modulates the inflammatory response to *Staphylococcus aureus* infection in vitro. *Scopus Journal of Inflammation Research*, 17, 115-124.
- Wiegand, I., Hilpert, K., y Hancock, R. E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163-175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- World Health Organization. (2020). *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- World Organization for Animal Health [OIE]. (2020). *OIE Annual report on antimicrobial agents intended for use in animals*. OIE.

- Zambrano, J. (2023). Cytotoxic diterpenes from *Ambrosia arborescens*: An *in vitro* study. *Scopus Journal of Natural Products*, 86(2), 350-358.
- Zendejas, G., Avalos, H., y Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25(3), 123–135.
<https://revistabiomedica.uady.mx/index.php/revbiomed/article/view/42>
- Zong, Z., Wu, X., y Liu, Y. (2020). *Resistance of Staphylococcus aureus to antibiotics and novel therapeutic strategies*. *Veterinary Microbiology*.

ANEXOS

Anexo 1.

Recolección del material vegetal



Anexo 2.

Fase de laboratorio (Identificación taxonómica de la especie)



Proceso de secado, para identificación taxonómica de la planta



Montaje de la planta

Anexo 3.
Fase de laboratorio (Obtención de extracto)



Deshidratación del material vegetal



Colocación de metanol en la planta triturada



Proceso de maceración dinámica



Proceso de filtrado



Proceso de evaporación en rotaevaporador



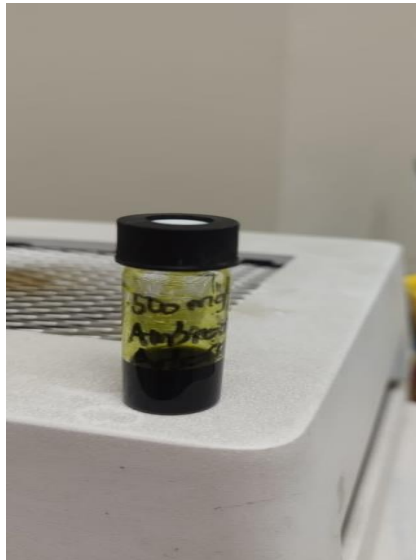
Evaporación del solvente utilizando rotaevaporador



Extracto total obtenido



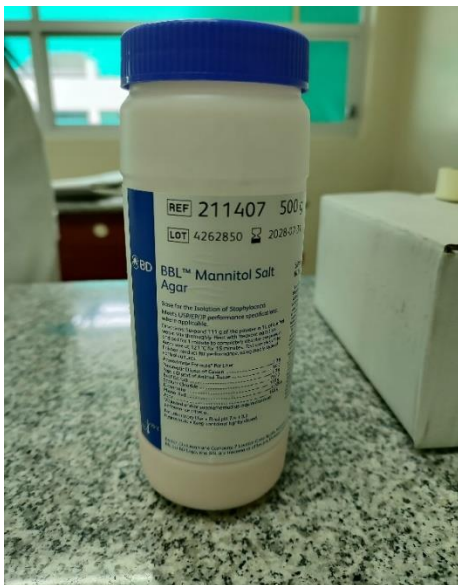
Consistencia del extracto



Preparación 500 mg extracto/1 ml metanol

Anexo 4.

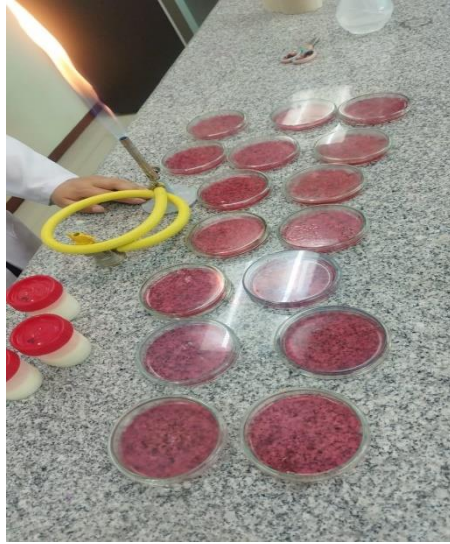
Fase de laboratorio (Aislamiento e identificación de la bacteria)



