



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS**  
**NATURALES Y DEL AMBIENTE**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TEMA:**

**“Determinación de la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina”**

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

**AUTOR:**

ANGEL JAIRO HERNÁNDEZ RAMÍREZ

**DIRECTOR:**

DR. EDISON RIVELIÑO RAMÓN CURAY M.Sc.

**Guaranda – Ecuador**

**2023**

**Determinación de la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina"**

REVISADO Y APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL.



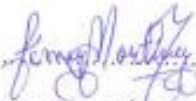
Dr. EDISON RIVELINO RAMÓN, M.Sc.

**DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.**



Ing. FAVIÁN BAYAS MOREJÓN Ph.D.

**ÁREA DE BIOMETRÍA.**



Dra. JENNY MARTÍNEZ MOREIRA MSC  
**ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA**



### CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA.

Yo, Ángel Jairo Hernández Ramírez con CI. 0604226779 autor, declaro que el trabajo aquí escrito es de mi autoría, este documento no ha sido previamente presentado por ningún grado o calificación profesional; que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas con sus respectivos autores.

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedades Intelectual, por su Reglamento y Normativa Institucional Vigente.

ÁNGEL JAIRO HERNÁNDEZ RAMÍREZ

C.I.0604226779

**AUTOR.**

Dr. EDISON RIVELINO RAMÓN C. M.Sc.  
**DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.**

Ing. FAVIANA BAYAS MOREJÓN PhD.

**ÁREA DE BIOMETRÍA.**

Dra. JENNY MARTÍNEZ MOREIRA MSC

**ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA**

*Notaria Tercera del Cantón Guaranda*  
*Msc. Ab. Henry Rojas Narvaez*  
*Notario*



...rio  
N° ESCRITURA 20230201003P00039  
DECLARACION JURAMENTADA  
OTORGADA POR:  
HERNANDEZ RAMIREZ ANGEL JAIRO

INDETERMINADA DI: 2 COPIAS

H.R. Factura: 001-006-000002796

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día seis de enero del dos mil veintitrés, ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda, comparece el señor HERNANDEZ RAMIREZ ANGEL JAIRO, soltero, por sus propios derechos de ocupación estudiante, domiciliado en la ciudad de Riobamba y de paso por este cantón de Guaranda, provincia Bolívar, con celular número (0997425397), obligarse a quien de conocerle doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana; bien instruidos por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que procede libre y voluntariamente, advertidos de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presenta su declaración Bajo Juramento declaro lo siguientes, manifiesto que el criterio e ideas emitidas en el presente trabajo de investigación titulado "Determinación de la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina" es de mi exclusiva responsabilidad en calidad de autor, previo a la obtención de título de Médico Veterinario Zootecnista, en la Universidad Estatal de Bolívar. Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad, la misma que la hacemos para los fines legales pertinentes. HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA. La misma que elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que le fue al compareciente por mí el Notario en unidad de acto, aquella se ratifica queda incorporada al protocolo de esta notaria y firma conmigo de todo lo cual doy Fe.

*Jairo Hernandez*

HERNANDEZ RAMIREZ ANGEL JAIRO

C.C. 0604226779

*Henry Rojas Narvaez*  
AB. HENRY ROJAS NARVAEZ

NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA



EL NOTA...

Documento: [TITULO ACTIVO ANUNCIO DEPENDENCIA](#)

Presentado por: [2023-07-05 15:44:17 \(S\)](#)

Presentado por: [alvaromarcos@urkund.es](#)

Metadatos: [ver metadatos de este documento](#)

Metadatos: [ver metadatos de este documento](#)

En el caso de no poder ver el contenido de este documento, consulte el [manual de uso](#)

Lista de fuentes: [Bibliografía](#)

[Bibliografía](#)

- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)
- [INDICADOR DE ACTIVIDAD DE INVESTIGACION](#)

[Ver detalles](#) [Ver detalles](#) [Ver detalles](#)

TÍTULO

Determinación de la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

Proyecto de investigación sobre la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

AUTORES

ANITA LARRO HERNANDEZ GALARRAGA

DIRECTOR: DR. EDISON ENRIQUE BARRON CUBERO I.S.

Zaragoza - España 2023

Determinación de la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

Proyecto de investigación sobre la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

AUTORES

ANITA LARRO HERNANDEZ GALARRAGA

DIRECTOR: DR. EDISON ENRIQUE BARRON CUBERO I.S.

