



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

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

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBIÓTICO DEL EXTRACTO DE LAS PLANTAS
CHAMICO (*Datura stramonium*) Y FLORIPONDIO (*Brugmansia arborea*) FRENTE A
(*Staphylococcus xylosus*) CAUSANTE DE LA MASTITIS BOVINA**

ALEX DARIO ECHEVERRIA ROSERO

TUTOR: Ph.D. YADIRA FERNANDA ORDOÑEZ VIVANCO

IBARRA – ECUADOR

JULIO, 2025

Ibarra, 21 de julio de 2025

CERTIFICACIÓN TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de integración curricular titulado: EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBIÓTICO DEL EXTRACTO DE LAS PLANTAS CHAMICO (*Datura stramonium*) Y FLORIPONDIO (*Brugmansia arborea*) FRENTE A (*Staphylococcus xylosus*) CAUSANTE DE LA MASTITIS BOVINA, presentado por el estudiante Alex Darío Echeverría Rosero, con cédula de ciudadanía N° 1004401921, para obtener el Título de Ingeniero Zootecnista.

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

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

turnitin Página 2 of 94 - Descripción general de integridad Identificador de la entrega trnoid:1.3314223077

7% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado

Fuentes principales

- 8% Fuentes de Internet
- 1% Publicaciones
- 2% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

- Caracteres reemplazados**
40 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitan distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo. Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

(f): 

Dra. Yadira 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):

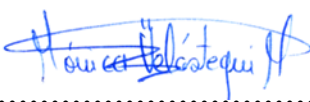
Yadira Fernanda Ordoñez Vivanco

C.C.: 1103764864


(f):

Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399


(f):

Mónica Patricia Velástegui Moreno

C.C.: 0503323024

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo, ALEX DARIO ECHEVERRIA ROSERO, 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”.

Ibarra, 21 de julio de 2025



ALEX DARIO ECHEVERRIA ROSERO

C.C.: 1004401921

AUTORÍA

Yo, ALEX DARIO ECHEVERRIA ROSERO, portador de la cedula de ciudadanía N° 1004401921, declaro que la presente de investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



ALEX DARIO ECHEVERRIA ROSERO

C.C.: 1004401921

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme la fortaleza, salud y la perseverancia para terminar con esta etapa importante en mi vida.

A mis padres, por su apoyo incondicional y por enseñarme el valor del esfuerzo y la constancia para alcanzar mis metas.

A mis maestros, por compartir sus conocimientos y experiencias para guiarme en cada etapa de mi formación académica.

Y a todas aquellas personas que de una manera u otra contribuyeron para alcanzar este logro importante en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por guiar mis pasos con sabiduría en cada momento de este proceso.

A mis padres, hermano y familiares, gracias por su confianza en mí han sido el motor que me impuso a seguir adelante incluso en los momentos más difíciles.

A mis asesores, que, con su paciencia, exigencia, dedicación supieron guiarme y brindarme las herramientas necesarias para alcanzar con esta meta valiosa en mi formación académica.

A mis compañeros y amigos, con quienes compartimos momentos valiosos a lo largo de este camino.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIÓN TUTOR	ii
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS.....	iv
AUTORÍA.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE DE CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN	xv
ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO I	1
1 INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II	3
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivos específicos	3
2.3 HIPÓTESIS.....	3
CAPÍTULO III	4
3 ESTADO DEL ARTE	4
3.1 Mastitis.....	4
3.1.1 Fases de la infección bacteriana de la mastitis bovina	5
3.2 Métodos de detección y diagnóstico de mastitis	5
3.2.1 Observación clínica directa	5
3.2.2 Prueba de California Mastitis Test (CMT)	6
3.2.3 Cultivo bacteriológico	6
3.2.4 Conductividad eléctrica de la leche	6
3.3 Agentes causantes de mastitis.....	6
3.3.1 Agentes contagiosos	7

3.3.2	Agentes ambientales.....	7
3.3.3	Agentes oportunistas.....	7
3.4	Tipos de mastitis.....	8
3.4.1	Clínica.....	8
3.4.2	Subclínica.....	8
3.5	Tratamientos y control de mastitis.....	8
3.6	<i>Staphylococcus xylosus</i>	10
3.7	Resistencia Bacteriana.....	11
3.8	Alternativa antibiótica.....	12
3.9	Plantas con propiedades antibióticas.....	13
3.10	Chamico (<i>Datura stramonium</i>).....	14
3.10.1	Descripción geográfica y botánica.....	14
3.10.2	Usos tradicionales.....	14
3.10.3	Composición química.....	15
3.11	Floripondio (<i>Brugmansia arborea</i>).....	15
3.11.1	Descripción geográfica y botánica.....	15
3.11.2	Usos tradicionales.....	16
3.11.3	Composición química.....	16
3.12	Extracción de extracto vegetal.....	17
3.12.1	Extracción sólida – líquido.....	17
3.12.2	Maceración dinámica.....	17
CAPÍTULO IV.....		19
4	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
4.1	Materiales.....	19
4.1.1	Muestras biológicas.....	19
4.1.2	Equipos de laboratorio.....	19
4.1.3	Materiales de laboratorio.....	19
4.1.4	Reactivos.....	20
4.2	Metodología.....	20
4.2.1	Diseño experimental.....	20
4.2.2	Variables.....	21
4.2.2.1	Variables independientes.....	21
4.2.2.2	Variables dependientes.....	21

4.2.3	Recolecta de material vegetal e identificación taxonómica	23
4.2.4	Extracción de compuestos activos	25
4.2.5	Procedimiento para el cultivo y aislamiento de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	27
4.2.5.1	Toma de la muestra	27
4.2.5.2	Cultivo de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	28
4.2.5.3	Aislamiento de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	29
4.2.6	Caracterización morfológica y bioquímica de <i>Staphylococcus xylosus</i>	30
4.2.6.1	Prueba de tinción Gram	30
4.2.6.2	Prueba de catalasa	30
4.2.6.3	Prueba de coagulasa	30
4.2.7	Caracterización molecular de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	31
4.2.8	Establecimiento de la actividad biológica de los extractos de las especies vegetales	32
4.2.9	Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y crecimiento bacteriano mediante el método de microdilución.....	32
4.2.10	Diagrama de flujo del procedimiento de extracción de extracto total mediante maceración dinámica	33
4.2.11	Diagrama de flujo del procedimiento de aislamiento de la bacteria <i>S. xylosus</i>	35
CAPÍTULO V		37
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.3	Obtención e identificación taxonómica de las especies vegetales	37
4.4	Obtención de los extractos totales de las especies vegetales	39
4.5	Identificación morfológica de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina mediante la prueba de tinción Gram.....	40
4.6	Prueba de catalasa de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	41
4.7	Prueba de coagulasa	42
4.8	Identificación molecular de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	43
4.9	Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y porcentaje de crecimiento bacteriano por el método de microdilución	44
4.9.1	Prueba de normalidad de Shapiro – Wilk y Homocedasticidad de varianza de Levene.....	46
4.9.2	Análisis de varianza de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la aplicación de dosis de extracto total de <i>Brugmansia arborea</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	47
4.9.3	Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la utilización de extracto total de <i>Brugmansia arborea</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	48

4.9.4	Análisis de varianza de la variable porcentaje de inhibición bacteriana mediante la aplicación de extracto total de <i>Brugmansia arbórea</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	49
4.9.5	Comparación múltiple de promedio de la variable inhibición bacteriana mediante la utilización de extracto total de <i>Brugmansia arbórea</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	50
4.9.6	Análisis de varianza de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la aplicación de dosis de extracto total de <i>Datura stramonium</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	52
4.9.7	Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la utilización de extracto total de <i>Datura stramonium</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	53
4.9.8	Análisis de varianza de la variable porcentaje de inhibición bacteriana mediante la aplicación de extracto total de <i>Datura stramonium</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	55
4.9.9	Comparación múltiple de promedio de la variable inhibición bacteriana mediante la utilización de extracto total de <i>Datura stramonium</i> sobre la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i> aislada de mastitis bovina.	56
CAPÍTULO VI.....		59
5	CONCLUSIONES.....	59
CAPÍTULO VII.....		60
6	RECOMENDACIONES.....	60
CAPÍTULO VIII.....		61
7	REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA.....	61
ANEXOS.....		71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de <i>Datura stramonium</i>	14
Tabla 2 Clasificación taxonómica de <i>Brugmansia arborea</i>	16
Tabla 3 Tratamientos	21
Tabla 4 Total de unidades experimentales para el ensayo	22
Tabla 5 Esquema del ANOVA	22
Tabla 6 Valoración de resultados de la prueba CMT	28
Tabla 7 Reacciones obtenidas de las pruebas bioquímicas realizadas a la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	31
Tabla 8 Área de recolección de especies vegetales	37
Tabla 9 Porcentaje de rendimiento del extracto total.....	39
Tabla 10 Identificación molecular del aislado bacteriano	43
Tabla 11 Porcentaje de crecimiento bacteriano del extracto total de la especie vegetal <i>Brugmansia arborea</i>	44
Tabla 12 Porcentaje de inhibición bacteriana del extracto total de la especie vegetal <i>Brugmansia arborea</i>	45
Tabla 13 Porcentaje de crecimiento bacteriano del extracto total de la especie vegetal <i>Datura stramonium</i>	45
Tabla 14 Porcentaje de inhibición bacteriana del extracto total de la especie vegetal <i>Datura stramonium</i>	46
Tabla 15 Prueba de normalidad y homocedasticidad	46
Tabla 16 Análisis de varianza de la variable crecimiento bacteriano del extracto total de la especie <i>Brugmansia arborea</i>	47
Tabla 17 Análisis de varianza de la variable inhibición bacteriana del extracto total de la especie <i>Brugmansia arborea</i>	50
Tabla 18 Análisis de varianza de la variable crecimiento bacteriano del extracto total de la especie <i>Datura stramonium</i>	53
Tabla 19 Análisis de varianza de la variable inhibición bacteriana del extracto total de la especie <i>Datura stramonium</i>	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Zona donde se llevó a cabo la investigación	23
Figura 2 Zona donde se llevó a cabo la recolección de las especies vegetales.....	24
Figura 3 Zona donde se llevó a cabo la recolección de la muestra de leche.....	27
Figura 4 Diagrama de flujo del procedimiento de extracción del extracto total mediante maceración dinámica.....	34
Figura 5 Diagrama de flujo del procedimiento de aislamiento de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	35
Figura 6 Muestra vegetal <i>Brugmansia arborea</i>	38
Figura 7 Muestra vegetal <i>Datura stramonium</i>	38
Figura 8 Resultados tinción Gram de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	40
Figura 9 Prueba de catalasa de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	41
Figura 10 Prueba de coagulasa de la bacteria <i>Staphylococcus xylosus</i>	42
Figura 11 Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable crecimiento bacteriano de <i>Brugmansia arborea</i>	48
Figura 12 Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable inhibición bacteriana de <i>Brugmansia arborea</i>	51
Figura 13 Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable crecimiento bacteriano de <i>Datura stramonium</i>	54
Figura 14 Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable inhibición bacteriana de <i>Datura stramonium</i>	56

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Fase de Campo	71
Anexo 2 Fase de laboratorio	72
Anexo 3 Identificación molecular de bacteria	75

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se centró en la evaluación de la actividad antibiótica de los extractos vegetales totales de Chamico (*Datura stramonium*) y Floripondio (*Brugmansia arborea*) frente a *Staphylococcus xylosus*, una bacteria oportunista asociada a casos de mastitis bovina, patología que genera importantes pérdidas económicas y afecta el bienestar animal. Las especies vegetales seleccionadas pertenecen a la familia *Solanaceae*, reconocida por su contenido de compuestos bioactivos con potencial antimicrobiano, proponiéndose, así como una alternativa sostenible frente al uso de antibióticos convencionales.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con seis tratamientos y tres repeticiones, totalizando 18 unidades experimentales. La actividad antimicrobiana se evaluó utilizando cinco concentraciones de extracto (500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml y 31.25 mg/ml), aplicadas sobre cultivos de *S. xylosus* aislados de casos clínicos. Los extractos se obtuvieron mediante maceración dinámica con metanol al 99% como solvente.

El ensayo se realizó en placas de 96 pocillos, donde se aplicaron las diferentes concentraciones de extracto junto con el inóculo bacteriano. Se incluyó un control positivo con antibiótico. El crecimiento bacteriano se determinó mediante espectrofotometría, midiendo la densidad óptica a 0 y 18 horas.

Los valores promedio de absorbancia para *B. arborea* fueron de 0.26, 0.32, 0.45, 0.55 y 0.75; y para *D. stramonium*, de 0.28, 0.34, 0.47, 0.58 y 0.76, correspondientes a las concentraciones mencionadas. Una menor absorbancia indicó una mayor inhibición bacteriana. El análisis estadístico, realizado mediante la prueba de normalidad de Shapiro–Wilk, ANOVA y prueba de Tukey al 5%, reveló diferencias significativas entre tratamientos, destacando una leve mayor eficacia del extracto de *Brugmansia arborea* frente a la cepa bacteriana evaluada.

Palabras clave: *Staphylococcus coagulasa* negativa, infecciones intramamarias bovinas, Control de mastitis bovina, metabolitos secundarios, extractos de plantas medicinales

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the antibiotic activity of total plant extracts from Chamico (*Datura stramonium*) and Floripondio (*Brugmansia arborea*) against *Staphylococcus xylosus*, an opportunistic bacterium associated with bovine mastitis, a condition that causes economic losses for producers and negatively affects animal welfare. The selected plant species belong to the *Solanaceae* family, known for their bioactive compounds with antimicrobial potential, making them a promising sustainable alternative to conventional antibiotics.

A completely randomized design (CRD) was used with six treatments and three replicates, resulting in a total of 18 experimental units. Antimicrobial activity was evaluated at five extract concentrations (500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml, and 31.25 mg/ml), applied to *S. xylosus* strains isolated from clinical cases of bovine mastitis. The total extracts were obtained through dynamic maceration using 99% methanol as the solvent.

The assay was conducted in 96-well polystyrene plates, where each well received bacterial inoculum along with the respective extract concentration. A positive control using a commercial antibiotic was included. Bacterial growth was measured at 0 and 18 hours using spectrophotometry to determine the optical density in each well.

Average absorbance values for *B. arborea* were 0.26, 0.32, 0.45, 0.55, and 0.75, while for *D. stramonium* they were 0.28, 0.34, 0.47, 0.58, and 0.76, respectively, across the tested concentrations. Lower absorbance values indicated higher bacterial inhibition. Statistical analysis using the Shapiro–Wilk normality test, ANOVA, and Tukey’s test at a 5% significance level revealed significant differences among treatments, highlighting a slightly greater antibacterial efficacy of *Brugmansia arborea* extract against the tested bacterium.

Keywords: *Coagulase-negative Staphylococcus*, Bovine intramammary infections, Mastitis control, Plant secondary metabolites, Medicinal plant extracts

CAPÍTULO I

1 INTRODUCCIÓN

El uso de los antibióticos ha permitido curar y tratar enfermedades en personas y animales, en la ganadería la mastitis bovina es un problema muy frecuente que afecta a los productores de leche y el tratamiento se basa principalmente en la administración de antibióticos, sin embargo, el uso indebido ha provocado el desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos o también denominadas como superbacterias convirtiéndose en un problema importante en el mundo (Cruz et al., 2007).

Esta resistencia bacteriana es considerada como uno de las mayores amenazas que enfrenta la salud humana y la sanidad animal. En el 2019, se ha calculado la cantidad de 5 millones de muertes humanas que están vinculadas con la resistencia antibacteriana lo que se convierte en un impacto preocupante a nivel mundial (Murray et al., 2022).

En el siguiente trabajo de investigación se evaluó el efecto antibiótico in vitro del extracto de las plantas *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea* frente a la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislado de mastitis bovina. La mastitis bovina es la inflamación de las glándulas mamarias causada por bacterias y es la enfermedad más frecuente en la industria láctea en todo el mundo. Esta enfermedad reduce notablemente la producción de leche, además de su calidad, afecta negativamente la salud del animal provocando pérdidas económicas significativas a los productores (Calderón y Rodríguez, 2008).

La infección de mastitis bovina causada por *Staphylococcus xylosus* y el aumento constante de la resistencia antibacteriana, ha enfatizado la necesidad de encontrar alternativas naturales a los antibióticos convencionales. Por tal motivo, las plantas surgen como una alternativa altamente eficaz debido a sus propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y anti fúngicas que sus compuestos activos poseen, además se estima que solo entre 5 y 15 por ciento de 250 mil plantas medicinales han sido investigadas para este propósito dejando en evidencia el gran potencial de las plantas sin explorar para la búsqueda de nuevos tratamiento y elaboración de fármacos (Rivas et al., 2016).

Staphylococcus xylosus es una bacteria que pertenece al grupo de *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN), implicada en casos de mastitis subclínicas bovina persistente, es un agente etiológico emergente que ha tomado relevancia debido a que se ha encontrado resistencia a los antibióticos convencionales dificultando el tratamiento y manejo en bovinos con infecciones de esta bacteria lo que genera un desafío en los sistemas de producción de leche (Velásquez et al., 2020).

La mastitis subclínica es un problema silencioso que genera pérdidas económicas considerables para los productores, debido a que, no muestra signos en los animales que se pueda observar fácilmente, por lo tanto, es necesario hacer un test de mastitis para determinar el conteo de células somáticas (CCS) presentes en la leche y poder confirmar la patología. En los sistemas de producción láctea se valora que al menos 1/3 de toda la población bovina lechera sufre de mastitis, de los cuales el 10 por ciento es mastitis clínica y el 90 por ciento representa la mastitis subclínica (Ormaza y Rueda, 2021).

En este contexto, la incidencia de casos de mastitis subclínica por *Staphylococcus* coagulasa negativa a incrementado en conjunto con la resistencia bacteriana, es por esto que se busca nuevas alternativas naturales basado en propiedades bioactivas de plantas. Por lo tanto, este estudio está enfocado en la evaluación de extractos de las plantas *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea* frente a la bacteria *Staphylococcus xylosus* en donde se determinó la concentración mínima inhibitoria bacteriana y el rendimiento del extracto total, sugiriendo una alternativa eficaz que puede aportar a la sostenibilidad y a la producción láctea.

CAPÍTULO II

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antibiótico in vitro del extracto de las plantas Chamico (*Datura stramonium*) y Floripondio (*Brugmansia arborea*) frente a (*Staphylococcus xylosus*) causante de la mastitis bovina.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar microbiológicamente la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de las plantas Chamico (*Datura stramonium*) y Floripondio (*Brugmansia arborea*) frente a *Staphylococcus xylosus*.
- Determinar el rendimiento del extracto total de las plantas Chamico (*Datura stramonium*) y Floripondio (*Brugmansia arborea*) obtenido mediante la maceración dinámica.

2.3 HIPÓTESIS

Ho: La bacteria (*Staphylococcus xylosus*) no muestra sensibilidad frente a los extractos de las plantas Chamico (*Datura stramonium*) y Floripondio (*Brugmansia arborea*).

Ha: La bacteria (*Staphylococcus xylosus*) muestra sensibilidad frente a los extractos de las plantas Chamico (*Datura stramonium*) y Floripondio (*Brugmansia arborea*).

CAPÍTULO III

3 ESTADO DEL ARTE

3.1 Mastitis

La mastitis bovina es una enfermedad inflamatoria de las glándulas mamarias producida por bacterias de naturaleza endémica, es decir que se presenta de manera constante en una región geográfica a lo largo de todo el año, por lo que genera grandes pérdidas económicas para la industria láctea (Muñoz, 2014). Además, la mastitis puede presentar casos clínicos o subclínicos y como mediada de control se emplean antibióticos como tratamientos de las infecciones, a pesar de que estos medicamentos han beneficiado a disminuir la incidencia de mastitis, el uso indebido ha provocado la aparición de cepas resistentes como los *Staphylococcus spp* que son bacterias principales en casos de mastitis lo que ha generado que se reduzca considerablemente la eficiencia del tratamiento y la tasa de curación (Jiménez et al., 2020).

La mastitis provoca grandes pérdidas económicas y gran desafío para los productores, debido a varios factores como la reducción de producción láctea como su calidad, mayores gastos en insumos y tratamientos, desecho de leche no apta para el consumo, además del descarte de bovinos con problemas de mastitis, por lo general esta enfermedad es producida por prácticas inadecuadas de ordeño y la falta de higiene antes, durante y después del ordeño que afectan negativamente a la salud de las glándulas mamarias de los bovinos (Otero et al., 2024).

El manejo efectivo de la mastitis involucra un enfoque integrado y orientado a reducir los casos de infecciones intramamarias de los bovinos de producción de leche, en lugar de solo limitar a los tratamientos de las infecciones, la implementación de prácticas que incluyan estrategias adecuadas desde la selección de los animales hasta aspectos más específicos como la genética, nutrición y la alimentación, este enfoque es clave para garantizar y mitigar la presencia de mastitis y pérdidas económicas (Andresen, 2001).