Agar manitol salado



Cajas Petri listas para esterilizar



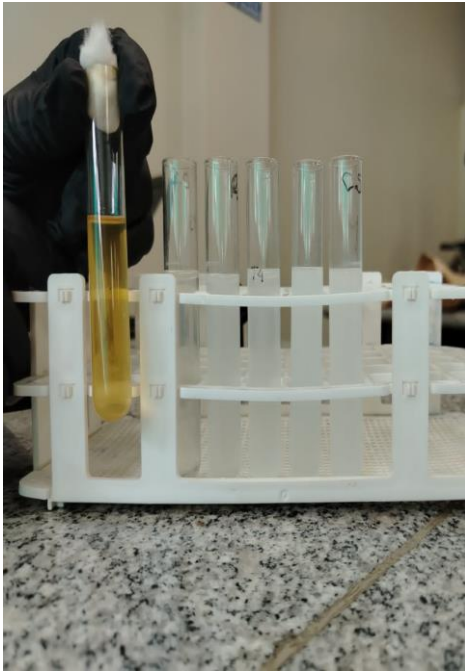
Preparación de agar para siembra de muestras



Crecimiento bacteriano

Anexo 5.

Pruebas para obtención de datos



Estandarización de bacteria con escala de McFarland

Placa de 96 pocillos en espectrofotómetro

Anexo 6.

Identificación molecular de la bacteria



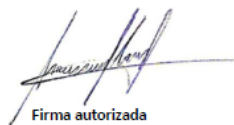
Av. De los Granados E14-285 y Eloy Alfaro
Teléfono: 0998982450
e-mail: idgen.ecuador@gmail.com
R.U.C. 1713443479001

Informe de Resultados

Nombre del Proyecto: Identificación molecular de bacterias – Karen Forero
Informe No.: A-707
Técnico Responsable: Sofia Garrido, Ing.
Fecha: 28/03/2025

Resumen de Resultados

Código IDgen	Muestra	Longitud	Calidad	Organismo	Fragmento	% de identidad	Nº Accesoión
B651	Tubo ensayo C.C 2 (5)	1362	98.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	165	100	CP038183.1



Firma autorizada

Francisco Javier Flores Flor, PhD.
Propietario IDgen

Anexo 7.

Tratamientos, repeticiones, porcentajes de crecimiento e inhibición bacterianas.

CONCENTRACIONES	TRATAMIENTOS	REPETECIONES	% CRECIMIENTO BACTERIANO (<i>Ambrosia arborescens</i>)	% INHIBICION (<i>Ambrosia arborescens</i>)
500 mg/ml	1	1	22,88	77,26
	1	2	21,72	78,54
	1	3	19,81	80,45
250 mg/ml	2	1	32,27	67,85
	2	2	32,82	67,40
	2	3	33,78	66,43
125 mg/ml	3	1	51,81	48,28
	3	2	47,03	53,14
	3	3	47,79	52,38
62.5 mg/ml	4	1	55,61	44,47
	4	2	59,05	41,08
	4	3	55,42	44,72
31.25 mg/ml	5	1	62,49	37,57
	5	2	62,63	37,49
	5	3	64,98	35,13
ANTIBIÓTICO	6	1	0,179	99,82
	6	2	0,326	99,67
	6	3	0,33	99,67

Anexo 8.

Certificado de depósito de muestra de *Ambrosia arborescens* en herbario de la PUCE-I



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador
Seréis mis testigos

IBARRA

Herbario ICAI

Certificado Depósito Especímenes Herbario ICAI

Ibarra, 1 de abril de 2025

Por la presente me permito certificar que la Srta. Karen Alejandra Forero Vargas con cédula de identidad No. 1711903250, estudiante de la carrera de Zootecnia de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador sede Ibarra (PUCE-I), depositó 3 muestras botánicas correspondientes a la especie *Ambrosia arborescens* en el Herbario ICAI de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales de la PUCE-I, que fueron colectadas como parte de su Trabajo de Titulación denominada: "Evaluación de la eficacia del extracto total de (*Ambrosia arborescens*) como alternativa natural a los antibióticos convencionales para el control de la mastitis bovina causada por (*Staphylococcus aureus*) In vitro".

Particular que informo para los fines pertinentes.

Atentamente,

Paola
Chávez
G.

Firmado
digitalmente por
Paola Chávez G.
Fecha:
2025.04.01
10:07:02 -05'00'



Mgs. Paola Chávez Guerrero
Responsable del Herbario ICAI

Dirección: Av. Jorge Guzmán Rueda y Av. Aurelio Espinosa Pólit, Ciudadela "La Victoria".
Teléf: (593-6) 2615 500 / 2615 453 Ext. 1000 Cel. 099 236 27 13 / 098 138 3498
Ibarra - Ecuador / www.pucesi.edu.ec