Zaragoza - España 2023

Determinación de la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

Proyecto de investigación sobre la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

AUTORES

ANITA LARRO HERNANDEZ GALARRAGA

DIRECTOR: DR. EDISON ENRIQUE BARRON CUBERO I.S.

Zaragoza - España 2023

Determinación de la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

Proyecto de investigación sobre la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

AUTORES

ANITA LARRO HERNANDEZ GALARRAGA

DIRECTOR: DR. EDISON ENRIQUE BARRON CUBERO I.S.

Zaragoza - España 2023

Determinación de la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

Proyecto de investigación sobre la actividad académica de los docentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Zaragoza.

TÍTULO DE LA ACTIVIDAD ANUNCIADA EN EL ACTIVO

## **DEDICATORIA**

La presente tesis está dedicada a Dios, por darme salud y sabiduría permitiendo así culminar esta etapa importante en mi vida.

A mis padres Ángel Hernández y Blanca Ramírez, quienes por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, han sido la guía y el camino para llegar a este punto de mi carrera profesional.

A mi hermano Darío y a mi hermana Camila, quienes con su cariño y su apoyo incondicional han estado conmigo y me acompañaron a cumplir mis sueños y metas.

También a mi tía Eulalia Ramírez, por brindarme las mejores lecciones de vida, también por sus oraciones y bendiciones de cada día me hicieron mejor persona.

A mi familia por el apoyo brindado durante toda mi vida.

## **AGRADECIMIENTO**

Le agradezco a Dios, por derramar siempre su bendición sobre mí, por ser quien ha guiado mis pasos hasta conseguir tan anhelado logro.

A mis padres Ángel y Blanca por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar en mí y darme los recursos que necesité para seguir estudiando, quienes me han guiado y acompañado a lo largo de toda mi vida.

Agradezco la orientación brindada a los miembros de mi tribunal de la unidad de titulación al Dr. Rivelino Ramón; director. al Dr. Fabián Bayas; en el área de biometría. A la Dra. Jenny Martínez en el área de redacción técnica. Por brindarme sus conocimientos, tiempo, espacio y sobre todo paciencia y valiosas recomendaciones para la realización de este proyecto de investigación.

Agradezco la colaboración técnica al personal que forma parte del laboratorio de la Universidad Estatal de Bolívar de Lagucoto I.

Finalmente quiero expresar a mis amigos y docentes con quienes compartí jornadas largas de aprendizaje y amistades sinceras en la Universidad Estatal De Bolívar; gracias por hacer agradable esta etapa de mi vida.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	PAG
<b>I. INTRODUCCIÓN. ....</b>	<b>1</b>
<b>II. PROBLEMA.....</b>	<b>3</b>
<b>III. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
3.1. Sistema mamario.....	4
3.2. Anatomía y fisiología de la glándula mamaria.....	5
3.2.4. Sistema sanguíneo, linfático y nervioso.....	6
3.2.5. Mecanismos de defensa de la glándula mamaria .....	7
3.3. La Mastitis.....	10
3.3.1. Aspectos básicos .....	10
3.3.2. Categorización de la Mastitis .....	12
3.3.3. Etiología de la mastitis .....	14
3.4. Generalidades fenotípicas de <i>Escherichia coli</i> .....	17
3.4.1. Morfología microscópica .....	18
3.4.2. Morfología macroscópica.....	18
3.5. Técnicas diagnósticas de la mastitis.....	18
3.5.1. California Mastitis Test (CMT).....	19
3.5.2. Cultivo e identificación de bacterias. ....	19
3.5.3. Ensayos de susceptibilidad.....	22
3.5.4. Prueba de CMI .....	22
3.5.5. Tratamiento .....	22
3.5.6. Aceites esenciales.....	23
3.5.7. Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ).....	25



<b>IV. MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>36</b>
4.1. Materiales .....	36
4.1.1. Lugar de investigación .....	36
4.1.2. Situación Geográfica del lugar de investigación .....	36
4.1.3. Zona de vida .....	37
4.1.4. Material Experimental .....	37
4.2. Métodos .....	39
4.2.1. Factores en estudio .....	39
4.2.2. Tratamientos .....	40
4.2.3. Especificaciones del experimento .....	40
4.2.4. Tipo de diseño .....	40
4.2.5. Métodos de evaluación y datos a tomarse .....	41
4.2.6. Procedimiento.....	43
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>50</b>
5.1. Rendimiento del aceite esencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ). .....	50
5.2. Prevalencia de casos de mastitis.....	51
5.3. Resultados de la identificación.....	52
5.3.1. Prevalencia de la identificación de los patógenos aislados. ....	53
5.4. Actividad antimicrobiana de los tratamientos propuestos.....	54
5.4.1. Análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de la enrofloxacin frente a <i>Escherichia coli</i> aislada de mastitis bovina.....	56
5.5. Análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial del orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) frente a <i>Escherichia coli</i> aislada de mastitis bovina. ....	58
5.5.1. Análisis de la escala de sensibilidad de las concentraciones usadas en la CMI del aceite esencial de orégano frente a <i>Escherichia coli</i> . ....	60