3.1.1 Fases de la infección bacteriana de la mastitis bovina

De acuerdo con Gasque (2015), las etapas de la infección bacteriana se dividen en:

- **Fase de invasión bacteriana:** Esta fase ocurre cuando el bovino entra en contacto con microorganismos patógenos que ingresan por el conducto del pezón e infectan el tejido intramamario.
- **Fase de colonización o infección:** Los microorganismos colonizan los alvéolos mamarios encargados de la producción de la leche, las bacterias se adhieren al tejido mediante biofilms que les brinda protección contra el sistema inmunológico y comienza a proliferar.
- **Fase de respuesta inflamatoria:** El sistema inmunológico del animal como respuesta a la infección activa la respuesta inflamatoria aumentando el flujo sanguíneo en el área afectada para lograr reclutar leucocitos para combatir las bacterias y como consecuencia provoca el aumento en el conteo de células somáticas, en esta fase es muy común signos como rubor, tumor, calor, dolor.
- **Fase de daño tisular:** Si el tratamiento no se realiza a tiempo y persiste por tiempos prolongados las bacterias pueden dañar el epitelio mamario, un tejido que recubre los alvéolos de las glándulas mamarias, provocando la disminución de la producción láctea.
- **Fase de resolución o cronicidad:** En esta fase si el tratamiento y el sistema inmunológico fue efectivo el tejido se regenera, por otra parte, si la infección no se trató adecuadamente puede volverse crónica con botes recurrentes o generar atrofia glandular a lo largo del tiempo.

3.2 Métodos de detección y diagnóstico de mastitis

3.2.1 Observación clínica directa

De acuerdo con Contrino (2009), consiste en examinar mediante la observación y el tacto del tejido mamario, tanto de los cuartos anteriores como posteriores para detectar cualquier anomalía como hinchazón, dolor, calor o lesiones, además de notar cambios en la apariencia de la leche como el color, olor, consistencia que pueden ser visibles a simple vista en casos de mastitis clínica, sin embargo, no es posible evidenciar estos signos en casos de mastitis subclínicas.

3.2.2 Prueba de California Mastitis Test (CMT)

Es una prueba rápida y económica de campo que consiste en determinar la presencia de mastitis subclínica, por efecto de la reacción química entre el reactivo del producto y el ADN de las células somáticas principalmente leucocitos presentes en la leche debido a la infección que el sistema inmunológico combate se precipita un gel viscoso en la paleta de prueba de mastitis confirmando o no la presencia de la patología, por lo tanto mientras mayor sea la reacción con leucocitos mayor grado de viscosidad se presenta (Huang y Kusaba, 2022).

3.2.3 Cultivo bacteriológico

El cultivo bacteriológico se lo realiza en laboratorios, esto consiste en sembrar una muestra previamente identificada con presencia de mastitis e incubarla para poder observar el crecimiento bacteriano y determinar la bacteria que lo está causando, esto permite identificar el agente etiológico específico además de evaluar la sensibilidad a antibióticos, este procedimiento es más lento y conlleva más costo, sin embargo, permite dar un tratamiento más concreto para eliminar la patología (Colorado et al., 2018).

3.2.4 Conductividad eléctrica de la leche

Esta técnica suele ser utilizada como complemento para monitorear la presencia de mastitis subclínica, mediante sensores que mide la conductividad eléctrica que tiene la leche, en condiciones normales la conductividad es de 4.0 – 5.0 mS/cm, la inflamación altera la permeabilidad de las membranas celulares provocando el aumento de los niveles de sodio (Na^+) y cloruro (Cl^-), mientras que reduce los iones de potasio (K^+), como consecuencia al aumentar los iones de sodio y cloruro sube la conductividad eléctrica sobrepasando los 5.0 mS/cm indicando la presencia de infección (Norberg et al., 2004).

3.3 Agentes causantes de mastitis

De acuerdo con Sindhu et al. (2024), a pesar de que se han logrado catalogar más de 200 especies microbianas como causantes de mastitis, solo un número limitado se aísla con más frecuencia mediante estudios en laboratorios especializados se ha logrado reconocer más de 150 especies de bacterias Grampositivos y Gramnegativos entre los patógenos más comunes Grampositivos se encuentra los *Staphylococcus* y *Streptococcus*, por otro lado, las bacterias patógenas Gramnegativos más prevalentes incluyen *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Además, a través de procedimientos de laboratorio ha permitido separar estos microorganismos en patógenos contagiosos, ambientales y oportunistas según su relación epidemiológica con la enfermedad y su predisposición para causar la infección, con este contexto la bacteria *Staphylococcus aureus* es la predominante en causar mastitis contagiosa, mientras que la bacteria *Escherichia coli* es muy frecuente en mastitis ambientales y las bacterias oportunistas de coagulasa negativa como *Staphylococcus xylosum*, *S. simulans* entre otros, son recurrentes en causar infecciones persistentes en los bovinos de producción láctea (Bedolla, 2017).

3.3.1 Agentes contagiosos

En la producción de leche los patógenos causantes de mastitis contagiosa principales incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.* y *Mycoplasma spp.* estos microorganismos pueden transmitirse de vaca a otra debido a que el animal es el propio reservorio de estas bacterias, la infección se da básicamente al momento del ordeño cuando los cuartos anteriores o posteriores entran en contacto con los patógenos (Muñoz et al., 2012).

3.3.2 Agentes ambientales

Los patógenos causantes de la mastitis ambiental están relacionados con microorganismos provenientes propiamente del ambiente al que está expuesto el animal, los más frecuentes son *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Streptococcus uberis*, este tipo de infecciones es un reto importante para los productores, que a pesar de implementar altos estándares de buenas prácticas de manejo del hato lechero y reducir la presencia de patógenos contagiosos, las bacterias ambientales forman parte natural del ecosistema del establo y no se puede lograr eliminarlas en su totalidad (García, 2016).

3.3.3 Agentes oportunistas

Los patógenos oportunistas como los *Staphylococcus* de coagulasa negativa (SCN), son conocidos por ser causantes mayoritariamente de casos de mastitis subclínicas persistentes o de larga duración afectando negativamente la salud del animal con daños en los tejidos secretores y la calidad de la leche, se aprovechan de factores como vacas con un sistema inmunológico debilitado, vacas primíparas, exceso de estrés, lesiones en la piel del pezón, manejo inadecuado de ordeño además de la falta de desinfección de la sala de ordeño y uso indebido de antibióticos (Bonetto, 2019).

3.4 Tipos de mastitis

3.4.1 Clínica

La forma de presentación de la mastitis clínica es fácilmente reconocible, debido a que manifiesta signos visibles que afectan a las glándulas mamarias e incluso al estado físico del bovino, generalmente se observa fiebre, pérdida de apetito, inflamación notoria en las ubres, enrojecimiento, incomodidad y dolor al tacto, abscesos y en casos más graves necrosis, por otra parte, en la leche se puede observar cambios en la apariencia o color de la leche, presencia de grupos o coágulos con sangre (Departamento Administrativo Nacional de Estadística [DANE], 2014).

3.4.2 Subclínica

La mastitis subclínica es mucho más frecuente que la mastitis clínica, se caracteriza por no presentar signos visibles, sin embargo, manifiesta un conteo de células somáticas (CCS) elevado lo que impacta negativamente a la producción de la leche como a su calidad alterando su composición química, convirtiéndola en la que más pérdidas económicas genera al productor (Demontier et al., 2024). Alrededor del 80% de las bajas económicas están relacionadas directamente con la mastitis subclínica, debido a la reducción en la producción total de leche, la vaca al no presentar signos de la enfermedad produce leche aparentemente en buen estado, no obstante, solo se puede detectar con pruebas fisicoquímicas o con el conteo de células somáticas mediante California Mastitis Test (CMT) (Iñiguez, 2020).

3.5 Tratamientos y control de mastitis

De acuerdo con Herrera (2018), para lograr evitar y controlar los casos de mastitis en un sistema de producción láctea es necesario tener ciertas consideraciones que los ganaderos han implementado prácticas rutinarias que favorecen a la reducción de infecciones intramamarias como la desinfección de los pezones preordeño - postordeño , seguimiento e identificación temprana como descarte de animales con tendencia a padecer de mastitis con mucha frecuencia, puesto que estos animales infectan al resto de bovinos, correcto mantenimiento de los equipos y materiales utilizados en el ordeño y uso de antibióticos supervisado por profesionales cuando sea necesario para combatir infecciones, debido a estas prácticas se ha conseguido disminuir los efectos negativos de estos microorganismos en la producción láctea, y deja en evidencia que una

rutina adecuada de ordeño cuida la salud del animal y la calidad de la leche y como consecuencia la rentabilidad de la producción.

La detección temprana es la clave para mejorar la tasa de recuperación completa de los animales afectados por la infección intramamaria sin dejar secuelas debido al daño del tejido producido por las bacterias, por lo que es fundamental detectar los factores que están provocando mastitis en los animales y tomar medidas para controlar las fuentes de contaminación, el tratamiento de las infecciones intramamarias depende de la forma en que esta se presenta, sea clínica o subclínica y el objetivo principal es eliminar el microorganismo y restaurar la salud del tejido afectado con la finalidad de disminuir las pérdidas económicas que deriva de la reducción de la cantidad y calidad de la leche, además del descarte de animales por complicaciones de la infección (Khelaf et al., 2018).

De acuerdo a Pyörälä (2011), los tratamientos debido a que es de origen bacteriano se hace muy común la utilización de antibiótico de los cuales se destaca dos formas de administra, la administración intramamaria que se enfoca en la zona local de la infección, es decir que se aplica directamente el medicamento dentro del canal del pezón bovino y actúa localmente en la glándula mamaria infectada y la administración sistémica que se aplica intramuscular para que se disperse en el torrente sanguíneo distribuyéndose por todo el cuerpo del animal y de esta manera combatiendo la infección, los principios activos más utilizados para el control de las infecciones intramamarias son la penicilina, cefalosporinas, tetraciclinas, macrólidos y aminoglucósidos.

Los antibióticos como las penicilinas, cefalosporinas tienen la capacidad de inhibir la síntesis de la pared celular la cual está compuesta por peptidoglicano y su función es brindar protección a la bacteria, estos antibióticos inhiben las enzimas transpeptidasas que se encargan de unir y formar los enlaces del peptidoglicano, sin estos enlaces la pared celular se debilita y se rompe provocando la muerte de la bacteria, por otro lado, los macrolidos, tetraciclinas o aminoglucósidos tienen la capacidad de inhibir la síntesis de proteínas de la bacteria, estos antibióticos interfieren en la producción de proteínas esenciales necesarias para su supervivencia, crecimiento, desarrollo y división celular lo que afecta al metabolismo bacteriano o directamente provocando su muerte (Calvinho, 2015).

Los tratamientos se pueden realizar en dos segmentos en el ciclo productivo de los bovinos como el tratamiento de vacas secas este procedimiento se realiza al finalizar el último ordeño de

la vaca, se realiza una desinfección de los cuartos para aplicar antibiótico intramamario disponibles para terapias de vacas secas y finalmente sellar el pezón con yodo, este tratamiento tiene mucha ventaja, debido a que se puede utilizar antibióticos de liberación lenta y prolongada sin la preocupación de residuos del producto en la leche, por otro lado, el tratamiento durante el periodo de lactancia no se recomienda hacer una terapia prolongada debido al riesgo de contaminación del antibiótico en la leche, sin embargo, se lo hace cuando el conteo de células somáticas sobrepasa los límites permitidos en casos de mastitis clínica (Scaramelli y González, 2005).

En el Ecuador la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 regula la calidad y requisitos de la leche cruda que deben cumplir para poder ser destinada al consumo humano y a la industria láctea, el conteo de las células somáticas sirve como indicador de la salud de las glándulas mamarias y la calidad higiénico – sanitario de la leche, por lo tanto, esta normativa establece el límite de conteo de células somáticas de 500.000 cél/ml, además este valor se homologa con estándares internacionales y establece criterios para clasificar la leche según su calidad, evaluar y determinar su eficiencia para el procesamiento industrial y establecer parámetros en el sistema de pago en la cadena láctea dependiendo del estado de la leche (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2012).

3.6 *Staphylococcus xylosus*

Es una bacteria Gram positiva en forma de cocos agrupada en racimo que pertenece al grupo de los *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) o también conocidos como *Staphylococcus* no *aureus* (NAS) y es considerado como un agente etiológico emergente, es decir potenciales bacterias responsables de provocar infecciones intramamarias o casos de mastitis subclínica persistentes en bovinos, esta bacteria es considerada como un patógeno oportunista que además puede comportarse como un patógeno ambiental, debido a que tiene la capacidad de sobrevivir en superficies del medio ambiente como en el agua, suelo, equipos de ordeño que pueden contaminar las ubres (Somaticell, 2021).

Los *Staphylococcus* coagulasa negativa como el *Staphylococcus xylosus* se han convertido en un tema más relevante en estudios de mastitis bovina, debido a que estos patógenos pueden ingresar por el conducto galactóforo e infectar la ubre provocando infecciones muy resistentes por periodos considerables de tiempo y con una terapia muy complicada, se ha encontrado que estas bacterias han desarrollado resistencia a los antibióticos en aislamientos bacterianos de casos de

mastitis subclínicas por lo que ha generado interés en el impacto sobre el uso de antibióticos y la evolución de la resistencia bacteriana en el ganado (Castañeda et al., 2024).

El impacto por la infección de los *Staphylococcus no aureus* en la salud de las glándulas mamarias bovina puede ser severa, se ha encontrado que en casos de mastitis subclínica persistentes con tendencia a complicaciones el 12.6% está presente la bacteria *Staphylococcus xylosus*, además se ha detectado *Staphylococcus simulans*, *sciuri*, *warneri*, *chromogenes*, *agnetis* entre otros que se han sido identificados con más prevalencia en pruebas de recuento de células somáticas altas (AxónVet, 2020).

De acuerdo con Jiménez et al. (2020), en un estudio donde ese evaluó la resistencia antimicrobiana de 101 cepas de *Staphylococcus spp* que se han aislado de mastitis bovina y expuesto a diferentes antibióticos como oxacilina, cefoxilina, penicilina, ampicilina para determinar la resistencia antimicrobiana la cantidad de 65 cepas de *Staphylococcus aureus* y 36 cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) presentan genes resistentes a los antibióticos.

La implementación más estratégica de programas de control de mastitis en los últimos años ha generado una disminución de la incidencia general de la mastitis clínica generada por *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, sin embargo patógenos como los *Staphylococcus coagulasa negativa* han ido en aumento tomando una mayor relevancia en el control de mastitis subclínica (Navarro, 2019).

3.7 Resistencia Bacteriana

Los antibióticos son fármacos que son empleados principalmente para tratar infecciones producidas esencialmente por bacterias, la resistencia a estos compuestos se genera cuando la bacteria expuesta muta o se adapta como respuesta al uso de estos medicamentos, por lo tanto, las bacterias precisamente son las que desarrollan resistencia no los seres humanos o animales provocando que el tratamiento sea más complicado de tratar y como consecuencia la mortalidad aumente a diferencia de la que no presentan resistencia (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2020).

La resistencia bacteriana se refiere a la capacidad que tiene un microorganismo para poder tolerar condiciones fisicoquímicas y biológicas adversas, por lo tanto, cuando existe un cambio en la sensibilidad bacteriana de una agente que antes ha demostrado ser eficaz, se considera que este

microorganismo ha desarrollado algún tipo de mecanismo que le permite evadir y resistir al compuesto antibiótico, de esta manera muchos microorganismos que originalmente eran susceptibles pueden volverse insensibles a través de mutaciones o por medio de adquisiciones genéticas que codifican la resistencia y compartir con otros microorganismos (García, 2006).

De acuerdo con Zendajas et al. (2014), desde un enfoque genómico, la resistencia bacteriana de los *Staphylococcus spp* surge esencialmente debido a la selección natural por mutaciones que se desarrollan aleatoriamente, además de ser inducida artificialmente por el uso inadecuado o excesivo de antimicrobianos lo que ejerce gran presión selectiva sobre una determinada población de bacterias

Estas mutaciones espontaneas pueden ser compartidas a través de la división celular cuando la bacteria se reproduce y divide su ADN obteniendo una copia completa de la información genética incluyendo la resistencia antibiótica adquirida dentro de una población bacteriana, por otro lado, la transferencia horizontal de genes permite que la resistencia adquirida tenga una rápida propagación dentro de una población bacteriana o incluso entre bacterias no relacionadas mediante la conjugación bacteriana comparten el material genético extracromosómico o también conocido como plásmidos de resistencia que se forman independientemente del ADN bacteriano (Sánchez et al., 2012).

3.8 Alternativa antibiótica

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud [OMS] (2020), en la actualidad tanto la salud pública como la sanidad animal se enfrenta a una creciente preocupación debido al desarrollo de bacterias patógenas resistentes a los antimicrobianos convencionales, varios medicamentos disponibles han perdido su efectividad en el tratamiento de infecciones bacterianas, además el desarrollo de nuevos medicamentos se ven limitadas por los altos costos de producción, espectro de acción limitada o posibles efectos secundarios que se podría producir en los individuos, es por esto que se prioriza la búsqueda alternativas que superen estas limitaciones.

Las plantas medicinales y sus extractos han sido utilizadas por mucho tiempo a lo largo de la historia por la humanidad, el uso de las plantas en su gran mayoría se ha realizado de manera empírica, tradicional o cultural, sin embargo, en la actualidad se han llevado a cabo muchos análisis logrando establecer una base científica que respalda la efectividad de las especies vegetales

utilizadas tomando una mayor importancia el estudio de nuevas fuentes vegetales con actividad antibiótica (Collaguazo y Márquez, 2022).

Las plantas producen metabolitos como flavonoides, taninos, ácido fenólicos entre otros que se les atribuyen acción antibacteriana, antifúngica, para defenderse del medio exterior desempeñando un papel fundamental para limitar el crecimiento bacteriano o eliminarlos, estos compuestos han logrado demostrar la capacidad de desestabilizar la membrana celular de las bacterias haciéndola permeable y causar la muerte (Bandoni et al., 2009).

En las últimas décadas la utilización de productos naturales como extractos y aceites esenciales con fines terapéuticos ha ido en aumento, convirtiéndose cada vez más en una opción viable para el tratamiento de infecciones a nivel mundial, es por esto que muchas organizaciones fomentan la iniciativa del uso de productos naturales con respaldo científico que demuestren su efectividad en tratamientos patológicos y que no causen riesgos para los pacientes (Torres et al., 2017).

3.9 Plantas con propiedades antibióticas

Según el Proyecto *Solanum* del Inventario de Biodiversidad Planetaria [PBI] (2025), las especies vegetales de la familia *Solanaceae* comprende un amplio grupo de plantas alrededor de 90 géneros y 3000 – 4000 especies que están distribuidas a nivel mundial cuenta con una gran diversidad en hábitat, morfología y ecología, incluye desde árboles perennes, arbustos, enredaderas y hiervas anuales, además morfológicamente presentan una gran variedad en muchas de sus características propias y distintivas de sus flores y frutos, dentro de esta familia se encuentra la especie vegetal *Datura stramonium* y *Brugmansia arbórea*.

La familia *Solanaceae* se caracteriza por poseer alcaloides como la atropina, escopolamina, hiosciamina, además, posee flavonoides, taninos, terpenoides que han demostrado ser eficaz contra microorganismo patógenos y plagas, la presencia de péptidos antimicrobianos (AMP) como inhibidores de proteasa, péptidos similares a la tioniina y vicilina que producen estas plantas de manera natural como defensa y protección contra virus, bacterias y hongos ha despertado el interés para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, puesto que estos compuestos tienen la capacidad de dañar la membrana celular de los microorganismos y causar la muerte (Afroz et al., 2020).

3.10 Chamico (*Datura stramonium*)

3.10.1 Descripción geográfica y botánica

Es una planta silvestre originaria de América, pero actualmente se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, además es una planta de fácil acceso, debido a que son colonizadores naturales de campos agrícolas, generalmente se encuentran en regiones templadas cálidas o subtropicales con elevaciones de 2500m.s.n.m, prefieren regiones con precipitaciones abundantes, pero pueden crecer en suelos arenosos sin problema, por otro lado, botánicamente pertenece a la familia *Solanaceae*, es una hierba anual arbustiva puede alcanzar una altura de 60cm a 120cm, las hojas son grandes y dentadas aproximadamente de 20cm su flor tiene forma de embudo y mide alrededor de 6cm, además posee un fuerte olor característico, el fruto es una capsula muy espinosa que posee en su interior las semillas de color marrón, su tallo es robusto con diseño simple y su raíz es larga y ramificada (Mukherjee, 2013).

En la tabla 1, se muestra la clasificación taxonómica detallada de la especie vegetal *Datura stramonium* utilizada en el presente estudio donde se puede observar su reino, división, clase, orden, familia, género y especie.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Datura stramonium

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Datura</i>
Especie	<i>Datura stramonium</i>

Nota. Adaptado de: Al-Snafi (2017)

3.10.2 Usos tradicionales

D. stramonium es una planta ampliamente utilizada por comunidades locales debido a sus diferentes atributos medicinales empleando el extracto de sus hojas para tratar problemas en la piel, heridas o lesiones, además el extracto de sus flores son empleadas para calmar el dolor de

oído, por otra parte, el aceite de su fruto se utiliza para aliviar dolores corporales por golpes debido a su efecto antiinflamatorio, las semillas son empleadas como purgantes, para aliviar la tos, la fiebre y el asma, la *D. stramonium* constituye una de las fuentes natural de antioxidantes y compuestos fotoquímicos con una amplia actividad microbiana. lo que sugiere un potencial diverso en aplicaciones medicinales y terapéuticas (Sayyed, 2013).

3.10.3 Composición química

Datura stramonium presenta una amplia gama de metabolitos secundarios en su composición química de interés farmacológico, dentro de sus compuestos más relevantes incluyen alcaloides, saponinas, taninos, esteroides, flavonoides, fenoles y glúcidos, lo que otorga su efecto analgésico, antioxidante, antimicrobiano, insecticida que además de su actividad sinérgica potencia y aumenta su espectro de acción (Al-Snafi, 2017). Esta abundante composición química evidencia las diferentes propiedades medicinales que se atribuyen a esta planta convirtiéndose en una planta de importancia en estudios en la farmacología moderna y en amplias aplicaciones terapéuticas (Rubio, 2016).

Datura stramonium a pesar de ser una planta conocida por sus propiedades terapéuticas presenta un elevado contenido de alcaloides tropánicos principalmente hiosciamina, atropina y escopolamina los cuales en dosis elevadas o no controladas produce midriasis, taquicardia, convulsiones o incluso en casos más graves la muerte, la toxicidad está presente en toda la planta, sin embargo sus semillas generalmente contienen la mayor cantidad de alcaloides, la intoxicación se puede manifestar tanto por vía oral como por absorción cutánea o inhalación de sus compuestos activos, sin embargo, la misma actividad que lo hace toxica la convierte en una opción relevante por sus propiedades terapéuticas en condiciones controladas como efecto analgésico, antiespasmódico o antimicrobiano (Aćimović, 2025).

3.11 Floripondio (*Brugmansia arborea*)

3.11.1 Descripción geográfica y botánica

Es una planta que se encuentra distribuida en América, África, Australia y Asia, en Sudamérica se ha reportado su presencia en países como Ecuador, Perú, Chile, Bolivia y Brasil generalmente habita en regiones húmedas o secas con elevaciones de 3700m.s.n.m, sin embargo, puede desarrollarse en altitudes más bajas sin ningún inconveniente, por otro lado, botánicamente es considerado una planta arbustiva de la familia *Solanaceae*, puede alcanzar hasta 11m de altura, su

tallo es semileñoso, sus hojas son grandes y ovaladas, las flores son de color blanco y en forma de trompeta con una fuerte fragancia característica, sus raíces son profundas y fibrosas (Kim et al., 2023).

En la tabla 2, se muestra la clasificación taxonómica detallada de la especie vegetal *Brugmansia arborea* utilizada en el presente estudio donde se puede observar su reino, división, clase, orden, familia, género y especie.

Tabla 2

Clasificación taxonómica de Brugmansia arborea

Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Genero	<i>Brugmansia</i>
Especie	<i>Brugmansia arborea</i>

Nota. Adaptado de: Global Biodiversity Information Facility [GBIF], (2023)

3.11.2 Usos tradicionales

Es una planta que ha sido utilizado ampliamente debido a sus efectos antiinflamatorios, antisépticas, sedante y analgésico, a lo largo de los años se ha empelado en la medicina tradicional para aliviar dolores corporales, tratamiento del acné y otros problemas dermatológicos, además de promover la cicatrización de heridas o lesiones en la piel, debido a que sus compuestos se encuentran distribuido en toda la planta es utilizado tanto las hojas como las flores para lograr estos efectos beneficios para la salud convirtiéndose en una opción eficaz en tratamientos medicinales (Pérez et al., 2025).

3.11.3 Composición química

Brugmansia arborea presenta una amplia variedad de metabolitos secundario entre las que mejor se destaca son los alcaloides tropánicos, esteroides, flavonoides y terpenos, todos estos metabolitos son considerados de interés en el campo de la medicina y la toxicología, debido a sus efectos beneficios para la salud y su diversidad en aplicaciones terapéuticas (Romero et al., 2023).

Brugmansia arborea es considerado una fuerte terapéutica efectiva debido a sus compuestos activos, sin embargo, contiene elevadas cantidades de alcaloides tropánicos como la escopolamina, atropina, hiosciamina, anisodamina que en dosis no controladas produce desorientación, taquicardia, dilatación pupilar, convulsiones, coma o la muerte, la toxicidad está presente en toda la planta y a pesar de que los mismos compuestos activos que contiene lo hacen peligrosa, además de uso delicado también lo confieren propiedades medicinales valiosas en condiciones controladas como anestésico, sedantes, antiespasmódica o antimicrobiana (Qiang et al., 2016).

3.12 Extracción de extracto vegetal

De acuerdo con González (2004), la extracción del extracto vegetal consiste en la separación de compuestos específicos o generales presentes en la planta mediante un disolvente en su mayoría se utiliza un solvente orgánico lo que promueve un mejor rendimiento, debido a que penetra el material vegetal y remueve los compuestos de una manera delicada y sin dañarlos manteniendo su integridad química de los compuestos activos.

3.12.1 Extracción sólida – líquido

Este procedimiento se lleva a cabo mediante el contacto del sólido que es la parte del material vegetal triturado con el líquido que es la parte del solvente para la extracción de los compuestos solubles integrados en la composición sólida, obteniendo un líquido o extracto conformado por los principios activos disueltos en el solvente (Tituaña et al., 2018).

3.12.2 Maceración dinámica

La maceración dinámica de acuerdo con Tituaña et al. (2018), es un método que consiste en mezclar y mantener en contacto prolongado con agitación constante del material vegetal con el solvente formando una mezcla homogénea en el cual el solvente actúa sobre todas las fracciones del material vegetal logrando disolver sus compuestos activos en todo el líquido y finalmente obteniendo una concentración deseada

La maceración dinámica para extraer los compuestos activos de plantas es el método más aplicado, efectivo, rápido y menos costoso puede variar su rendimiento dependiendo del tipo de solvente y su concentración, tiempo de maceración, tamaño de la partícula vegetal, proporción utilizada sólido- líquido o temperatura esto dependerá si los compuestos son termo sensibles o termo estables, por lo que a temperatura ambiente suele ser la más utilizada debido a que los

solventes utilizados son muy volátiles provocando su evaporación por lo que es necesario contar un mecanismo de reflujo como en el método Soxhlet (Valdez et al., 2022).

CAPÍTULO IV

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Muestras biológicas

- Extracto de las plantas (*Datura stramonium* y *Brugmansia arborea*)
- Bacteria aislada (*Staphylococcus xylosus*)

4.1.2 Equipos de laboratorio

- Autoclave modelo NB-1080 N-Biotek
- Horno deshidratado modelo BJPX-Spring
- Triturador de cuchillas modelo GM 200
- Agitador magnético modelo MSH-30D
- Rotavapor modelo Buchi R-215
- Ultrasonido modelo WiseClean
- Cámara de flujo modelo N-Biotek
- Balanza modelo ADAM – PW 254
- Incubadora de células
- Espectrofotómetro modelo Genesys 20
- Espectrofotómetro para micro placas
- Centrifuga
- Microscopio

4.1.3 Materiales de laboratorio

- Placas de 96 pocillos de fondo plano
- Cajas Petri
- Tubos de ensayo
- Asa bacteriológica
- Vaso de precipitación
- Imán para agitador magnético
- Kit de tinción Gram (cristal violeta, safranina, alcohol, agua destilada)
- Gotero

- Embudo
- Porta y cubre objetos
- Asa de siembra
- Mechero
- Pipeta
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Tijeras
- Libreta de apuntes
- Esfero
- Pateta de para test de mastitis

4.1.4 Reactivos

- Metanol
- California Mastitis Test (CMT)
- Agar – Mannitol salt
- Caldo nutritivo – Nutrient broth
- Plasma sanguíneo
- Peróxido de hidrógeno
- Antibiótico*

4.2 Metodología

4.2.1 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA), donde se evaluaron las variables establecidas en seis tratamientos, cinco concentraciones de extracto total de cada especie vegetal *Brugmansia arborea* y *Datura stramonium* (T1= 500mg/ml; T2= 250mg/ml; T3= 125mg/ml; T4= 62.5mg/ml; T5= 31.25mg/ml) y T6= antibiótico (Chozo y Cobeñas, 2022). Además, constó con tres repeticiones, obteniendo un total de dieciocho unidades experimentales por planta. Para validar los datos obtenidos se utilizaron análisis estadísticos mediante el programa XLSTAT 2023.2.0.1411 identificador (licencia) b1672737-472b-a655-46d8039fd975 donde se realizó las pruebas de Shapiro Wilk, ANOVA y Tukey con nivel de significancia de alfa 0.05% (Lumivero, 2025).

4.2.2 Variables

4.2.2.1 Variables independientes

- Extracto metanólico de las especies vegetales *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea*
- Bacteria *Staphylococcus xylosus*

4.2.2.2 Variables dependientes

- % de inhibición bacteriana

Se determinó mediante el ensayo de concentración mínima inhibitoria de la bacteria *Staphylococcus xylosus* evaluada en placas de 96 pocillos de fondo plano midiendo la densidad óptica en el espectrofotómetro a 625nm a las 0 horas y 18 horas después de la incubación (Quave et al., 2008).

- % de crecimiento bacteriano

Se determinó el crecimiento bacteriano mediante la utilización de placas de 96 pocillos de fondo plano midiendo la densidad óptica empleando el espectrofotómetro a 625nm a las 0 horas y 18 horas después de la incubación (Corzo, 2012).

En la tabla 3, se muestran los tratamientos realizados con los extractos totales de las especies en estudio a las diferentes concentraciones de trabajo.

Tabla 3

Tratamientos

Extracto total de la especie vegetal	Tratamientos	Concentración (mg/ml)
<i>Brugmansia arborea</i>	T1	500,00
	T2	250,00
	T3	125,00
	T4	62,50
	T5	31,25
	T6: Antibiótico	
<i>Datura stramonium</i>	T1	500,00
	T2	250,00

T3 125,00

T4 62.50

T5 31.25

T6: Antibiótico

En la tabla 4, se registran las unidades experimentales, para cada especie vegetal se trabajó con tres repeticiones con la finalidad de garantizar la confiabilidad de los resultados y permitir un análisis estadístico adecuado de la actividad antibiótica evaluada.

Tabla 4

Total de unidades experimentales para el ensayo para cada especie vegetal

Tratamientos	Repeticiones
T1	3
T2	3
T3	3
T4	3
T5	3
T6: Antibiótico	3
Total U. E	18

En la tabla 5, se presenta el esquema del análisis de varianza (ANOVA) que se utilizó en el presente trabajo de investigación, indicando las fuentes de variación y los grados de libertad con la finalidad de encontrar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 5

Esquema del ANOVA

Fuentes de variación	Grados de libertad
<i>Total</i>	17

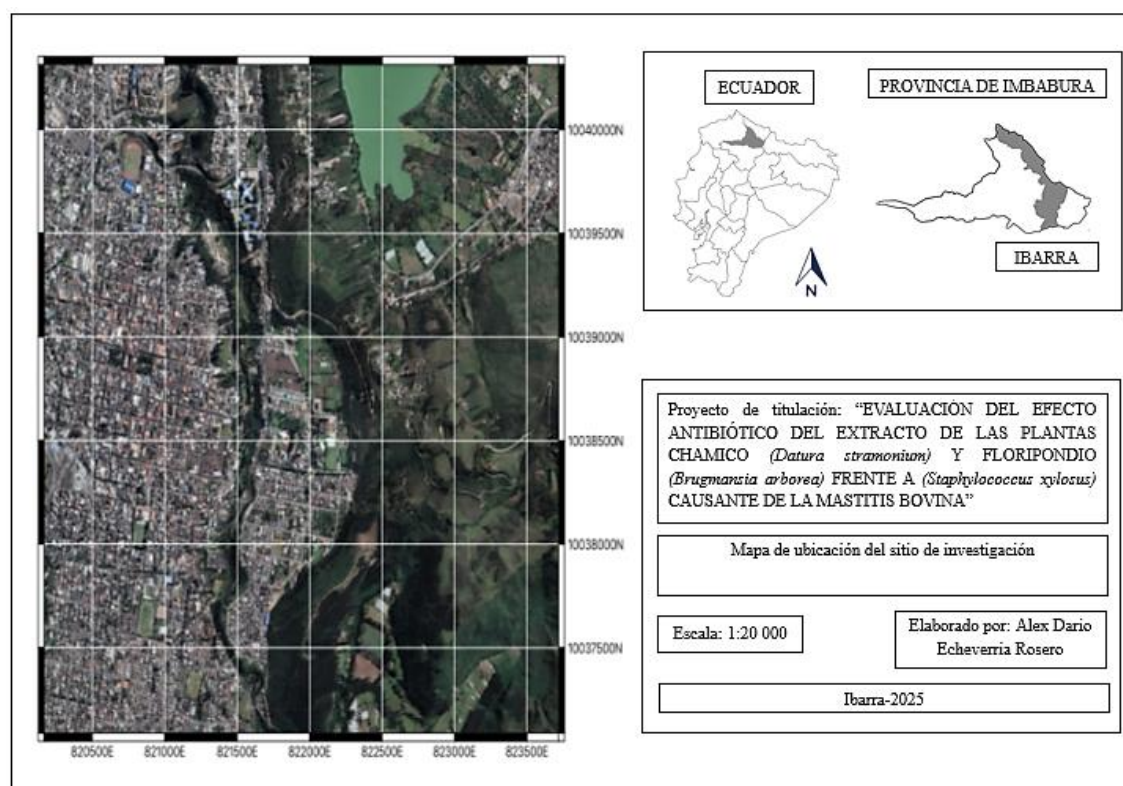
Tratamiento	5
Error	12

4.2.3 Recolecta de material vegetal e identificación taxonómica

La siguiente investigación se realizó en los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, ubicada en la Provincia de Imbabura en la ciudad de Ibarra (Figura 1), la cual se encuentra a una elevación de 2221m.s.n.m a una latitud de 0°21'01''N y longitud 78°06'24''W con una temperatura de alrededor de 17°C con precipitaciones de 763.0mm (Recalde y Arciniegas, 2023).

Figura 1

Zona donde se llevó a cabo la investigación

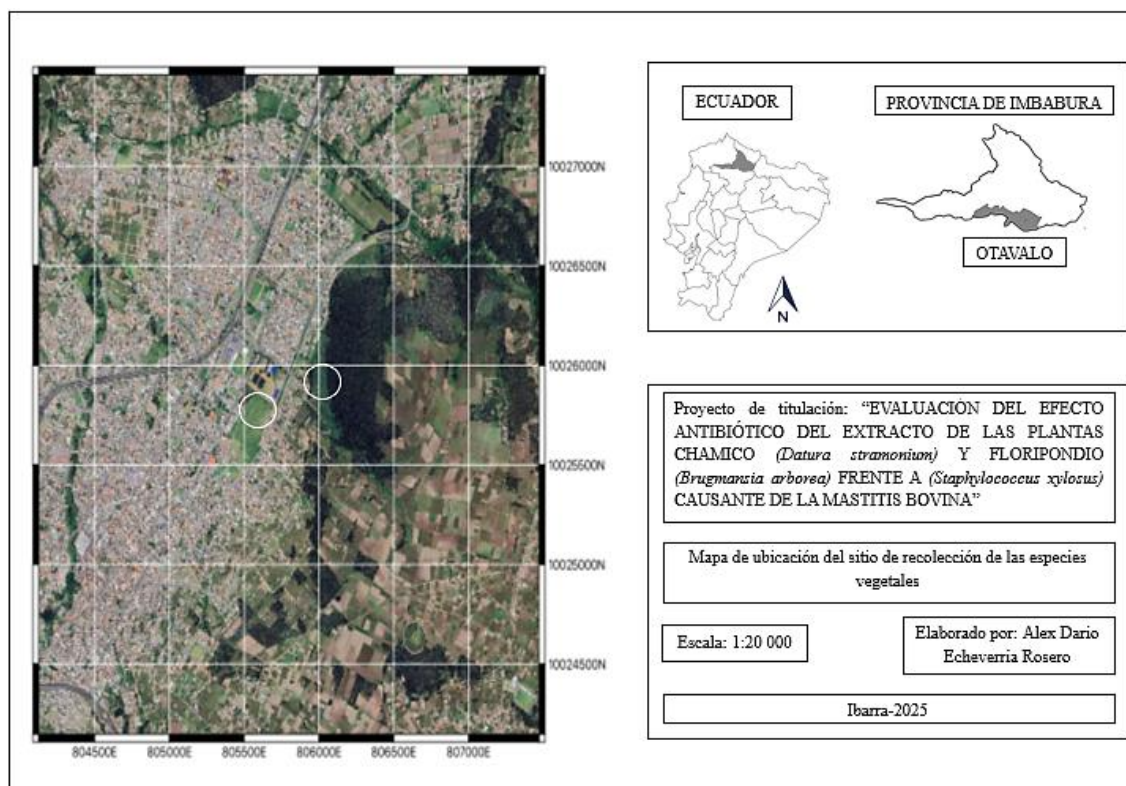


Nota. La figura 1, muestra la ubicación donde se llevó a cabo la investigación. Tomado de Google Earth y diseñado mediante el programa QGIS 3.42.2 (2025)

Las especies vegetales *Datura stramonium* (latitud $0^{\circ}13'58''N$ y longitud $78^{\circ}15'14''W$, 2543m.s.n.m) y *Brugmansia arborea* (latitud $0^{\circ}14'00''N$ y longitud $78^{\circ}15'05''W$, 2586m.s.n.m) pertenecientes a la familia *Solanaceae* fueron recolectadas en la Provincia de Imbabura, cantón Otavalo, parroquia El Jordán (Figura 2), que se encuentra a una elevación de 2565m.s.n.m, ubicado geográficamente a una latitud $0^{\circ}13'43''N$ y longitud $78^{\circ}15'49''W$ con una temperatura promedio de $14^{\circ}C$ con precipitaciones de 1897mm (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Otavalo [GAD Otavalo], 2025).

Figura 2

Zona donde se llevó a cabo la recolección de las especies vegetales



Nota. La figura 2, muestra la ubicación donde se realizó la recolección de las especies vegetales en estudio. Tomado de Google Earth y diseñado mediante el programa QGIS 3.42.2 (2025)

Los especímenes vegetales *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea* fueron seleccionados para esta investigación, debido a que, se fundamentó en estudios previos donde se reporta actividad antimicrobiana como resultado de los compuestos activos presentes en la planta.

Los compuestos activos que posee estas plantas como los alcaloides, flavonoides, terpenoides, saponinas, taninos, ácidos fenólicos entre otros, contribuyen a su actividad antimicrobiana, debido a que, estos compuestos forman parte del sistema natural de defensa de la planta contra insectos, animales, hongos y bacterias, además, la actividad sinérgica entre estos compuestos produce un efecto potente contra diversos microorganismos (González et al., 2020).

De acuerdo con León et al. (2011), las plantas *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea* se encuentran generalmente en la región andina, crece de forma natural en bordes de caminos rurales - urbanas, pastizales y terrenos descuidados, desarrollándose desde los 1.500 y 2.800 m.s.n.m, razón por la cual fueron seleccionadas para su recolección y posterior estudio en el presente trabajo, considerando su disponibilidad en el entorno local y su facilidad de acceso en zonas de crecimiento natural.

Una vez identificadas mediante el diagnóstico morfológico, las plantas fueron recolectadas y almacenadas cuidadosamente en fundas de papel kraft para su posterior traslado al laboratorio. De igual manera, se tomaron tres muestras que fueron destinadas como ejemplares para el herbario de la PUCE-I para su identificación taxonómica. Las muestras vegetales fueron sometidas a un proceso de desinfección con alcohol al 70% con la intención de eliminar restos de polvo y cualquier material no deseado de esta manera asegurar la calidad de las hojas y flores para su posterior análisis.