5.6.	Resultados de compuestos volátiles por cromatografía de gases del aceite esencial del orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ).....	62
<b>VI.</b>	<b>COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS.....</b>	<b>64</b>
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>65</b>
7.1.	Conclusiones. ....	65
7.2.	Recomendaciones.....	66
	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>67</b>

## ÍNDICE DE TABLA

Nº	DESCRIPCIÓN	PAG.
1.	Taxonomía del <i>Escherichia coli</i> .....	15
2.	Interpretación de CMT (California Mastitis Test). .....	19
3.	Perfiles IMVIC para <i>Escherichia coli</i> . .....	21
4.	Taxonomía del Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ).....	25
5.	Especificaciones del lugar de la investigación.....	36
6.	Situación Geográfica del lugar de investigación.....	36
7.	Factores considerados para la investigación. ....	39
8.	Distribución de factores en estudio y su interacción (tratamientos). ....	40
9.	las características del experimento:.....	40
10.	Análisis de Varianza (ADEVA) .....	41
11.	Escala general de sensibilidad de un Fitofármaco .....	49
12.	Resultados de la extracción del aceite esencial de orégano. ....	50
13.	Resultados del rendimiento del aceite esencial. ....	50
14.	Prevalencia de la mastitis bovina. ....	51
15.	Resultado de los perfiles IMViC.....	52
16.	Prevalencia de patógenos aislados. ....	53
17.	Análisis de varianza (DBCA) de la actividad antimicrobiana de los tratamientos propuestos. ....	54
18.	Prueba de Tukey 5% de los tratamientos planteados.....	54
19.	Susceptibilidad antimicrobiana de la Enrofloxacin frente a <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis bovina. ....	56
20.	Análisis de varianza (DBCA) de la CMI del aceite esencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) frente a <i>Escherichia coli</i> causante de mastitis bovina. ....	58
21.	Análisis de Tukey 5% para la CMI.....	58

22. Análisis de la escala de sensibilidad de la CMI. ....	60
23. Frecuencia y porcentaje de la escala de sensibilidad según Duraffoud. ....	61
24. Compuestos volátiles del aceite esencial de orégano por arrastre de vapor. ..	62
25. Prueba de t para comprobación de hipótesis. ....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>N°</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PAG.</b>
1.	Imagen del Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ).....	26
2.	Destilación por arrastre de vapor. ....	34
3.	Porcentaje de casos de mastitis bovina. ....	51
4.	Porcentaje de patógenos aislados. ....	53
5.	Diagrama de caja y bigotes del diámetro del halo de inhibición de los tratamientos propuestos.....	55
6.	Actividad antimicrobiana por el método difusión de disco de los tratamientos planteados.....	56
7.	Susceptibilidad antimicrobiana de Enrofloxacin frente a <i>E. coli</i> causante de mastitis bovina.....	57
8.	Halos de inhibición de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano. ....	59
9.	Escala de sensibilidad de la concentración mínima inhibitoria (CMI). ....	61
10.	Cromatograma del aceite esencial de orégano .....	62
11.	Compuestos mayoritarios del aceite esencial de orégano. ....	63

## ÍNDICE DE ANEXOS

N°	DESCRIPCIÓN
1.	Lugar de la experimentación .....
2.	Base de datos.....
3.	Resultados de la Cromatografía de gases para la obtención de los compuestos volátiles. ....
4.	Fotografías de la investigación. ....
5.	Glosario de términos .....

## RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo; determinar la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del Orégano frente a cepas de *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina, en el laboratorio general de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Estatal de Bolívar, mediante el análisis de muestras procedentes de la finca la Felicidad ubicada en la parroquia Ulpan, perteneciente a la provincia de Chimborazo, metodológicamente para el desarrollo de la presente investigación se inicio con la extracción del aceite esencial de orégano mediante destilación por arrastre de vapor, evaluando su rendimiento y características químicas mediante la cuantificación de los compuesto volátiles por cromatografía de gases con espectro de masa (GC-MS), además, la determinación de su actividad antimicrobiana a las concentraciones de 20%, 40%, 60% y Enrofloxacin 5µg como testigo positivo frente a 20 cepas de *Escherichia coli*, identificando la concentración mínima requerida para inhibición de su crecimiento con hallazgos de halos de inhibición con medias mayores a 8 mm. Como parte de los resultados encontrados se observo que el rendimiento del aceite fue de 0.84%, destacando que dentro de la composición se identificó al ácido fórmico y p-Cymene en un 66.63% y 11.54% respectivamente, observando que los tratamientos expresaron un efecto altamente significativo  $p < 0.05$ , donde el T3 (60%) expresó el mayor promedio en el diámetro del halo de inhibición con 62.40 mm, estableciendo que la concentración mínima inhibitoria fue de 3% ya que esta ostentó un promedio de 9 mm de halo de inhibición, concluyendo en base a estos antecedentes que el aceite esencial de orégano posee efectividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* causante de mastitis bovina en ensayos in-vitro mediante la técnica de Kirby-Bauer.

**Palabras claves:** Mastitis, *Escherichia coli*, Orégano, Cromatografía, CMI.

## SUMMARY

The present investigation has as objective; To determine the antimicrobial effectiveness of the essential oil of oregano against strains of *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis, in the general laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the State University of Bolivar, through the analysis of samples from the farm “La Felicidad” located in the Upan parish, belonging to the province of Chimborazo, methodologically for the development of this research began with the extraction of the essential oil of oregano by steam distillation, The yield and chemical characteristics were evaluated through the quantification of volatile compounds by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS), in addition, the determination of its antimicrobial activity at concentrations of 20%, 40%, 60% and Enrofloxacin 5µg as a positive control against 20 strains of *Escherichia coli*, identifying the minimum concentration required to inhibit their growth with findings of inhibition halos with averages greater than 8 mm. As part of the results found, it was observed that the oil yield was 0.84%, highlighting that within the composition formic acid and p-Cymene were identified in 66.63% and 11.54% respectively, observing that the treatments expressed a highly significant effect  $p < 0.05$ , where T3 (60%) expressed the highest average in the diameter of the inhibition halo with 62.40 mm, establishing that the minimum inhibitory concentration was 3% since it showed an average of 9 mm of inhibition halo, concluding based on this background that oregano essential oil has antimicrobial effectiveness against strains of *Escherichia coli* causing bovine mastitis in in-vitro assays using the Kirby-Bauer technique.

**Key words:** Mastitis, *Escherichia coli*, Oregano, Chromatography, MIC.



## CAPÍTULO I

### I. INTRODUCCIÓN.

La mastitis es una enfermedad importante de la industria láctea, consiste en el daño celular e inflamación de los tejidos de la glándula mamaria de las vacas lecheras, esta enfermedad causa daños permanentes e irreversibles a las estructuras glandulares encargadas de la producción de leche, debemos saber que la inflamación puede ser un indicativo de la presencia de una infección microbiana intramamaria ya que en la mayoría de los casos es causada por agentes patógenos, pudiendo ser estos de carácter bacteriano, fúngico, viral y vegetal, la mastitis es el resultado de la interacción entre varios factores intrínsecos a la vaca como el manejo y el medio ambiente que determinan la posibilidad de exposición e instauración de un cuadro mastítico, propiciando que disminuya la eficiencia en los mecanismos de inmunidad físicos, celulares y humorales de la glándula mamaria de la vaca ocasionando la presentación de la enfermedad debido en un inicio al paso de los microorganismos a través del canal del pezón (Calvinho, 2017).

La etiología de esta enfermedad puede ser de origen multifactorial siendo, tóxico, traumático, alérgico, metabólico o infeccioso. Protagonizando las de origen infeccioso como las principales causas, la mayoría de los microorganismos pueden causar infección en el ambiente intramamario ya que la leche tiene el potencial de actuar como medio de crecimiento microbiano de una gran variedad de patógenos, debido a la diversidad de agentes que causan la mastitis, es importante identificar el agente etiológico de esta enfermedad y determinar su susceptibilidad a los agentes farmacológicos que inhiban su crecimiento (Barreto *et al.*, 2018).

De los estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos del orégano, se ha encontrado que los aceite esenciales de las especies de *Origanum* presentan actividad contra bacterias y hongos, dicha acción antimicrobiana posiblemente se debe al efecto sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, siendo así que el aceite esencial de orégano es muy valioso en la inhibición de *E. coli*, provocando que estas investigaciones tengan importantes implicaciones para la industria pecuaria y alimentaria (Rivera *et al.*, 2018).