4.2.4 Extracción de compuestos activos

Para la obtención de extractos vegetales se llevó a cabo utilizando el método de la maceración dinámica según el procedimiento de Duarte et al. (2019), que consiste en deshidratar la especie vegetal, luego obtener partículas más pequeñas para poder macerar con un solvente y finalmente extraer el solvente utilizado para obtener el extracto deseado, de este modo las especies vegetales *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea* fueron deshidratadas a 50°C con ayuda del horno deshidratador con flujo de aire y posteriormente el material vegetal seco se trituró utilizando el molino de cuchillas hasta obtener un polvo homogéneo. Por último, se pesó y se conservó en bolsas de papel con su respectiva identificación.

Para la obtención de los extractos de las plantas en estudio se utilizó el método de la maceración dinámica y como solvente se empleó metanol, debido a que, permite la extracción

delicada de una gran variedad de compuestos activos presentes en el material vegetal sin alterar su composición y de esta manera aprovechar el rendimiento total del extracto (Taborda et al., 2018).

Para cada especie vegetal se utilizó una proporción de 1:10 (peso/volumen), es decir que por cada 1 g de material vegetal seco y triturado se agregara 10 ml de metanol. Con esta relación se preparó 60 g con 600 ml de metanol para proceder con la maceración dinámica haciendo uso de un agitador a 250 rpm durante 24 horas a temperatura ambiente, este procediendo se realizó tres veces. Al finalizar las primeras 24 horas se llevó a cabo la primera filtración con la finalidad de reservar el contenido líquido y separar el material sólido, esto se ejecutó dos veces más bajo las mismas condiciones (Monagas et al., 2022).

Luego de finalizar las tres filtraciones y almacenar en un frasco de vidrio el contenido líquido total de las filtraciones, se continuo con la evaporación del metanol utilizando un rotavapor a 40°C hasta obtener el extracto concentrado, para finalmente depositarlo en un recipiente de boca ancha para su análisis (Urien, 2013).

Para determinar la eficiencia del extracto se estimó mediante la fórmula de rendimiento, la fórmula se expresó en porcentaje donde se calcula la relación entre la cantidad de extracto seco obtenido y la cantidad de material vegetal utilizado. Expresión matemática descrita en la ecuación 1 (Solis, 2023).

La ecuación 1, muestra la fórmula que se utilizó para determinar el porcentaje de rendimiento del extracto total de las especies vegetales empleados en el presente estudio, considerando la relación entre el peso del extracto seco obtenido y el peso del material vegetal utilizado expresado como porcentaje.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \left(\frac{\text{gramos de extracto seco obtenido}}{\text{gramos de material vegetal utilizado}} \right) \times 100$$

Ecuación 1. Porcentaje de rendimiento del extracto total adaptado de: Solis (2023).

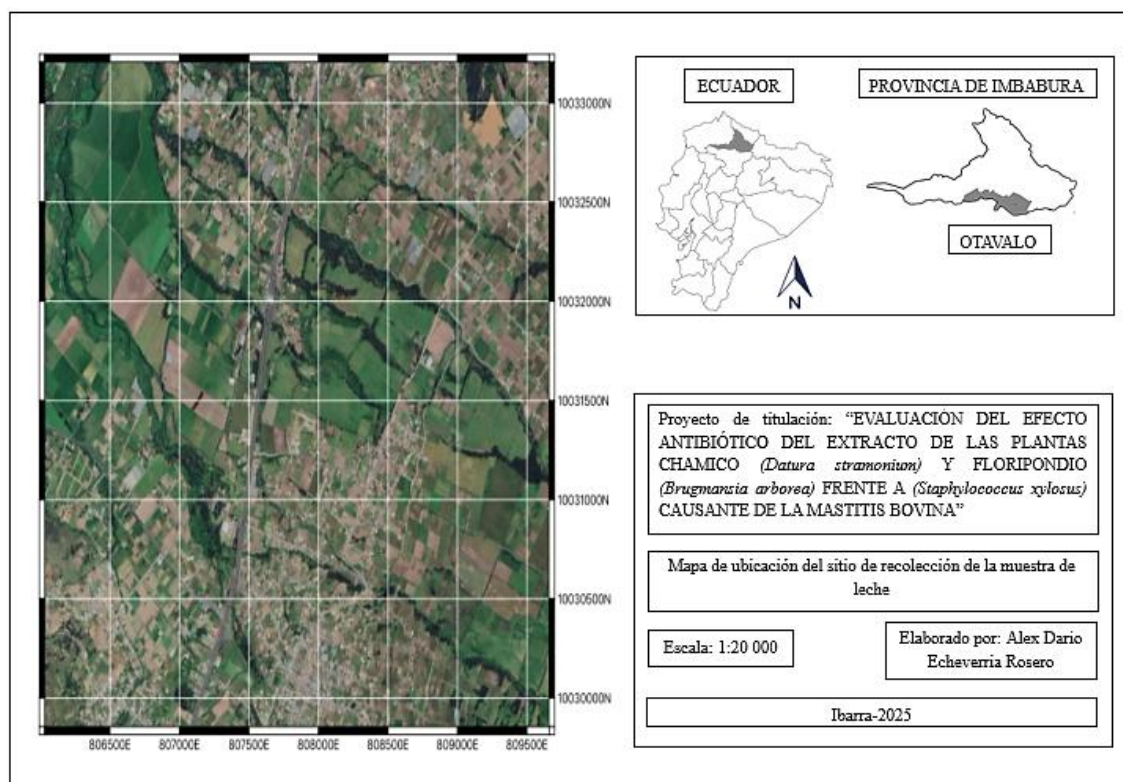
4.2.5 Procedimiento para el cultivo y aislamiento de la bacteria *Staphylococcus xylosus*

4.2.5.1 Toma de la muestra

La muestra de leche con mastitis bovina (latitud 0°17'07''N y longitud 78°14'10''W, 2542m.s.n.m) fue recolectada en la Provincia de Imbabura, cantón Otavalo en la parroquia San Juan de Ilumán (Figura 3), para posteriormente ser trasladado a los laboratorios de la PUCEI

Figura 3

Zona donde se llevó a cabo la recolección de la muestra de leche



Nota. La figura 3, muestra la ubicación donde se realizó la recolección de la muestra de leche para el aislamiento de la bacteria *S. xylosus*. Tomado de Google Earth y diseñado mediante el programa QGIS 3.42.2 (2025)

Para su recolección se empleó la metodología descrita por Griffioen et al. (2021), antes de la recolección de la muestra primero se procedió a limpiar la zona con agua, se realizó una prueba de California Mastitis Test (CMT), que consiste en agregar aproximadamente 2 ml de leche y de reactivo en la paleta de cuatro pocillos para mastitis, seguidamente se agito para observar si existe algún cambio en la consistencia de la leche dando como resultado la presencia de gel que se adhiere

al fondo en el pocillo del cuarto posterior derecho. Una vez identificado se recolecto y se almaceno en un cooler con refrigerante para su posterior análisis en el laboratorio de microbiología

En la tabla 6, se muestra una valoración de resultados de la prueba CMT, donde se observa los diferentes grados de la infección permitiendo identificar el nivel de gravedad de la enfermedad según la viscosidad y el conteo de células somáticas (CCS/ml).

Tabla 6

Valoración de resultados de la prueba CMT

Grado CMT	Viscosidad	CCS/ml
Negativo (N)	Ninguna : la mezcla permanece en estado líquido.	< 200.000
Trazas (T)	Leve: Se forma una precipitación en el piso de la paleta que desaparece rápido.	200000 - 500.000
1 (+)	Leve moderada: Existe mayor precipitación pero no se forma gel.	400.000 - 1.500.000
2 (++)	Moderada: El precipitado de la mezcla se torna denso y en el centro de la paleta.	800.000 - 5.000.000
3 (+++)	Severa: Se forma un gel muy espeso que se adhiere a la pared de la paleta.	>5.000.000

Nota. Valoración de prueba de California Mastitis Test adaptado de: Echeverri et al. (2010)

4.2.5.2 Cultivo de la bacteria *Staphylococcus xylosus*

Para el cultivo y aislamiento de la bacteria *Staphylococcus xylosus* se utilizó el agar manitol salt que es un medio de cultivo selectivo, debido a su alta concentración de sal que crea un ambiente favorecedor para *Staphylococcus*, evitando el crecimiento y desarrollo de otras bacterias, además contiene un indicador de pH que cambia de color rojo a amarillo que se puede observar a simple vista a causa de la fermentación del manitol producida por los *Staphylococcus* presentes en el medio de cultivo (Britanialab, 2021).

El cultivo y aislamiento de la bacteria se realizó mediante el procedimiento de Vidal et al. (2024). Se preparó agar manitol salt con agua destilada como detalla las indicaciones del fabricante que recomienda agregar 111 g de agar en 1000 ml de agua destilada. Con esta observación se preparó 8 cajas petri con 20 ml de agar en cada una dando en total 160 ml de agua destilada a ser utilizado con 17.76 g de agar. Para la obtención de las cantidades a utilizar se realizó una regla de tres según el fabricante 111g de agar se necesita en 1000ml de agua destilada, por lo tanto, en 160ml de agua destilada se necesitó 17.76g de agar.

$$111g = 1000ml$$

$$\frac{160ml \times 111g}{1000ml} = 17.76g$$

Una vez preparada las cantidades exactas se mezcló en un vaso de vidrio adecuado para esterilizar en la autoclave a 121°C junto con las cajas petri envueltas en papel durante 1 hora. Una vez que finalizó la esterilización se colocó un mechero para evitar la posibilidad de contaminación, luego se procedió a agregar los 20 ml de agar en las cajas petri y esperar a que se solidificara para agregar 1 ml de la muestra de leche con la ayuda de la micro pipeta en las cajas petri para finalmente enviarlas a la incubadora a 37°C durante 24 horas.

4.2.5.3 Aislamiento de la bacteria *Staphylococcus xylosus*

Para obtener colonias puras se procedió a realizar un cultivo con Nutrient Broth en tubos de ensayo siguiendo el procedimiento de Almeida y Rojas (2020), se preparó Nutrient Broth según las especificaciones del fabricante 13.0 g en 1000 ml de agua destilada. Se preparó 2 tubos de ensayo por cada caja petri utilizadas para el cultivo que fueron 8, obteniendo 16 tubos de ensayo en total con 10 ml de agua destilada en cada tubo, sumando la cantidad de 160 ml de agua destilada a ser utilizado con 2.08 g de Nutrient Broth. Para la obtención de las cantidades a utilizar se realizó una regla de tres según el fabricante 13g de agar se necesita en 1000ml de agua destilada, por lo tanto, en 160ml de agua destilada se necesitó 2.08g de agar.

$$13g = 1000ml$$

$$\frac{160ml \times 13.0g}{1000ml} = 2.08g$$

Luego de preparar las cantidades calculadas se procedió a distribuir los 10ml con la micro pipeta en cada tubo de ensayo seguidamente se colocó en la autoclave para esterilizar a 121°C por 1 hora. Una vez que se cumplió el tiempo determinado se continuo con el retiro de las cajas petri de la incubadora y la selección de 1 a 2 colonias previamente cultivadas de 24 horas para ser incorporadas en los tubos de ensayo con la ayuda del asa bacteriológica y un mechero para evitar la contaminación y finalmente colocar en la incubadora a 37°C durante 24 horas.

Una vez cumplido el tiempo requerido se procedió a retirar los tubos de ensayo de la incubadora y con la ayuda de un mechero y un asa bacteriológica se realizó la siembra en estrías para favorecer el crecimiento de colonias individuales en cajas petri previamente preparadas para

su uso con agar manitol salt y de esta manera aislar la bacteria para ser utilizada para los estudios posteriores.

4.2.6 Caracterización morfológica y bioquímica de *Staphylococcus xylosus*

4.2.6.1 Prueba de tinción Gram

El procedimiento de la prueba de tinción Gram se utilizó bacterias cultivadas 24 horas antes con la finalidad de poder identificar a que grupo pertenece la bacteria en estudio, puesto que los *Staphylococcus* pertenecen al grupo de bacterias Gram positivo, básicamente se puede observar con la ayuda de un microscopio la tinción de la pared celular de color violeta característico de estas bacterias por lo tanto, se realizó un frotis colocando una colonia de bacteria tomada con el asa bacteriológica esterilizada con la ayuda del mechero y con la ayuda de un gotero se colocó 1 gota de agua destilada en un portaobjetos, luego se fijó la muestra con calor para poder agregar el cristal violeta y dejar reposar durante un minuto, posteriormente se lava con agua destilada y se agrega lugol para fijar el colorante durante un minuto, luego se enjuaga con agua destilada, posteriormente se decolora con el uso de alcohol seguidamente se lavó con agua destilada y finalmente se agregó safranina dejando actuar durante un minuto y lavando con agua destilada el resultado se procedió a visualizar con el uso del microscopio (Corrales y Lozano, 2020).

4.2.6.2 Prueba de catalasa

Se colocó en un portaobjetos dos gotas de peróxido de hidrogeno al 30%, luego se tomó una muestra de la colonia bacteriana de 24 horas con el asa bacteriológica previamente esterilizada y se mezcló con las gotas de peróxido de hidrógeno que al entrar en contacto se forman burbujas de oxígeno debido a la reacción entre la enzima catalasa y el peróxido de hidrógeno que se descompone en agua y oxígeno molecular. (Fernández et al., 2010).

4.2.6.3 Prueba de coagulasa

Previamente a la prueba se realizó la extracción de sangre y se centrifugo a 3000rpm durante 10 minutos para separar el plasma de las demás fracciones para ser utilizada en el ensayo. En un tubo de ensayo estéril se agregó 0.5 ml de plasma sanguíneo, luego se inoculo el plasma con una colonia de la bacteria con el asa bacteriológica y finalmente se llevó a la incubadora a 37°C durante 4 horas. Debido a que la bacteria *Staphylococcus xylosus* pertenece al grupo de coagulasa negativa no se pudo observar la formación coágulos en el tubo de ensayo (Palavecino, 2002).

En la tabla 7, se muestra las relaciones de las pruebas bioquímicas realizadas a la bacteria *S. xylosus*, detallando las reacciones positivas (+) y negativas (-) observadas que confirman su caracterización microbiológica.

Tabla 7

Reacciones obtenidas de las pruebas bioquímicas realizadas a la bacteria Staphylococcus xylosus

Bacteria	Tinción Gram	Catalasa	Coagulasa
	+	+	-
<i>Staphylococcus xylosus</i>	Cocos en racimos color violeta, Gram positiva	Formación de burbujas O ₂	No hay presencia de coagulos

Nota. Adaptado de: Ibaguren y Monteavaro (2019)

4.2.7 Caracterización molecular de la bacteria *Staphylococcus xylosus*

Para la caracterización molecular se enviaron tres muestras de la bacteria en cajas petri al laboratorio especializado IDgen- Identificación Molecular en Quito, para el estudio de identificación molecular se realizó la extracción de ADN, amplificación de barcode, secuenciación estándar, ensamblaje de productos de PCR y búsqueda en base de datos. Utilizaron la metodología de identificación molecular por barcoding 16S para bacterias (Garrido, 2025).

De acuerdo con Garrido (2025), el procedimiento para realizar la caracterización molecular de la bacteria *Staphylococcus xylosus* es la siguiente:

- Extracción del ADN utilizando la cantidad de 100mg de muestra, evaluando la integridad y calidad del ADN mediante el uso de espectrofotometría y observación en gel de agarosa 1%.
- Se diluyó el ADN a 20ng/uL para lograr amplificar mediante PCR utilizando los siguientes primers 16S: 27F/1492R.
- Con anterioridad fue purificado el PCR para la secuenciación a través del método SANGER.

- Para terminar la secuencia que se lograron obtener fueron limpiadas y ensambladas mediante programas bioinformáticas que permitieron comparar con la base de datos de GenBank del NCBI para determinar su taxonomía.

4.2.8 Establecimiento de la actividad biológica de los extractos de las especies vegetales

Los extractos obtenidos de las especies vegetales *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea* fueron utilizados en las pruebas de microdilución, razón por la cual se preparó 500 mg de extracto en un frasco de vidrio y se incorporó 1 ml de metanol para poder obtener la concentración madre, posteriormente se envió al ultrasonido, para obtener una solución homogénea posteriormente se elaboraron 5 dilución seriadas tomando 0.5 ml de cada concentración y agregando 0.5 ml de metanol para conseguir las concentraciones establecidas las cuales corresponde a las siguientes 500, 250, 125, 62.5, 31.25 mg/ml de cada extracto vegetal (González y Palacios, 2017).

4.2.9 Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y crecimiento bacteriano mediante el método de microdilución

De acuerdo con Argote (2017), la concentración mínima inhibitoria representa la menor concentración de un agente antimicrobiano ya sea un antibiótico o un extracto vegetal para detener el crecimiento bacteriano en un periodo de tiempo de incubación. Para realizar las pruebas de CMI se tomó como referencia el procedimiento de Arends et al. (2020), los ensayos fueron realizados en placas de 96 pocillos de fondo plano, previamente a los ensayos se preparó el inóculo bacteriano tomando colonias de 24 horas e incorporando en tubos de ensayo con 10 ml de Nutrient Broth para ser incubadas y posteriormente ser utilizadas, finalmente se ajustó la bacteria en la escala de McFarland 0.5 que permite medir la concentración o cantidad de bacterias en suspensión mediante el espectrofotómetro estandarizado a 625 nm para alcanzar una absorbancia de 0.08 – 0.1 lo que equivale a 1.5×10^8 UFC/ml necesarios para el estudio.

Una vez ajustado el inóculo bacteriano y preparada las diluciones seriadas de los extractos vegetales se procedió a realizar el montaje de las placas incorporando 100 μ L de inóculo estandarizado de bacterias y 10 μ L de extracto vegetal obteniendo una cantidad total de 110 μ L en cada pocillo, además se realizó el montaje de cuatro controles: inóculo bacteriano más metanol como control vehículo, Nutrient Broth con inóculo bacteriano como control negativo, Nutrient

Broth con inoculo bacteriano más antibiótico como control positivo y Nutrient Broth solo como control del medio, todo el ensayo se realizó por triplicado (Sierra et al., 2020).

Finalmente se procedió a realizar la lectura mediante el lector de microplacas a las 0 horas a 625 nm, luego se incubó las placas de 96 pocillos por un periodo de 18 horas, posteriormente se realizó la nueva lectura de las placas para poder recopilar los datos de la absorbancia y poder determinar la inhibición y el crecimiento bacteriano (Corzo, 2012). Los datos de CMI se registraron mediante la expresión matemática descrita en la ecuación 2 utilizando los promedios del porcentaje de inhibición obtenidos en las pruebas realizadas (Quave et al., 2008).

En la ecuación 2, se muestra la fórmula utilizada para el cálculo del porcentaje de inhibición bacteriana por los extractos vegetales, donde se considera la densidad óptica a las 0 horas y 18 horas después de la incubación.

$$\%Inhibición \left(1 - \left(\frac{DOp\ 18h - DOp\ 0h}{DOcv\ 18h - DOcv\ 0h} \right) \right) \times 100$$

Ecuación 2. Porcentaje de actividad inhibitoria de los extractos vegetales adaptado de: Quave et al. (2008)

donde:

DOp 18h: densidad óptica del pocillo de prueba a 18 horas luego de la inoculación.

DOp 0h: densidad óptica del pocillo de prueba a 0 horas luego de la inculpación

DOcv 18h: densidad óptica del pocillo de control vehículo a 18 horas luego de la inoculación.

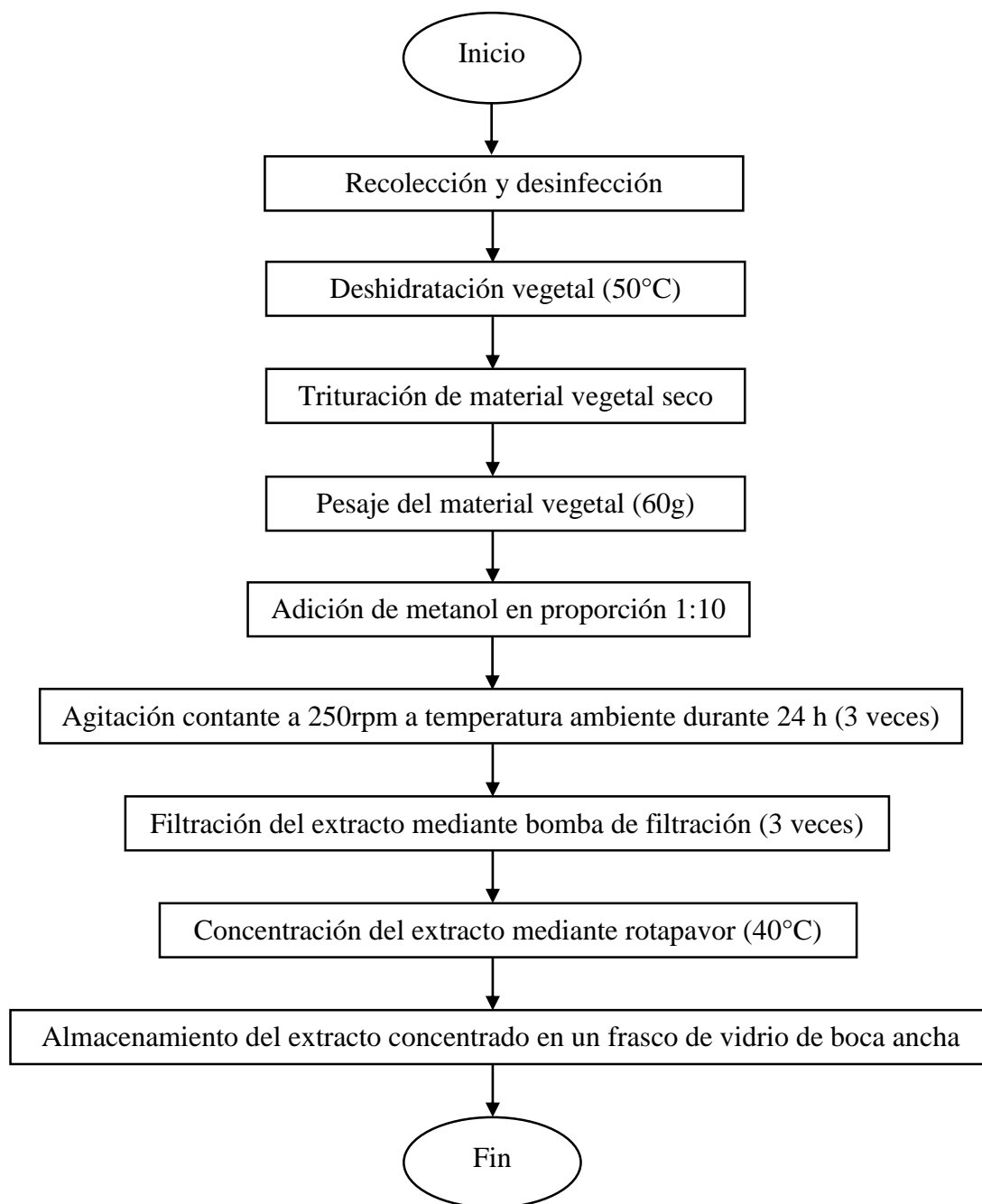
DOcv 0h: densidad óptica del pocillo de control vehículo a 0 horas luego de la inhalación.

4.2.10 Diagrama de flujo del procedimiento de extracción de extracto total mediante maceración dinámica

En la figura 4, se muestra los pasos secuenciales de la extracción del extracto total de las especies vegetales mediante la maceración dinámica, desde la recolección y secado del material vegetal, su trituración, maceración con metanol con agitación constante, hasta la filtración y concentración del extracto.

Figura 4

Diagrama de flujo del procedimiento de extracción del extracto total mediante maceración dinámica

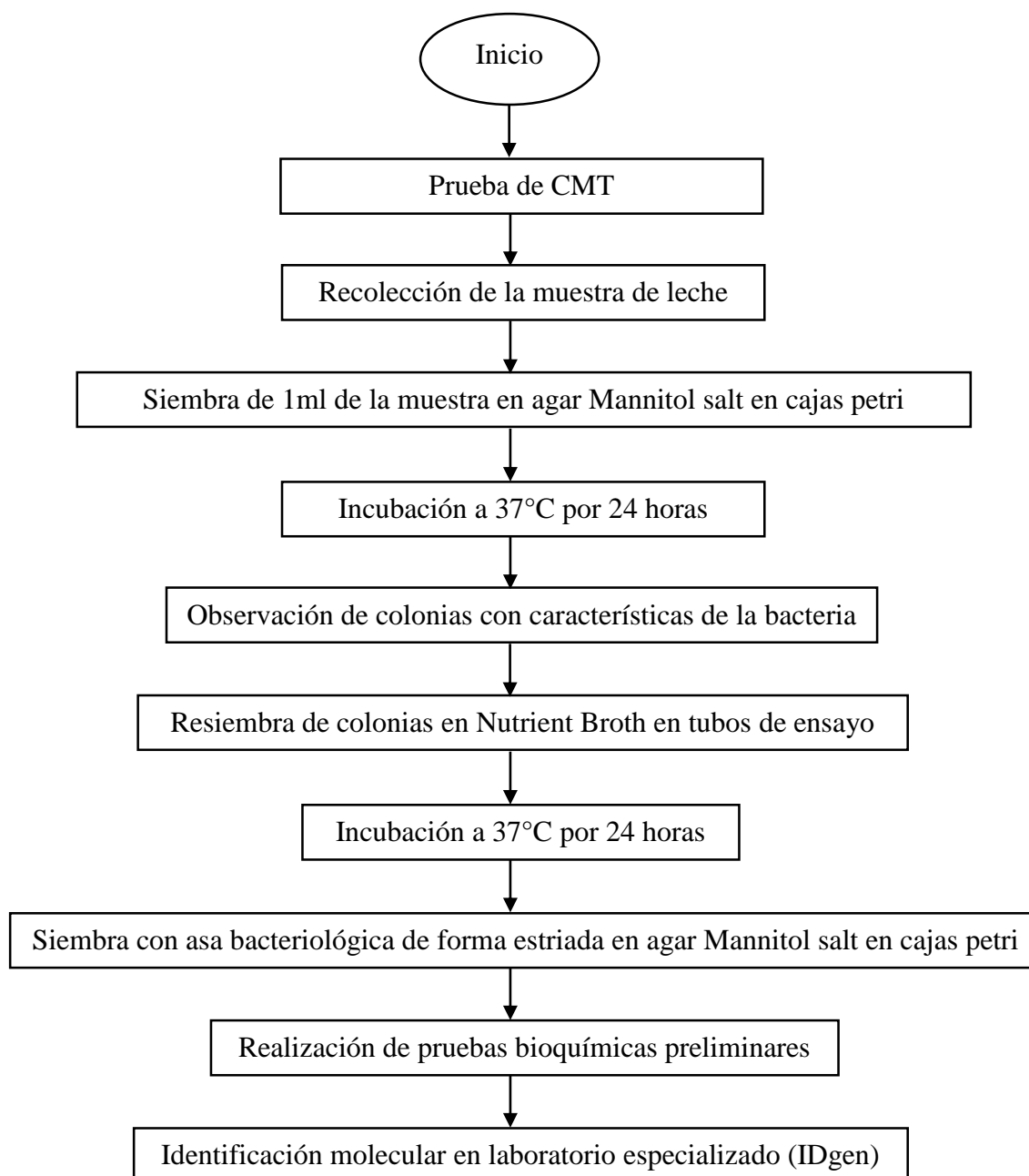


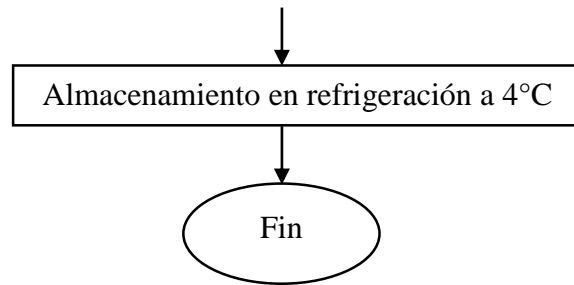
4.2.11 Diagrama de flujo del procedimiento de aislamiento de la bacteria *S. xylosus*

En la figura 5, se muestra el procedimiento de manera secuencial del aislamiento de la bacteria *Staphylococcus xylosus*, desde la toma de la muestra, siembra y resiembra en medio de cultivo, incubación, identificación de colonias con características de la bacteria, pruebas preliminares en el laboratorio e identificación molecular para determinar la presencia de la bacteria.

Figura 5

Diagrama de flujo del procedimiento de aislamiento de la bacteria Staphylococcus xylosus





CAPÍTULO V

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3 Obtención e identificación taxonómica de las especies vegetales

Para esta investigación se recolectaron ocho muestras vegetales de cada especie *Datura stramonium* y *Brugmansia arborea*.

En la tabla 8, se muestra el lugar donde se llevó a cabo la recolección de las especies vegetales para este estudio. Se detalla la familia, especie y nombre común de las plantas utilizadas en el presente estudio, además se puede observar la zona geográfica con sus respectiva coordenadas y altura (m.s.n.m).

Tabla 8

Área de recolección de especies vegetales

Familia	Especie	Nombre común	Lugar de recolección	Altura (m.s.n.m)	Coordenadas
Solanaceae	<i>Datura stramonium</i>	Chamico	El Jordán -	2543	latitud 0°13'58''N y
			Otavalo -		longitud
			Imbabura		78°15'14''W
Solanaceae	<i>Brugmansia arborea</i>	Floripondio	El Jordán -	2586	latitud 0°14'00''N y
			Otavalo -		longitud
			Imbabura		78°15'05''W

La identificación taxonómica de las especies vegetales se realizó mediante una clave dicotómica y el diagnóstico morfológico que consiste en observar y comparar características propias o distintivas de la especie vegetal con criterios preestablecidos, por lo tanto, se logra establecer que la especie *Brugmansia arborea* se caracteriza particularmente por poseer flores colgantes en forma de trompeta generalmente de color blanco, puede alcanzar una altura de 3-6 m, posee hojas grandes ovaladas y con fruto liso sin espinas (García, 2018). Por otra parte, la especie *Datura stramonium* se caracteriza por poseer frutos espinosos que contienen pequeñas semillas de color marrón, puede alcanzar una altura de 1.5 m, sus hojas son grandes de forma dentada, sus flores son en forma de embudo y generalmente de color morado (Troiani et al., 2017).

En la figura 6, se observa una muestra vegetal de la especie *Brugmansia arborea* que se recolectó durante el trabajo de campo y fue cuidadosamente depositada en el herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Ibarra, de esta manera garantizando su conservación y disponibilidad para futuras referencias taxonómicas, además sirve como material de evidencia utilizado en el desarrollo del presente estudio.

Figura 6

Muestra vegetal Brugmansia arborea



Nota. Muestra vegetal depositada en el herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Ibarra

En la figura 7, se observa una muestra vegetal de la especie *Datura stramonium* que se recolectó durante el trabajo de campo y fue cuidadosamente depositada en el herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Ibarra, de esta manera garantizando su conservación y disponibilidad para futuras referencias taxonómicas, además sirve como material de evidencia utilizado en el desarrollo del presente estudio.

Figura 7

Muestra vegetal Datura stramonium



Nota. Muestra vegetal depositada en el herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador - Ibarra

4.4 Obtención de los extractos totales de las especies vegetales

Se logró obtener extractos metanolitos de cada especie vegetal en estudio tanto de *Brugmansia arbórea* como de *Datura stramonium*, en la tabla 9, se observa la cantidad de extracto total obtenido y el rendimiento que se expresa en porcentaje partiendo de la cantidad de 60 g de material vegetal seco utilizado, aplicando la expresión matemática Ecuación 1 se determinó el porcentaje de rendimiento del extracto total de cada una de las especies vegetales. Se puede observar el porcentaje de rendimiento obtenido de 61.38% para la especie vegetal *Datura stramonium* y 32.5 % para la especie vegetal *Brugmansia arbórea*.

Tabla 9

Porcentaje de rendimiento del extracto total

Especie vegetal	Material vegetal utilizado (g)	Extracto seco obtenido (g)	Rendimiento (%)
<i>Datura stramonium</i>	60	36.83	61.38
	60	19.5	32.5

Brugmansia
arborea

De acuerdo con Caisapanta (2019), en su investigación con extracto total de la especie vegetal *Brugmansia suaveolens* perteneciente al mismo género y familia que la especie vegetal en estudio encontró un rendimiento total mediante la maceración con alcohol al 70°GL de 29.87%, mientras que el rendimiento obtenido de *Brugmansia arborea* es de 32.5% demostrando su alto contenido de compuestos activos presentes en la planta.

Por otro lado, en un estudio realizado por Flores et al. (2019), con extracto hidroalcohólico de *Datura stramonium* reporto un rendimiento total de 22.50% un porcentaje menor al extracto metanólico con un porcentaje de 61.38%. Por lo que demuestra que el metanol es un solvente más adecuado para extraer compuestos activos según Cuesta y Mogrovejo (2020), indica que el metanol es más eficiente para solubilizar una amplia gama de compuestos activos, además debido a su alta volatilidad es más sencillo la remoción mediante la evaporación obteniendo un extracto concentrado con mejor rendimiento.

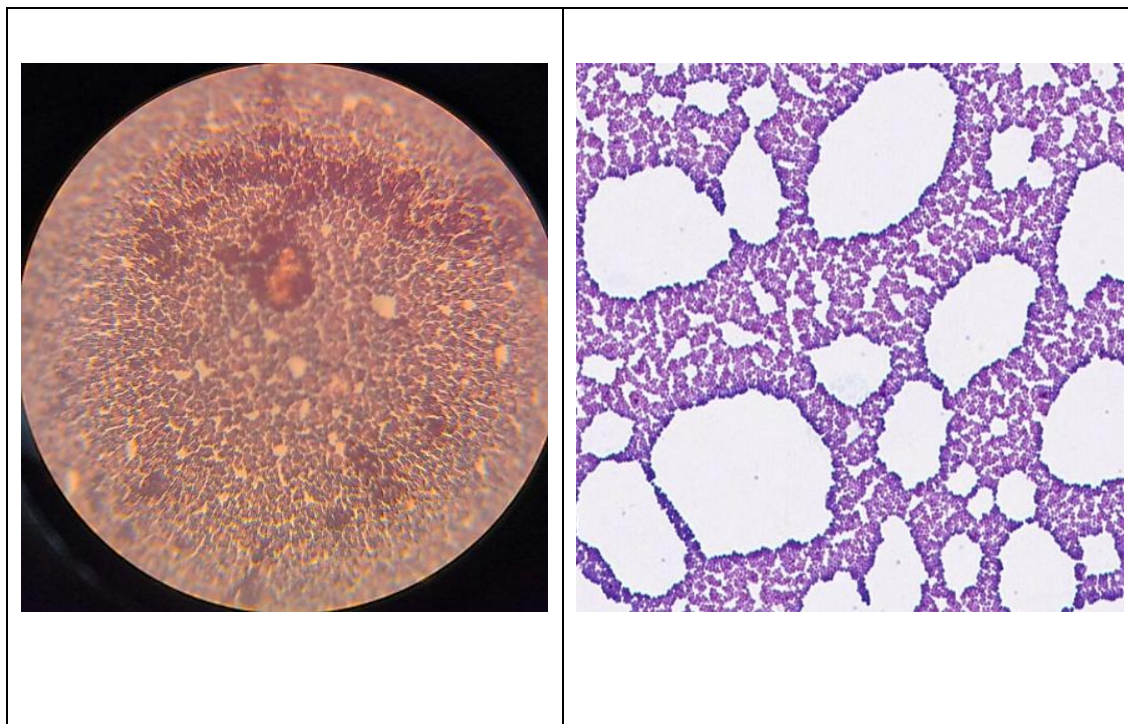
4.5 Identificación morfológica de la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina mediante la prueba de tinción Gram

En la figura 8A, se puede observar los resultados obtenidos de la prueba de tinción Gram realizado es el laboratorio, donde se muestra la coloración violeta típica de las bacterias Gram positivas vista desde el microscopio, además se puede visualizar que se presenta en forma de cocos agrupada en racimos, mientras que en la figura 8B, se muestra una comparación similar a los reportados previamente por The World's Largest Gut Microbe Bank (2017).

Figura 8

*Resultados tinción Gram de la bacteria *Staphylococcus xylosus**

A	B
---	---



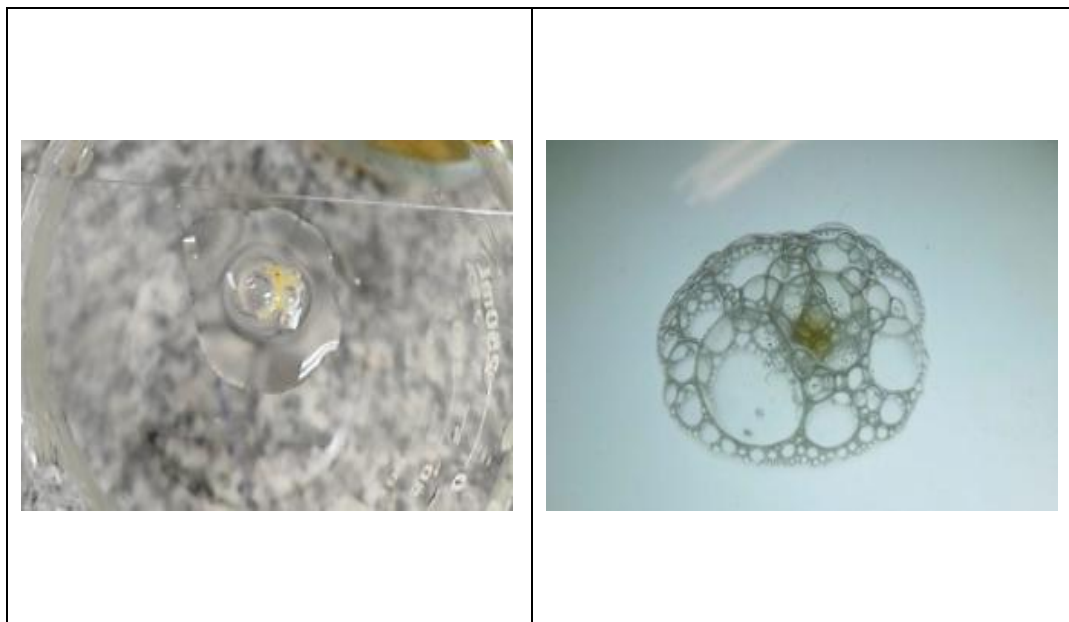
4.6 Prueba de catalasa de la bacteria *Staphylococcus xylosus*

En la figura 9A, se puede observar los resultados obtenidos en el laboratorio de la prueba de catalasa. Los *Staphylococcus* son considerados como catalasa positiva debido a que descomponen el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno debido a la presencia de la enzima catalasa, por lo tanto, al realizar una prueba de catalasa se pueden observar la formación de burbujas, mientras que en la figura 9B, se muestra una comparación con datos previamente documentado por González y García (2012).

Figura 9

Prueba de catalasa de la bacteria Staphylococcus xylosus

A	B
---	---



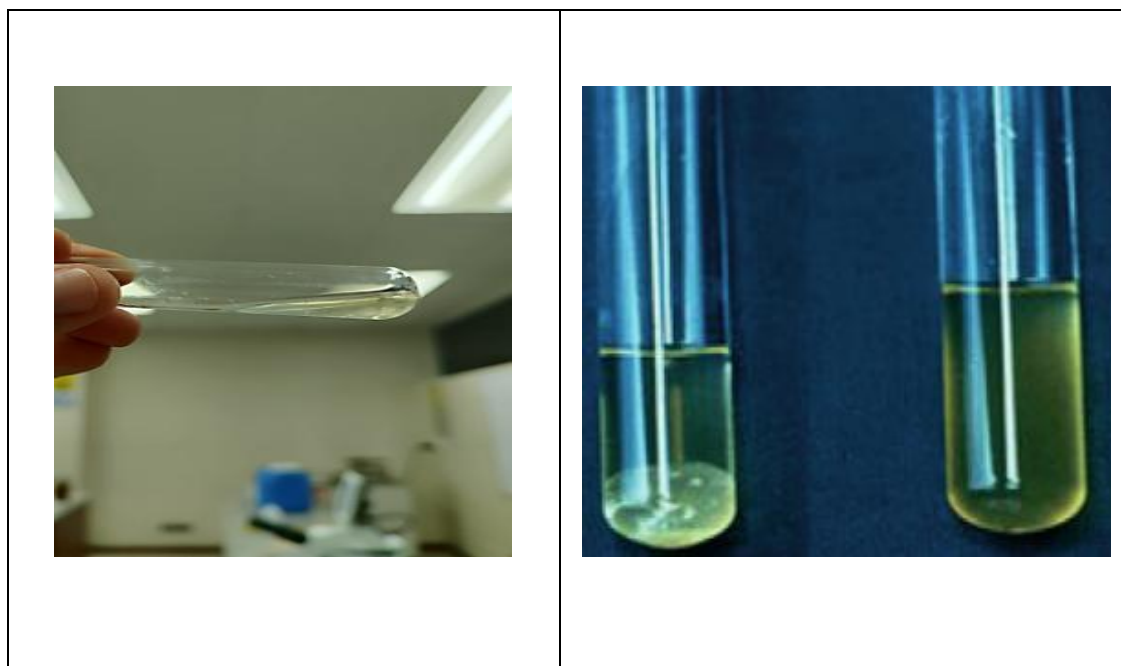
4.7 Prueba de coagulasa

En la figura 10A, se puede observar los resultados obtenidos en la prueba de coagulasa realizado en el laboratorio, debido a que la bacteria *Staphylococcus xylosus* pertenece al grupo de coagulasa negativa no se pudo observar la formación de coágulos en el tubo de ensayo, mientras que en la figura 10B, se muestra una comparación de la prueba positiva y negativa reportada previamente por Sosa et al. (2022).

Figura 10

Prueba de coagulasa de la bacteria Staphylococcus xylosus

A	B
---	---



4.8 Identificación molecular de la bacteria *Staphylococcus xylosus*

En la tabla 10, se puede observar el código B802 en donde se logró identificar la presencia de la bacteria *Staphylococcus xylosus* con una calidad de 98.2 del fragmento 16S y con un 100% de identidad.

Tabla 10

Identificación molecular del aislado bacteriano

Código IDgen	Muestra	Longitud	Calidad	Organismo	Fragmento	% de identidad	Nº Accesoión
B802	Tubo ensayo C.C 2 (5)	1371	98.2	<i>Staphylococcus xylosus</i>	16S	100	NR_036907.1

Nota. Elaborado por: Garrido (2025).

4.9 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y porcentaje de crecimiento bacteriano por el método de microdilución

En la tabla 11, se puede observar el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus xylosus* a diferentes concentraciones del extracto total de *Brugmansia arborea*. En donde se puede evidenciar que el tratamiento con menor crecimiento bacteriano fue el antibiótico con un promedio de 13.17%, con respecto a las concentraciones evaluadas, el tratamiento con 500mg/ml fue el más efectivo demostrando el menor crecimiento bacteriano con 23.91% seguido de la concentración 250mg/ml con un valor de 33.16%. De esta manera se puede evidenciar que a mayor concentración del extracto utilizado el crecimiento bacteriano es menor.

Tabla 11

Porcentaje de crecimiento bacteriano del extracto total de la especie vegetal Brugmansia arborea

Extracto	Tratamientos	Concentración (mg/mL)	Crecimiento bacteriano (%)			Promedio (%)	Desviación Estándar
			Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3		
<i>Brugmansia arborea</i>	T1	500	24.54	22.86	24.32	23.91	0.91
	T2	250	30.34	37.04	32.09	33.16	3.48
	T3	125	42.25	39.26	39.04	40.18	1.79
	T4	62.5	51.11	51.67	43.69	48.82	4.45
	T5	31.25	70.31	66.88	66.26	67.82	2.18
	T6: Antibiótico	-	13.66	12.21	13.64	13.17	0.83

En la tabla 12, se puede observar la inhibición bacteriana de *Staphylococcus xylosus* a diferentes concentraciones del extracto total de *Brugmansia arborea*. En donde se puede evidenciar que el tratamiento con mayor inhibición bacteriano fue el antibiótico con un promedio de 86.83%, con respecto a las concentraciones evaluadas, el tratamiento con 500mg/ml fue el más efectivo demostrando la mayor inhibición bacteriana con un promedio de 76.09%, seguido de la concentración 250mg/ml con un valor de 66.84%. De esta manera se puede evidenciar que a mayor concentración del extracto utilizado la inhibición bacteriana también será mayor.

Tabla 12

Porcentaje de inhibición bacteriana del extracto total de la especie vegetal *Brugmansia arborea*

Extracto	Tratamientos	Concentración (mg/mL)	Inhibición bacteriano (%)			Promedio (%)	Desviación Estándar
			Repetición	Repetición	Repetición		
			1	2	3		
<i>Brugmansia arborea</i>	T1	500	75.46	77.14	75.68	76.09	0.91
	T2	250	69.66	62.96	67.91	66.84	3.48
	T3	125	57.75	60.74	60.96	59.82	1.79
	T4	62.5	48.89	48.33	56.31	51.18	4.45
	T5	31.25	29.69	33.12	33.74	32.18	2.18
	T6: Antibiótico	-	86.34	87.79	86.36	86.83	0.83

En la tabla 13, se puede observar el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus xylosus* a diferentes concentraciones del extracto total de *Datura stramonium*. En donde se puede evidenciar que el tratamiento con menor crecimiento bacteriano demostró ser el antibiótico con un promedio de 13.17%, con respecto a las concentraciones evaluadas, el tratamiento con 500mg/ml fue el más efectivo demostrando el menor crecimiento bacteriano con 24.40% seguido de la concentración 250mg/ml con un valor de 34.61%. De esta manera se puede evidenciar que a mayor concentración del extracto utilizado el crecimiento bacteriano es menor.

Tabla 13

Porcentaje de crecimiento bacteriano del extracto total de la especie vegetal *Datura stramonium*

Extracto	Tratamientos	Concentración (mg/mL)	Crecimiento bacteriano (%)			Promedio (%)	Desviación Estándar
			Repetición	Repetición	Repetición		
			1	2	3		
<i>Datura stramonium</i>	T1	500	25.85	23.36	23.98	24.40	1.30
	T2	250	31.68	38.96	33.18	34.61	3.84
	T3	125	43.62	47.37	40.72	43.90	3.33
	T4	62.5	54.04	59.65	47.93	53.87	5.86
	T5	31.25	70.75	69.01	66.79	68.85	1.98
	T6: Antibiótico	-	13.66	12.21	13.64	13.17	0.83

En la tabla 14, se puede observar la inhibición bacteriana de *Staphylococcus xylosus* a diferentes concentraciones del extracto total de *Datura stramonium*. En donde se puede evidenciar que el tratamiento con mayor inhibición bacteriano fue el antibiótico con un promedio de 86.83%,

con respecto a las concentraciones evaluadas, el tratamiento con 500mg/ml fue el más efectivo demostrando la mayor inhibición bacteriana con un promedio de 75.60%, seguido de la concentración 250mg/ml con un valor de 65.40%. De esta manera se puede evidenciar que a mayor concentración del extracto utilizado la inhibición bacteriana también será mayor.

Tabla 14

Porcentaje de inhibición bacteriana del extracto total de la especie vegetal Datura stramonium

Extracto	Tratamientos	Concentración (mg/mL)	Inhibición bacteriano (%)			Promedio (%)	Desviación Estándar
			Repetición	Repetición	Repetición		
			1	2	3		
<i>Datura stramonium</i>	T1	500	74.15	76.64	76.02	75.60	1.30
	T2	250	68.32	61.05	66.82	65.40	3.84
	T3	125	56.38	52.63	59.28	56.10	3.33
	T4	62.5	45.96	40.35	52.07	46.13	5.86
	T5	31.25	29.25	30.99	33.21	31.15	1.98
	T6: Antibiótico	-	86.34	87.79	86.36	86.83	0.83

4.9.1 Prueba de normalidad de Shapiro – Wilk y Homocedasticidad de varianza de Levene

Luego de realizar el test de Shapiro - Wilk y el contraste de test de Levene, que se observa en la tabla 15, se puede afirmar que los valores previenen de una distribución normal.

Tabla 15

Prueba de normalidad y homocedasticidad

Variable	Observaciones	Media	Desv. típica	<i>Shapiro_test</i>		<i>Levene_test</i>	
				W	p-value	F	p-value
<i>% crecimiento</i>							
<i>bacteriano</i>							
<i>(Brugmansia</i>							
<i>arborea)</i>							
	18	37.843	18.200	0.954	0.487	0.461	0.798
<i>% inhibición</i>							
<i>bacteriano</i>							
<i>(Brugmansia</i>							
<i>arborea)</i>							
	18	62.157	18.200	0.954	0.487	0.461	0.798

% crecimiento

bacteriano

(*Datura*

stramonium) 18 39.800 19.143 0.977 0.920 1.039 0.439

% inhibición

bacteriano

(*Datura*

stramonium) 18 60.201 19.143 0.977 0.920 1.040 0.438

Nota. Shapiro_test y Levene_test p-value > 0.05

4.9.2 Análisis de varianza de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la aplicación de dosis de extracto total de *Brugmansia arborea* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

Luego del análisis de la varianza que se puede observar en la tabla 16, se puede manifestar que existe diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio que corresponde a las concentraciones del extracto total de la especie vegetal *Brugmansia arborea* en la variable de crecimiento bacteriano de *Staphylococcus xylosus*, el promedio de los tratamientos es de 37.843%, mientras que el coeficiente de variación (CV) se encuentra en un rango de 6.943% lo que muestra una baja dispersión de los datos con respecto al promedio.

Tabla 16

Análisis de varianza de la variable crecimiento bacteriano del extracto total de la especie *Brugmansia arborea*

<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 signification codes</i>
<i>Modelo</i>	5	5548.217	1109.643	160.753	<0,0001	***
<i>Total corregido</i>	17	5631.050				
<i>Tratamientos</i>	5	5548.217	1109.643	160.753	<0,0001	***
<i>Error</i>	12	82.833	6.903			

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

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

Promedio (%) 37.843

CV (%) 6.943

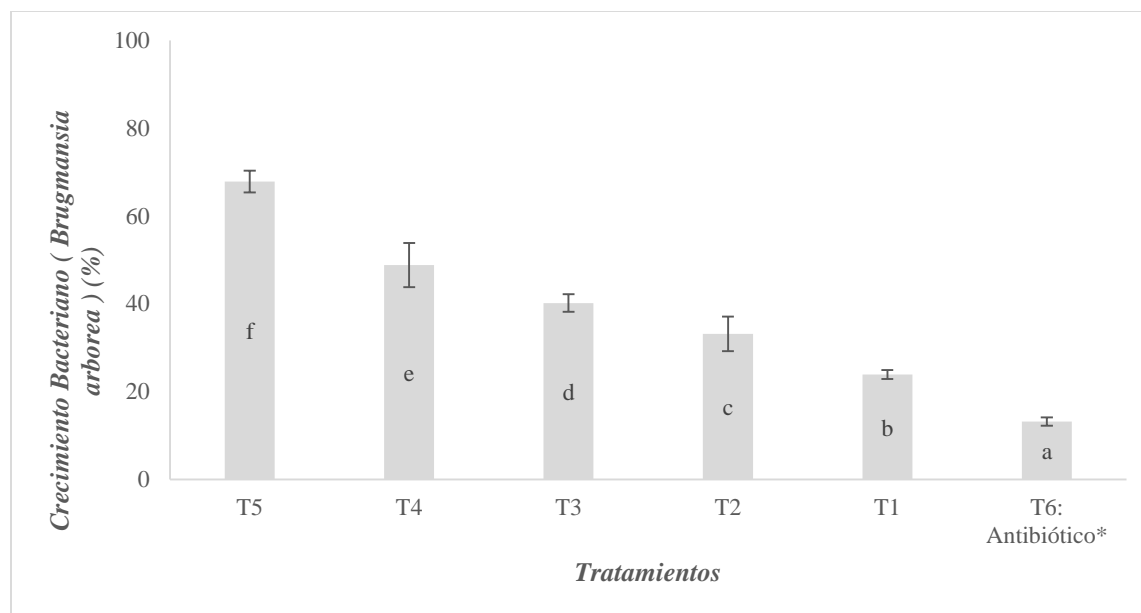
Nota. GL: Grados de libertad, F: valor F calculado, CV (%): Coeficiente de variación

4.9.3 Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la utilización de extracto total de *Brugmansia arborea* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

En la figura 11, se puede observar la prueba de comparación múltiple de promedios mediante Tukey al 5%, muestra que existe seis rangos de significancia para el crecimiento bacteriano del extracto total de la especie vegetal *Brugmansia arborea*. El tratamiento donde menor crecimiento bacteriano alcanzo fue en el que se aplicó antibiótico con un valor de 13.17%, de las concentraciones del extracto vegetal en estudio que menos porcentaje de crecimiento bacteriano alcanzo fue el tratamiento con la concentración de 500mg/ml con valor de 23.91% seguido de la concentración 250mg/ml con un valor de 33.16%. A medida que la concentración baja el crecimiento bacteriano aumenta, por lo tanto, la concentración de 31.25mg/ml muestra un valor de crecimiento bacteriano de 67.82%, en este contexto las concentraciones más altas reflejan menor crecimiento bacteriano.

Figura 11

*Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable crecimiento bacteriano de *Brugmansia arborea**



Nota. T1= tratamiento 1 concentración (500mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T2= tratamiento 2 concentración (250mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T3= tratamiento 3 concentración (125mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T4= tratamiento 4 concentración (62.5mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T5= tratamiento 5 concentración (31.25mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T6= tratamiento 6 Antibiótico* Contenido antibiótico*= Penicilina G procaína 100 000UI/ml; Penicilina G benzatína 100 000UI/ml; Dihidroestreptomicina (sulfato) 200mg/ml.

En el presente estudio realizado se puede observar la relación que existe entre concentración del extracto vegetal y el porcentaje de crecimiento bacteriano aumentando gradualmente de 23.91% en la concentración de 500mg/ml a 67.82% en la concentración de 31.25mg/ml siguiendo un patrón semejante al reportado por Rodrigues et al. (2023), el cual encontró en su investigación con extracto acuoso de *Brugmansia* frente a cepas bacterianas el incremento bacteriano progresivo en los halos de inhibición al disminuir la concentración obteniendo halos de inhibición de 25mm lo que implica que hay menor crecimiento bacteriano a 23mm lo que evidencia que existe mayor crecimiento bacteriano.

4.9.4 Análisis de varianza de la variable porcentaje de inhibición bacteriana mediante la aplicación de extracto total de *Brugmansia arborea* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

Luego del análisis de varianza tabla 17, se observa que existe diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio correspondientes a las concentraciones del extracto total de *Brugmansia arborea* en la variable de inhibición bacteriana de *Staphylococcus xylosus*, el promedio es de 62.157%, mientras que el coeficiente de variación es de 4.227%, dejando en evidencia la baja dispersión de datos con respecto al promedio.

Tabla 17

Análisis de varianza de la variable inhibición bacteriana del extracto total de la especie Brugmansia arborea

<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 signification codes</i>
<i>Modelo</i>	5	5548.217	1109.643	160.753	<0,0001	***
<i>Total corregido</i>	17	5631.050				
<i>Tratamientos</i>	5	5548.217	1109.643	160.753	<0,0001	***
<i>Error</i>	12	82.833	6.903			

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

*Signification codes: $0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ^\circ < 1$*

Promedio (%) 62.157

CV (%) 4.227

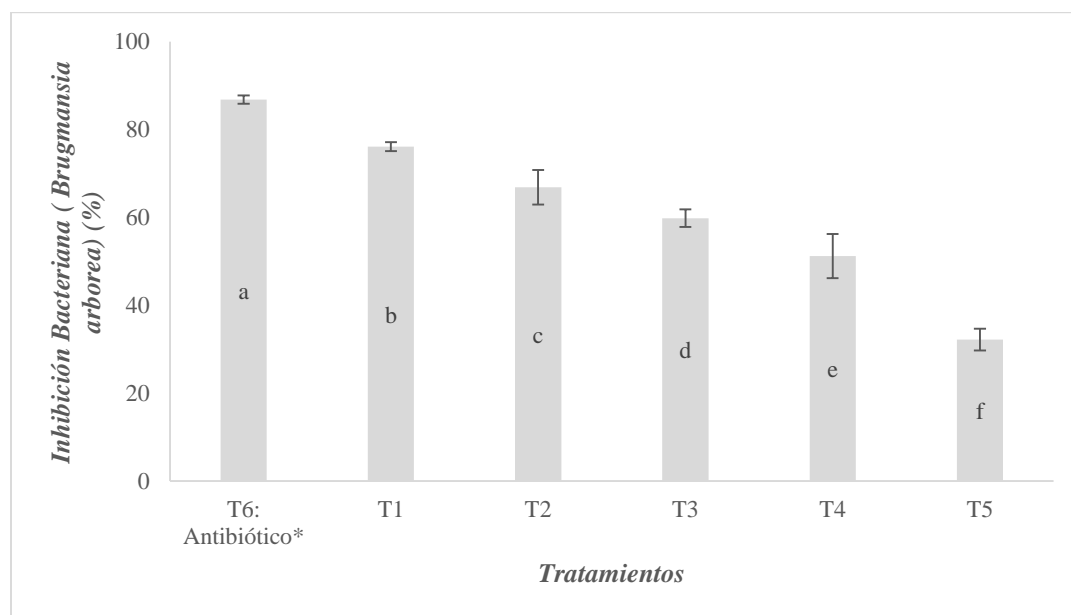
4.9.5 Comparación múltiple de promedio de la variable inhibición bacteriana mediante la utilización de extracto total de *Brugmansia arborea* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

En la figura 12, se puede observar la prueba de comparación múltiple de promedios Tukey 5%, muestra que existe seis rangos de significancia para la inhibición bacteriana del extracto total de la especie vegetal *Brugmansia arborea*. El tratamiento con mayor inhibición bacteriana fue en el que se aplicó antibiótico con un valor de 86.83%. En cuanto a las concentraciones del extracto vegetal en estudio que mayor inhibición bacteriano alcanzo fue el tratamiento de 500mg/ml con un valor de 76.09% seguido de la concentración 250mg/ml con 66.84% a medida que la

concentración del extracto vegetal disminuye también lo hace el porcentaje de inhibición bacteriano, por lo tanto, en donde menor inhibición alcanzó es en la concentración de 31.25mg/ml con valor de 32.18%, en este contexto las concentraciones más altas reflejan mayor inhibición bacteriana.

Figura 12

*Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable inhibición bacteriana de *Brugmansia arborea**



Nota. T1= tratamiento 1 concentración (500mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T2= tratamiento 2 concentración (250mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T3= tratamiento 3 concentración (125mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T4= tratamiento 4 concentración (62.5mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T5= tratamiento 5 concentración (31.25mg/ml) de extracto total de *Brugmansia arborea*; T6= tratamiento 6 Antibiótico* Contenido antibiótico*= Penicilina G procaína 100 000UI/ml; Penicilina G benzatína 100 000UI/ml; Dihidroestreptomicina (sulfato) 200mg/ml.

Los tratamientos con las concentraciones más elevadas reflejan una mayor inhibición bacteriana demostrando así su actividad sobre microorganismos patógenos debido a sus compuestos que posee como alcaloides, flavonoides, cumarinas, terpenos, compuestos fenólicos, entre otros, que además de su actividad sinérgica entre estos compuestos afecta negativamente el

crecimiento bacteriano de la cual la efectividad está condicionada en lograr una concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento bacteriano (Schnur et al., 2021).

Las plantas de la familia *Solanaceae* han sido utilizadas tradicionalmente por sus atributos beneficiosos para la salud, por lo que el uso de los extractos vegetales de esta familia ha ido en aumento en estudios para evaluar la eficiencia antimicrobiana, los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron una fuerte inhibición con 500mg/ml alcanzando un valor de 76.09%. Esta observación es similar a los reportados por Regassa et al. (2024), en su estudio con extractos metanólicos de *Brugmansia suaveolens* mostraron un notable efecto de actividad inhibitoria contra diferentes microorganismos en donde el extracto metanólico de las hojas mostró la zona de inhibición más alta con 8.0 ± 1.41 mm, mientras que la menor actividad mostro una zona de inhibición de 3.13 ± 2.53 mm dependiendo de la concentración del extracto demostrando la efectividad de estos extractos vegetales para el control de microorganismos patógenos.

En este contexto se puede evidenciar que la relación dosis – dependiente que se encuentra en el presente estudio en donde la inhibición bacteriana disminuyo proporcionalmente con la concentración obteniendo de 500mg/ml una inhibición de 76.09% y la concentración de 31.25mg/ml un valor de 32.18% esto se relaciona con los hallazgos encontrados en investigaciones similares. En un estudio realizado por Soto (2014), en su investigación con extractos totales de diferentes especies de *Solanaceae* (familia a la que pertenece *Brugmansia arborea*), observaron el mismo patrón a la actividad antimicrobiana frente a deferentes cepas bacterianas encontrando que a mayor concentración mayor es la inhibición bacteriana con un valor de 87.8% y un crecimiento bacteriano de 12.2% demostrando las propiedades antimicrobianas que poseen esta familia.

Además, el porcentaje de inhibición de 32.18% encontrado en este estudio en la concentración más baja de 31.25mg/ml, sugiere una actividad eficiente atribuyendo a los compuestos que la planta poseen convirtiéndose en una fuente fitoquímica para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, considerando la preocupación por la necesidad de encontrar nuevas alternativas frente a la resistencia bacteriana a antibióticos convencionales.

4.9.6 Análisis de varianza de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la aplicación de dosis de extracto total de *Datura stramonium* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

Luego del análisis de la varianza que se puede observar en la tabla 18, se puede manifestar que existe diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio que corresponde a las concentraciones del extracto total de la especie vegetal *Datura stramonium* en la variable de crecimiento bacteriano de *Staphylococcus xylosus*, el promedio de los tratamientos es de 39.800%, mientras que el coeficiente de variación (CV) se encuentra en un rango de 8.369% lo que muestra una baja dispersión de los datos con respecto al promedio.

Tabla 18

Análisis de varianza de la variable crecimiento bacteriano del extracto total de la especie Datura stramonium

<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 signification codes</i>
<i>Modelo</i>	5	6096.567	1219.313	109.908	<0,0001	***
<i>Total corregido</i>	17	6229.694				
<i>Tratamientos</i>	5	6096.567	1219.313	109.908	<0,0001	***
<i>Error</i>	12	133.127	11.094			

Calculado contra el modelo

Y=Media(Y)

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

Promedio (%) 39.800

CV (%) 8.369

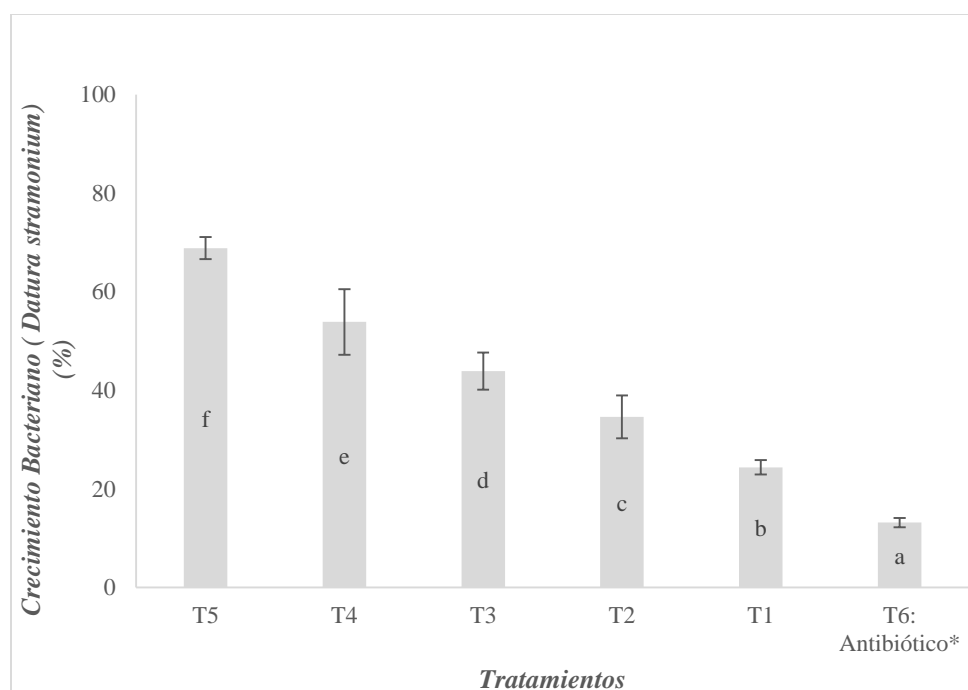
4.9.7 Comparación múltiple de promedio de la variable porcentaje de crecimiento bacteriano mediante la utilización de extracto total de *Datura stramonium* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

En la figura 13, se puede observar la prueba de comparación múltiple de promedios mediante Tukey al 5%, muestra que existe seis rangos de significancia para el crecimiento bacteriano del extracto total de la especie vegetal *Datura stramonium*. El tratamiento donde menor

crecimiento bacteriano alcanzó fue en el que se aplicó antibiótico con un valor de 13.17%, de las concentraciones del extracto vegetal en estudio que menos porcentaje de crecimiento bacteriano alcanzó fue el tratamiento con la concentración de 500mg/ml con valor de 24.40% seguido de la concentración 250mg/ml con un valor de 34.61%. A medida que la concentración baja el crecimiento bacteriano aumenta, por lo tanto, la concentración de 31.25mg/ml muestra un valor de crecimiento bacteriano de 68.85%, en este contexto las concentraciones más altas reflejan menor crecimiento bacteriano.

Figura 13

Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable crecimiento bacteriano de *Datura stramonium*



Nota. T1= tratamiento 1 concentración (500mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T2= tratamiento 2 concentración (250mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T3= tratamiento 3 concentración (125mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T4= tratamiento 4 concentración (62.5mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T5= tratamiento 5 concentración (31.25mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T6= tratamiento 6 Antibiótico* Contenido antibiótico*= Penicilina G procaína 100 000UI/ml; Penicilina G benzatína 100 000UI/ml; Dihidroestreptomicina (sulfato) 200mg/ml.

En el presente estudio realizado se puede observar la relación que existe entre la concentración del extracto vegetal de *Datura stramonium* y el porcentaje de crecimiento bacteriano donde el tratamiento con la concentración de 500mg/ml alcanzo un valor de 24.40% mostrando el menor crecimiento bacteriano y aumentado progresivamente mientras la concentración del extracto disminuye obteniendo un valor de 68.85% en la concentración de 31.25mg/ml, siguiendo un patrón comparable al reportado por Arage et al. (2022), el cual encontró en su investigación con extractos metanólicos de tres diferentes especies vegetales una de ellas *Datura stramonium* frente a diferentes cepas bacterianas obteniendo halos de inhibición de 15.33 ± 0.33 en su concentración más alta de 500ml/mg y 8.67 ± 0.33 en su dosis más baja de 125mg/ml demostrando que a mayor concentración de extracto vegetal menor crecimiento bacteriano, por lo tanto se demuestra la efectividad que presenta el extracto vegetal para el control de microorganismo patógenos.

4.9.8 Análisis de varianza de la variable porcentaje de inhibición bacteriana mediante la aplicación de extracto total de *Datura stramonium* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

Luego del análisis de varianza tabla 19, se observa que existe diferencias altamente significativas para los tratamientos en estudio correspondientes a las concentraciones del extracto total de *Datura stramonium* en la variable de inhibición bacteriana de *Staphylococcus xylosus*, el promedio es de 60.201%, mientras que el coeficiente de variación es de 5.531%, dejando en evidencia la baja dispersión de datos con respecto al promedio.

Tabla 19

*Análisis de varianza de la variable inhibición bacteriana del extracto total de la especie *Datura stramonium**

<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 signification codes</i>
<i>Modelo</i>	5	6096.670	1219.334	109.982	<0,0001	***

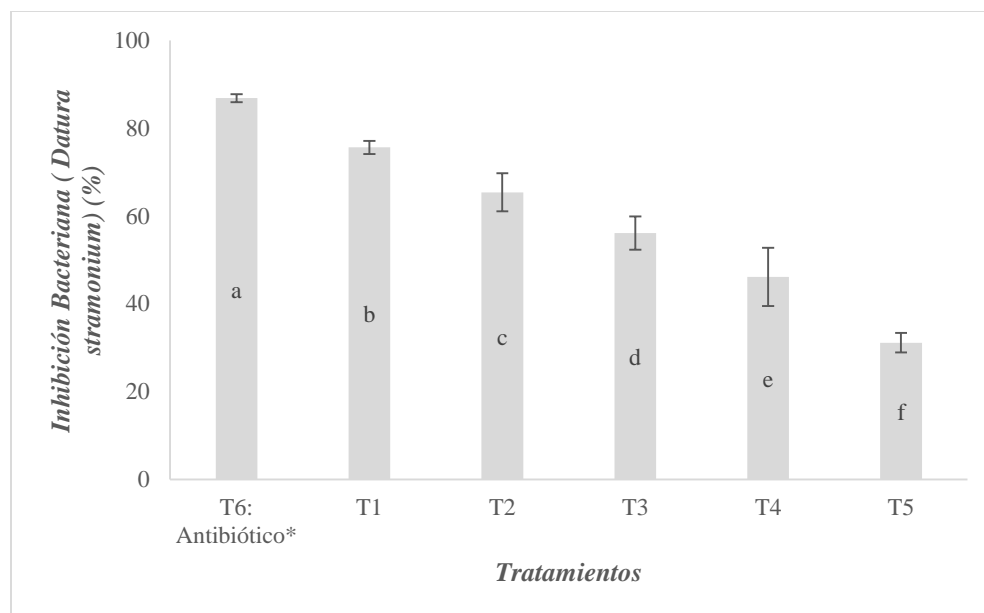
<i>Total</i>						
<i>corregido</i>	17	6229.710				
<i>Tratamientos</i>	5	6096.670	1219.334	109.982	<0,0001	***
<i>Error</i>	12	133.040	11.087			
<hr/>						
<i>Calculado contra el modelo</i>						
<i>Y=Media(Y)</i>						
<i>Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1</i>						
Promedio (%)	60.201					
CV (%)	5.531					

4.9.9 Comparación múltiple de promedio de la variable inhibición bacteriana mediante la utilización de extracto total de *Datura stramonium* sobre la bacteria *Staphylococcus xylosus* aislada de mastitis bovina.

En la figura 14, se puede observar la prueba de comparación múltiple de promedios Tukey 5%, muestra que existe seis rangos de significancia para la inhibición bacteriana del extracto total de la especie vegetal *Datura stramonium*. El tratamiento con mayor inhibición bacteriana fue en el que se aplicó antibiótico con un valor de 86.83%. En cuanto a las concentraciones del extracto vegetal en estudio que mayor inhibición bacteriano alcanzo fue el tratamiento de 500mg/ml con un valor de 75.60% seguido de la concentración 250mg/ml con un valor de 65.40% a medida que la concentración del extracto vegetal disminuye también lo hace el porcentaje de inhibición bacteriano, por lo tanto, en donde menor inhibición alcanzó es en la concentración de 31.25mg/ml con valor de 31.15%, en este contexto las concentraciones más altas reflejan mayor inhibición bacteriana.

Figura 14

*Comparación múltiple de promedios Tukey al 5% de la variable inhibición bacteriana de *Datura stramonium**



Nota. T1= tratamiento 1 concentración (500mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T2= tratamiento 2 concentración (250mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T3= tratamiento 3 concentración (125mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T4= tratamiento 4 concentración (62.5mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T5= tratamiento 5 concentración (31.25mg/ml) de extracto total de *Datura stramonium*; T6= tratamiento 6 Antibiótico* Contenido antibiótico*= Penicilina G procaína 100 000UI/ml; Penicilina G benzatína 100 000UI/ml; Dihidroestreptomicina (sulfato) 200mg/ml.

Los resultados demuestran la relación que existe entre la concentración del extracto vegetal y el porcentaje de inhibición bacteriano siendo inversamente proporcional esto se relaciona con los hallazgos encontrados en investigaciones similares. En un estudio realizado por Requejo y Callao (2021), el cual en su investigación con extractos etanólicos de *Datura stramonium* encontró una alta inhibición bacteriana frente a *Staphylococcus* demostrando halos de inhibición de 6.35, 6.27 y 6.17mm a concentraciones de 100%, 75% y 50% respectivamente resalta la utilización de plantas como una alternativa prometedora de los antibióticos frente a microorganismo patógenos

En el estudio de Cano y Saucedo (2023), con extractos metanólicos de *Datura stramonium* frente a diferentes cepas bacterianas encontró que la concentración más alta utilizada de 50mg/ml obtuvo halos de inhibición de 18mm y su dosis más baja de 12.5mg/ml obtuvo 7mm demostrando de esta manera la relación dosis-dependiente que existe entre las concentraciones y la inhibición bacteriana misma relación observada en la presente investigación.

La actividad antimicrobiana observada en el presente estudio se puede atribuir a la presencia de varios compuestos activos como alcaloides, flavonoides, taninos, triterpenoides, que a pesar de que en esta investigación no se realizó un estudio fitoquímico la literatura documentada reporta que la especie *Datura stramonium* contiene estos metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana frente a microorganismos patógenos (Hjouji et al., 2025).

CAPÍTULO VI

5 CONCLUSIONES

- Se caracterizó microbiológicamente la bacteria donde se empleó pruebas de tinción Gram y se demostró la presencia de *Staphylococcus xylosus* al observar la forma de cocos agrupadas en racimos y con una coloración violeta. Además, en la siguiente prueba de catalasa se evidenció la formación de burbujas de oxígeno y finalmente en la prueba de coagulasa no se observó coagulo debido a que esta bacteria pertenece al grupo de coagulasa negativa, por otra parte, en la identificación molecular mediante el método de amplificación y secuenciación de fragmento del marcador 16S se demostró un porcentaje de identidad de 100% de la bacteria *Staphylococcus xylosus*.
- Se determinó que la bacteria muestra sensibilidad frente a los extractos totales, la concentración mínima inhibitoria no se pudo demostrar con precisión debido a que ninguna de las concentraciones alcanzo el 100%. Sin embargo, *Datura stramonium* demostró una inhibición dependiente de la concentración siendo 500mg/ml la que mayor efecto obtuvo con 75.60%, seguido de 250mg/ml con 65.39%, 125mg/ml con 56.09%, 62.5mg/ml con 46.12% y finalmente 31.25mg/ml con 31.15%. De igual manera, *Brugmansia arborea* también demostró una inhibición dependiente de la concentración siendo 500mg/ml la que mayor efecto obtuvo con 76.09%, seguido de 250mg/ml con 66.84%, 125mg/ml con 59.81%, 62.5mg/ml con 51.17% y finalmente 31.25mg/ml con 32.18%.
- Se determinó que el rendimiento del extracto total obtenidos mediante la maceración dinámica empleando metanol como solvente fue eficaz. La especie vegetal *Datura stramonium* demostró un porcentaje de rendimiento total de 61.38%, mientras que la especie vegetal *Brugmansia arborea* reporto un rendimiento total de 32.5%.

CAPÍTULO VII

6 RECOMENDACIONES

- De acuerdo con los resultados obtenidos, se recomienda considerar el uso de la especie vegetal *Brugmanisa arborea*, debido a que esta especie demostró una mayor efectividad frente a *Staphylococcus xylosus*. Sin embargo, se debe considerar la toxicidad de las plantas debido a que posee alcaloides del grupo de los tropánicos los cuales pueden ser tóxicos en dosis altas o no controladas.
- Se recomienda la maceración dinámica y como solvente el metanol a temperatura ambiente como método de extracción debido a que tiene la capacidad de extraer una amplia gama de compuestos activos manteniendo su integridad química. Además, debido a su alta volatilidad es más sencillo la extracción mediante la evaporación obteniendo mayor rendimiento del extracto total.
- Se sugiere continuar con investigaciones enfocados en el aislamiento y caracterización de los compuestos activos presentes en las especies vegetales evaluados con la finalidad de valorar su efecto frente a *Staphylococcus xylosus*.
- Se considera oportuno ampliar los estudios de la actividad biológica de los extractos totales encontrados en esta investigación frente a diferentes cepas patógenas presentes en la mastitis bovina clínicas y subclínicas, con la finalidad de obtener mayor espectro de acción frente a microorganismos responsables de esta enfermedad.

CAPÍTULO VIII

7 REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

- Aćimović, M. (2025). *Datura stramonium: una hierba peligrosa y una droga de abuso alternativa: un panorama de los casos de intoxicación en el siglo XXI. Planta médica, 91(6), 353-370.* <https://doi.org/10.1055/a-2552-4434>
- Afroz, M., Akter, S., Ahmed, A., Rouf, R., Shilpi, J., Tiralongo, E., . . . Uddin, S. (2020). Etnobotánica y péptidos antimicrobianos de plantas de la familia Solanaceae: una actualización y perspectivas futuras. *Fronteras en farmacología, 11(565).* <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00565>
- Almeida, A., y Rojas, B. (2020). *Aislamiento e identificación de bacterias del género staphylococcus en muestras de ganado bovino y de humanos implicados en la manipulación de la carne de la Isla Santa Cruz-Galápagos.* Edu.ec: <https://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12249>
- Al-Snafi, A. (2017). Importancia médica de *Datura fastuosa* (sin: *Datura metel*) y *Datura stramonium*: una revisión. *Journal Of Pharmacy , 7(2), 43-58.* <https://doi.org/10.9790/3013-0702014358>
- Andresen, H. (2001). Mastitis: prevención y Control. *Revista de investigaciones veterinarias del Peru, 12(2), 55-64.* http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172001000200010
- Arage, M., Eguale, T., y Giday, M. (2022). Evaluación de la actividad antibacteriana y la toxicidad aguda de extractos metanólicos de *Artemisia absinthium* , *Datura stramonium* y *Solanum anguivi*. *Infection and drug resistance, 15, 1267-1276.* <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8959718/>
- Arends, R., Canino, M., Mendes, R., Scangarella, N., y Flamm, R. (2020). Comparación de los resultados de concentración inhibitoria mínima de gepotidacina obtenidos mediante métodos de dilución en agar y microdilución en caldo. *Diagnostic microbiology and infectious disease, 98(2), 107 - 115.* <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115107>
- Argote, F. (2017). Evaluacion de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 15(2), 52-60.* http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612017000400052&script=sci_abstract
- AxónVet. (2020). *El papel de las especies “no aureus” en el recuento de células somáticas y en casos de mastitis clínica.* Axón Comunicación: <https://axoncomunicacion.net/el-papel-de-las-especies-no-aureus-en-el-recuento-de-celulas-somaticas-y-en-casos-de-mastitis-clinica-2/>

- Bandoni, A., Retta, D., Di Leo, P., y Baren, C. (2009). ¿Son realmente útiles los aceites esenciales? *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(5), 317-322. <https://www.redalyc.org/pdf/856/85611977001.pdf>
- Bedolla, C. (2017). *Etiología de la mastitis bovina*. Sitio Argentino de Producción Animal : https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/128-Etiologia.pdf
- Bonetto, C. (2019). *Mastitis bovina causada por Staphylococcus coagulasa negativos*. Universidad Nacional de La Plata: <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/40427>
- Britanialab S.A. (2021). *Manitol Salado Agar*. Britanialab.com: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_607073c954fa9.pdf
- Caisapanta, B. (2019). *Comparación del efecto antioxidante del extracto total y la fracción alcaloidea de diferentes partes aéreas de Brugmansia suaveolens y Solanum interandinum*. Edu.ec: <https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/b7b95427-ad2e-437e-86a4-8683fb31fbf2>
- Calderón, A., y Rodríguez, V. (2008). Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Revista colombiana de ciencias pecuarias*, 21(4), 582-589. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.324330>
- Calvinho, L. (2015). *Tratamiento de mastitis clínica y manejos de antibioticos en el tambo*. Researchgate.net: https://www.researchgate.net/publication/268008270_TRATAMIENTO_DE_MASTITIS_CLINICAS_Y_MANEJO_DE_ANTIBIOTICOS_EN_EL_TAMBO
- Cano, W., y Saucedo, M. (2023). *Actividad antibacteriana de diferentes concentraciones del extracto metanólico de hojas de "pájaro bobo" Tessaria integrifolia y "chamico" Datura stramonium de interés acuícola*. Universidad Nacional del Santa: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/4243>
- Castañeda, H., Bucio, A., Catañeda, M., y Salas, E. (2024). *Nuevas perspectivas en la mastitis bovina*. Prometeo Editores. https://orion.tec.ac.cr/ws/portalfiles/portal/1910602/MASTITIS_BOVINA_ISBN_1_.pdf
- Chozo, I., y Cobeñas, J. (2022). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de Eucalyptus globulus L. "eucalipto" frente a Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae causantes de mastitis bovina*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/10788>
- Collaguazo, D., y Márquez, B. (2022). *Estudio farmacognóstico y fitoquímico de cuatro especies vegetales referidas para el tratamiento de mastitis en la práctica ancestral de la comunidad de paquiestancia, cantón Cayambe*. Edu.ec: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/22977>

- Colorado, J., Echeverri, J., Olivera, M., y López, A. (2018). Microorganismos aislados en cultivo bacteriológico de muestras de leche de vacas holstein clínicamente sanas. *Redalyc*, 13(1), 31-41. <https://www.redalyc.org/journal/3214/321457137004/html/>
- Córdoba, M., y Ambretti, S. (2020). Prueba de susceptibilidad a antibióticos de bacterias anaerobias mediante el método de microdilución en caldo utilizando las placas MICRONAUT-S Anaerobes MIC. *Anaerobe*, 63(10), 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102217>
- Corrales, L., y Lozano, L. (2020). Principios físicoquímicos de los colorantes utilizados en microbiología Principios físicoquímicos de los colorantes. *Nova*, 18(33), 73-100. <https://doi.org/10.22490/24629448.3701>
- Corzo, D. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(3), 81-86. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300009
- Cottrino, V. (2009). Estrategias de diagnóstico, control y prevención de mastitis. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 56(3), 327-331. <https://www.redalyc.org/pdf/4076/407639221014.pdf>
- Cruz, A., Estepa, C., Hernández, J., y Sanabria, J. (2007). Identificación de bacterias causantes de mastitis bovina y su resistencia ante algunos antibacterianos. *Revista Udca Actualidad & Divulgacion Cientifica*, 10(1), 81-91. <https://doi.org/10.31910/rudca.v10.n1.2007.569>
- Cuesta, J., y Mogrovejo, V. (2020). *Evaluación del método y solvente de extracción más eficientes para la obtención de metabolitos secundarios responsables de una actividad antioxidante y antibacteriana de 9 plantas medicinales en la ciudad de Cuenca-Ecuador*. Edu.ec: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/items/60c7e8ea-0987-46ee-a372-445e0f02b17b>
- Demontier, E., Ster, C., Chamberland, S., Ramanathan, S., Dufour, S., y Malouin, F. (2024). Revisión de alimentos lácteos con biopelícula: Efecto de la producción de biopelícula en la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de mastitis bovina por *Staphylococcus aureus* de los tipos de spa canadienses más prevalentes. *Journal of dairy science*, 0(0). <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25238>
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2014). *La mastitis bovina, enfermedad infecciosa de gran impacto en la producción lechera*. Gov.co: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/insumos_factores_de_produccion_ago_2014.pdf
- Duarte, A., Jiménez, J., Pineda, J., y García, M. (2019). Extracción de sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) por maceración dinámica. *Acta biológica colombiana*, 25(1), 61-74. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.72409>

- Echeverri, J., Jaramillo, M., y Restrepo, L. (2010). Evaluación comparativa de dos metodologías de diagnóstico de mastitis en un hato lechero del Departamento de Antioquia. *Dialnet*, 7(1), 49-57. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3336012>
- Fernández, A., García, C., Saéz, J., y Ramos, S. (2010). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Seimc.org: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Flores, M., González, R., Prieto, J., García, M., Ordaz, L., y Domínguez, P. (2019). Eficiencia del extracto vegetal de *Datura stramonium* L. como insecticida para el control de la mosca sierra. *Madera y bosques*, 25(1). <https://doi.org/10.21829/myb.2019.2511642>
- García, A. (2016). *Mastitis contagiosa vs. ambiental*. Sitio Argentino de Producción Animal: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/121-Mastitis_Contagiosa.pdf
- García, C. (2006). *Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de Staphylococcus aureus con resistencia múltiple*. Uaaan.mx:8080: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/45356>
- García, Z. (2018). *Genotoxicidad in vitro del zumo de las flores y extracto hidroalcohólico de hojas de Brugmansia arborea (L) Lager "floripondio" frente a ADN genómico humano*. Edu.pe: <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/cc9df5a3-6f78-49a1-8882-de488e5749db/content>
- Garrido, S. (2025). *Identificación molecular de bacterias*. Laboratorio IDgen: <https://ec.linkedin.com/company/laboratorio-idgen>
- Gasque, R. (2015). *Matitis Bovina*. Sitio Argentino de Producción Animal : https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/107-Mastitis_bovina.pdf
- Global Biodiversity Information Facility (GBIF). (2023). *Brugmansia arborea (L.) Steud.* gbif.org: <https://www.gbif.org/es/species/5341759>
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Otavalo (GAD Otavalo). (2025). *Datos Generales del Cantón*. Alcaldía Ciudadana de Otavalo: <https://www.otavalo.gob.ec/web/>
- González, Á. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas*. Edu.co: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/2800>
- González, C., Gutiérrez, M., Pulido, V., y Celis, X. (2020). Amarilidáceas: Fuente potencial de alcaloides. Actividades biológicas y farmacológicas. *Revista Ciencia y Agricultura*, 17(3), 78-94. <https://doi.org/10.19053/01228420.v17.n3.2020.11379>

- González, D., y García, M. (2012). *Catalase test*. Spanish Society of Microbiology: <https://www.semicrobiologia.org/imagen-banco/prueba-de-la-catalasa>
- González, J., y Palacios, J. (2017). Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 35(8), 529-535. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.04.008>
- Griffioen, K., Velthuis, A., Koop, G., y Lam, T. (2021). Efectos de una estrategia de tratamiento de la mastitis con o sin pruebas en la granja. *Journal of dairy science*, 104(4), 4665-4681. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17871>
- Herrera, V. (2018). *Control de mastitis: un aspecto clave en nuestra lechería*. Org.uy: https://planagropecuario.org.uy/publicaciones/Revista_on_line/Revista_168/files/assets/basic-html/page48.html
- Hjouji, K., El Barnossi, A., Er-rajy, S., Atemni, I., Grenha, A., Yagoub, M., . . . Rais, Z. (2025). Potencia inhibitoria de metabolitos activos de diferentes polaridades de extractos de semillas de *Datura Stramonium* : análisis GC-MS, evaluaciones biológicas y estudios de acoplamiento molecular. *Journal de mycologie medicale*, 35(1), 101521. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2024.101521>
- Huang, H., y Kusaba, N. (2022). Asociación entre el recuento diferencial de células somáticas y los resultados de la prueba de mastitis de California en ganado Holstein. *JDS communications*, 3(6), 441-445. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0249>
- Ibarguren, S., y Monteavaro, C. (2019). *Identificación de Staphylococcus spp. y evaluación de la producción de biofilm*. Edu.ar:8443: <https://ridaa.unicen.edu.ar:8443/server/api/core/bitstreams/ebc1606a-bd0f-4356-8210-ab1f03d283c3/content>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (2012). *Leche cruda. Requisitos*. Gob.ec: https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento_BL%20NTE%20INEN%209%20Leche%20cruda%20Requisitos.pdf?utm_source=chatgpt.com
- Iñiguez, F. (2020). *Mastitis manual de manejo y control*. Scribd: <https://es.scribd.com/document/443536407/Mastitis2-Manuel-de-control-pdf>
- Jiménez, S., Torres, L., Parra, J., Rodríguez, J., García, F., y Patiño, R. (2020). Perfil de resistencia antimicrobiana en aislamientos de *Staphylococcus spp.* obtenidos de leche bovina en Colombia. *Revista Argentina de microbiologia*, 52(2), 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.05.004>
- Khelaf, S., López, C., Hocine, Z., Hamiroune, M., Righi, S., Díez, P., . . . Rodríguez, G. (2018). Mastitis clínica bovina en el norte de Argelia: factores de riesgo y plan de control. *ResearchGate*, 30(8). https://www.researchgate.net/publication/327060655_Clinical_bovine_mastitis_in_north_ern_Algeria_Risk_factors_and_control_plan

- Kim, H., Nam, Y., Kang, T., BaeK, N., Lee, M., y Lee, D. (2023). Glicósidos de fenilalquilo de las flores de *Brugmansia arborea* L. y su efecto eliminador de radicales y efecto protector sobre los islotes pancreáticos dañados por aloxano en larvas de pez cebra (*Danio rerio*). *MDPI*, *12*(24), 4075. <https://doi.org/10.3390/plants12244075>
- León, S., Valencia, R., Pitman, N., Endara, L., Ulloa, C., y Navarrete, H. (2011). *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador*. Ddrn.dk: https://ddrn.dk/wp-content/uploads/2018/01/LIBRO_ROJO_de_las_plantas_endemicas_del-1.pdf
- Lumivero. (2025). *XLSTAT statistical and data analysis solution*. New York, USA. <https://www.xlstat.com/es>
- Monagas, M., Brendler, T., Brinckmann, J., Dentali, S., Gafner, S., Giancaspro, G., . . . Marles, R. (2022). Comprender las proporciones de planta a extracto en extractos botánicos. *Frontiers in pharmacology*, *13*, 981978. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.981978>
- Mukherjee, O. (2013). *Datura stramonium*: Una visión general de su fitoquímica y farmacognosia. *Revista de investigación de Farmacognosia y Fitoquímica*, *5*(3), 143-148. https://www.researchgate.net/publication/249650218_Datura_stramonium_An_overview_of_its_phytochemistry_and_pharmacognosy
- Muñoz, M. (2014). *Manual de salud mamaria y bienestar animal*. Consorcio lechero la calidad láctea de Chile. <https://consorciolechero.cl/wp-content/uploads/2021/04/1-Salud-Mamaria-Consorcio-Lechero.pdf>
- Muñoz, S., Hernandez, A., Ballesteros, A., Diaz, C., y Hernandez, V. (2012). Aislamiento bacteriano en bovinos de doble propósito con mastitis subclínica, en la costa de Guerrero, México. *REDVET*, *13*(7), 1-11. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63624404007.pdf>
- Murray, C., Shunji, K., y Swetschinski, L. (2022). Carga mundial de resistencia bacteriana a los antimicrobianos en 2019: un análisis sistemático. *Lancet*, *399*(10325), 629-655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Navarro, C. (2019). *Mastitis bovina causada por ECN*. Portalveterinaria.com: <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/6414/mastitis-bovina-causada-por-ecn.html>
- Norberg, E., Hogeveen, H., Korsgaard, I., Friggens, C., y Perezoso, K. (2004). Conductividad eléctrica de la leche: capacidad para predecir el estado de mastitis. *Journal of dairy science*, *87*(4), 1099-1107. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73256-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73256-7)
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020). *Resistencia a los antibióticos*. Who.int: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- Ormaza, D., y Rueda, R. (2021). *Identificación del agente etiológico y evaluación de nosodes en el tratamiento de mastitis bovina en el Cantón Montúfar*. Edu.ec: <https://repositorio.upec.edu.ec/items/8838ed62-cff0-4390-b151-f802a6ddbfc5>

- Otero, L., Landin, M., y Diaz, P. (2024). Combatir la resistencia a los antibióticos en el manejo local de la mastitis bovina. *Biomedecine & pharmacotherapie*, 170(115967), 115967. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115967>
- Palavecino, E. (2002). Métodos recomendados para el estudio de susceptibilidad en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Staphylococcus saprophyticus*: Nuevos puntos de corte e interpretación de resultados. *Revista chilena de infectología*, 19(2), 119-124. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182002019200011>
- Pérez, M., Juárez, M., Sánchez, M., Moreno, L., y Jiménez, M. (2025). Efecto antiinflamatorio, antioxidante y toxicidad aguda de extractos de *Brugmansia arborea* de plantas silvestres y brotes obtenidos por organogénesis indirecta. Un ensayo termográfico para la evaluación antiinflamatoria. *Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & pharmacotherapy]*, 186(117972), 117972. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.117972>
- Proyecto Solanum del Inventario de Biodiversidad Plantaria (PBI). (2025). *Diversity of Solanaceae*. Myspecies.info: <https://solanaceaesource.myspecies.info/content/diversity-solanaceae>
- Pyörälä, S. (2011). *El tratamiento de la mastitis durante la lactancia*. Sitio Argentino de Producción Animal: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/59-Mastitis_lactancia.pdf
- Qiang, W., Xia, K., Zhang, Q., Zeng, J., Huang, Y., Yang, C., . . . Liao, Z. (2016). Caracterización funcional de un gen de reductasa formadora de tropina de *Brugmansia arborea*, una especie de planta leñosa productora de alcaloides de tropano. *Phytochemistry*, 127, 12-22. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.03.008>
- Quave, C., Plano, L., Pantuso, T., y Bennett, B. (2008). Efectos de extractos de plantas medicinales italianas sobre el crecimiento planctónico, la formación de biopelículas y la adherencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *Journal of ethnopharmacology*, 118(3), 418-428. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2553885/>
- Recalde, E., y Arciniegas, S. (2023). *Anuario Agroclimático*. Edu.ec: <https://www.pucesi.edu.ec/webs2/libros-docentes/2024/libro-anuario-agroclimatico.pdf>
- Regassa, H., Sharma, R., Upadhyay, N., y Kumar, D. (2024). Evaluación de la influencia del método de extracción en el perfil fitoquímico, la actividad biológica in vitro y la validación in silico de *Brugmansia suaveolens*. *Journal of the Indian Chemical Society*, 101(11), 101454. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2024.101454>
- Requejo, M., y Callao, J. (2021). *Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de datura stramonium (chamico) y allium sativum (ajo) sobre staphylococcus aureus*. Edu.pe: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/404>

- Rivas, C., Oranday, M., y Verde, M. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. OmniaScience: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.313>
- Rodrigues, G., Botelho, M., Cardoso, G., y Silva, M. (2023). Actividad antibacteriana de una solución acuosa cruda de flores de *Brugmansia suaveolens*. *Research, Society and Development*, 12(2), e7112238140. <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/38140>
- Romero, E., Cuevas, E., León, E., Puente, A., y Gallegos, P. (2023). Caracterización por espectroscopía ftir del extracto etanólico de *brugmansia arborea*. *Biotecnol. Sustentabilidad*, 8(1), 52-59. <https://doi.org/10.57737/biotecnologiaysust.v8i1.2289>
- Rubio, M. (2016). *Perspectivas terapéuticas de Datura stramonium L.* Ucm.es: <https://docta.ucm.es/entities/publication/936203f0-8061-469c-ad61-36795bd67083>
- Sánchez, Pilar, Muñoz, R., y Gutiérrez, N. (2012). Resistencia bacteriana a los antibióticos : mecanismos de transferencia. *Spei Domus*, 8(17). <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/94>
- Sayed, A. (2013). Fitoquímica, farmacología y usos tradicionales de *Datura stramonium L.* *Revista de farmacognosia y fitoquímica*, 2(5), 123-125 . https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/274063446_Phytochemistry_pharmacological_and_traditional_uses_of_Datura_stramonium_L
- Scaramelli, A., y Gonzále, Z. (2005). *Prevención y control de la mastitis bovina* . Ula.ve: http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo10-s5.pdf
- Schnur, S., Amachawadi, R., Baca, G., Bowser, S., Rhodes, D., Smolensky, D., . . . Nagaraja, T. (2021). Actividad antimicrobiana del extracto fenólico de sorgo sobre patógenos transmitidos por alimentos y causantes de mastitis bovina. *MDPI*, 10(5), 594. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050594>
- Sierra, J., Gómez, L., Muñoz, A., Ramírez, F., Patiño, I., Zapata, S., . . . Bermúdez, V. (2020). Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Persea americana* (Aguacate) variedad Choquette sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Kasmera*, 48(2), e48230835-e48230835. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.4064181>
- Sindhu, S., Saini, T., Rawat, H., Chahar, M., Grover, A., Ahmad, S., y Mohan, H. (2024). Más allá de los antibióticos convencionales: perspectivas globales sobre terapias alternativas, incluyendo la prevención a base de hierbas y estrategias de manejo proactivo en la mastitis bovina. *Microbial pathogenesis*, 196(106989), 106989. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106989>
- Solis, E. (2023). *Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria de las flores de Spartium junceum*. Edu.ec: <https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/d810f340-b372-4d76-8887-eb9e8dc2d846/content>

- Somaticell. (2021). *Mastitis bovina causada por estafilococos no aureus (NSA)*. Com.br: <https://es.somaticell.com.br/mastite-bovina-causada-por-estafilococos-nao-aureus-ena>
- Sosa, L., Espinoza, L., Fuentes, J., Enríquez, M., y Rojas, N. (2022). Caracterización fenotípica y molecular de aislamientos clínicos de staphylococcus aureus resistentes a meticilina obtenidos de dos centros hospitalarios de Tegucigalpa, Honduras Caracterización fenotípica y molecular de aislados clínicos de Staphylococcus. *Revista Bionatura*, 7(3), 55. <https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.03.55>
- Soto, M. (2014). Actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de dos especies de la familia Solanaceae. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 361-373. <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v19n4/pla08414.pdf>
- Taborda, B., Telles, I., Pareja, L., Niell, S., Jesús, F., y López, A. (2018). Comparación de diferentes métodos de extracción para la determinación del perfil lipídico en semillas de quinoa. *Innotec*(17), 77-78. <https://doi.org/10.26461/17.08>
- The World's Largest Gut Microbe Bank. (2017). *Staphylococcus xylosus GMB1460*. GMBANK: <https://www.gmbank.org/product-page/gmb1460>
- Tituaña, G., Córdova, I., Tobar, M., y Lascano, A. (2018). *Estudio del proceso de obtención de extractos de plantas medicinales*. Eumed.net: <https://www.eumed.net/rev/caribe/2018/05/extractos-plantas-medicinales.html>
- Torres, J., León, J., y Tomas, G. (2017). Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray arrayán frente a patógenos de origen clínico. *Boletín Sociedad Venezolana de Microbiología*, 37(1), 10-16. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562017000100004
- Troiani, H., Prina, A., Muiño, W., Tamame, M., y Beinticino, L. (2017). *Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía*. EdUNLPam. <https://repo.unlpam.edu.ar/bitstream/handle/unlpam/110/lb-trobot017.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Urien, A. (2013). *Obtención de biocarbones y biocombustibles mediante pirólisis de biomasa residual*. Csic.es: https://digital.csic.es/bitstream/10261/80225/1/BIOCARBONES_CENIM_CSIC.pdf
- Valdez, L., Gutiérrez, Y., García, V., y Nieto, O. (2022). Caracterización del proceso extractivo por maceración mediante un diseño factorial fraccionado en *Nephelium lappaceum* L. *Revista cubana de farmacia*, 3, 55. <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/738>
- Velásquez, S., Torres, L., Parra, J., Rodríguez, J., Garcia, F., y Patiño, R. (2020). Perfil de resistencia antimicrobiana en aislamientos de Staphylococcus spp. obtenidos de leche bovina en Colombia. *Revista Argentina de microbiología*, 52(2), 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.05.004>

- Vidal, V., Salinas, J., y Ortega, N. (2024). Aislamiento e identificación de *Staphylococcus* spp. en muestras clínicas de caninos y felinos: estudio de sensibilidad/resistencia a antibióticos. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 39(2025), 1-15.
<https://doi.org/10.6018/analesvet.636411>
- Zendejas, G., Flores, H., y Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed*, 24, 129-143.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>

ANEXOS

Anexo 1 Fase de Campo

Fotografías 1: Recolección de muestras vegetales *Brugmansia arborea* y *Datura stramonium*



Fotografías 2: Muestras vegetales desinfectadas



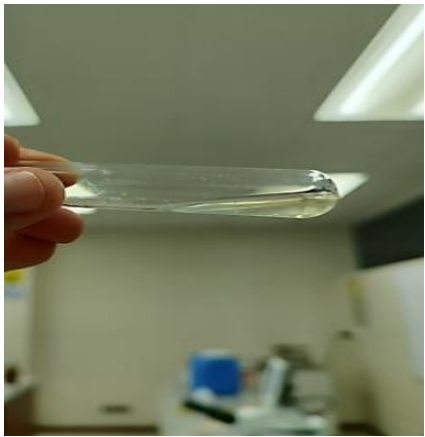
Fotografías 3: Materiales y prueba de California Mastitis Test (CMT)**Anexo 2** Fase de laboratorio**Fotografías 4:** Obtención de extracto total de las especies vegetales, deshidratación, trituración, maceración, filtración, extracción del metanol, extracto concentrado obtenido



Fotografías 5: Diluciones Seriadas



Fotografías 6: Pruebas preliminares bacteriana: Tinción Gram, prueba de catalasa, prueba de coagulasa



Fotografías 7: Lectura de microplacas mediante espectrofotometría



Fotografías 8: Datos obtenidos de cada tratamiento y repetición de las especies vegetales

Concentraciones	Tratamientos	Repetición	% crecimiento bacteriana (Brugmansia arborea)	% inhibición bacteriana (Brugmansia arborea)	% crecimiento bacteriana (Datura stramonium)	% inhibición bacteriana (Datura stramonium)	
500mg/ml		1	1	24.54	75.46	25.85	74.15
		1	2	22.86	77.14	23.36	76.64
		1	3	24.32	75.68	23.98	76.02
250mg/ml		2	1	30.34	69.66	31.68	68.32
		2	2	37.04	62.96	38.96	61.05
		2	3	32.09	67.91	33.18	66.82
125mg/ml		3	1	42.25	57.75	43.62	56.38
		3	2	39.26	60.74	47.37	52.63
		3	3	39.04	60.96	40.72	59.28
62.5mg/ml		4	1	51.11	48.89	54.04	45.96
		4	2	51.67	48.33	59.65	40.35
		4	3	43.69	56.31	47.93	52.07
31.25mg/ml		5	1	70.31	29.69	70.75	29.25
		5	2	66.88	33.12	69.01	30.99
		5	3	66.26	33.74	66.79	33.21
Antibiótico		6	1	13.66	86.34	13.66	86.34
		6	2	12.21	87.79	12.21	87.79
		6	3	13.64	86.36	13.64	86.36

Anexo 3 Identificación molecular de bacteria



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

Informe de Resultados

Nombre del Proyecto: Identificación molecular de bacterias – Alex Echeverría
Informe No.: A-712
Técnico Responsable: Sofia Garrido, Ing.
Fecha: 28/03/2025

Resumen de Resultados

Código IDgen	Muestra	Longitud	Calidad	Organismo	Fragmento	% de identidad	Nº Accesoión
B802	Tubo ensayo C.C 2 (5)	1371	98.2	<i>Staphylococcus xylosus</i>	16S	100	NR_036907.1

Firma autorizada
Francisco Javier Flores Flor, PhD.
Propietario IDgen