De manera objetiva para esta investigación se desarrollaron los siguiente objetivos; Determinar la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina, adicionalmente se logró; Obtener el aceite esencial de orégano mediante la técnica de arrastre por vapor. Aislar y caracterizar bioquímicamente de *Escherichia coli* a partir de mastitis bovina. Establecer la sensibilidad y resistencia de *Escherichia coli*, frente el aceite esencial del Orégano. Identificar la concentración mínima inhibitoria que se requiere del aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare*) para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* aislada.

## CAPÍTULO II

### II. PROBLEMA

La mastitis bovina ocasiona grandes pérdidas anuales de aproximadamente 35 mil millones de dólares, debido a la reducción en la calidad y cantidad en producción de la leche, aumentando el uso excesivo de fármacos y el riesgo de muerte del animal (Sathiyabarathi *et al.*, 2016). Siendo una de las principales patologías con mayor refractancia productiva y económicas en las lecherías en todo el mundo.

La antibioticoterapia es la alternativa terapéutica más comúnmente utilizado para tratar la mastitis bovina, estudios recientes sugieren la existencia de la relación entre el uso de agentes antimicrobianos en el ganado lechero y la aparición de patógenos multirresistente en humanos, ocasionando una disminución en las tasas de curación de infecciones (Angelopoulou, *et al.*, 2019).

El uso indiscriminado de antibióticos en los sistemas de producción láctea para el tratamiento de esta enfermedad ocasiona la generación de resistencia a los antimicrobianos de uso común y el aumento de cuadros de mastitis, sumado a esto es considerable asumir que se ha sobrepasado las posibilidades de desarrollo de nuevas formulaciones de agentes farmacológicos, poniendo en desventaja el control medicamentoso de dicha patología. No obstante, el auge del uso de agentes vegetales, en especial los aceites esenciales de plantas medicinales ofrecen una alternativa capaz de contrarrestar esta disyuntiva (Suarez *et al.*, 2019).

Altos niveles de resistencia múltiple representan un riesgo potencial para la salud humana y pueden dificultar el tratamiento de enfermedades en animales y humanos, todo esto se a propiciado por un mal diagnóstico así como la aplicación de una terapéutica inadecuada, estos antecedentes han desencadenado el uso indiscriminado de antibióticos, lo que con el paso del tiempo ha generado el desarrollo de resistencias (Lehew & Dechow, 2021). La creciente preocupación por la resistencia a los antimicrobianos entre las cepas bacterianas representa un gran desafío para la investigación, encontrar estrategias alternativas seguras e innovadoras, como el uso de fitoquímicos y aceites esenciales (Filippo *et al.*, 2021).

## CAPÍTULO III

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Sistema mamario.

Los mamíferos se diferencian de los demás animales por que han adquirido características propias que los distinguen, son considerados como los únicos en que las madres generan y acumulan el elemento nutricional principal para sus crías a través de la sistema mamario, de manera instintiva la madre produce la cantidad de leche suficiente destinada para la alimentación de la cría hasta la independización nutricional en la edad adecuada, ya que la leche es el principal elemento o componente nutricional para los terneros recién nacidos, hasta que ocurran eventos anatómicos y fisiológicos que les confieran la capacidad de digerir alimentos más diversificados y fibrosos (Lima *et al.*, 2017).

la presencia de glándulas mamarias y ubres es la característica de diferenciación genética que distingue a la especie de los mamíferos, siendo el sistema mamario y sus componentes los que deben su origen histológico de una glándula sebácea excretora modificada, primordialmente inicia su diferenciación celular e histológica desde el ectodermo embrionario, la mamogénesis sucede por acción endocrina y en varios periodos de desarrollo individual como en los recién nacidos cuya diferenciación es debido a las hormonas maternas, en la fase puberal se observa la acción de hormonas ováricas las cuales también intervienen en el ciclo reproductivo y gravídico (Calvinho, 2017).

En los bovinos existen paquetes glandulares proporcionados homolateralmente desde la parte caudal de las fosas iliacas hasta la región inguinal, las cuales se encuentran separadas por una porción de tejido conectivo que aparte es considerado como una estructura de soporte. Cada matriz galactopoyética estructuralmente consta de un cuerpo y dos apéndices, así como de dos compartimentos de almacenamiento, los que van a desempeñar las funciones de conducir la leche a partir desde las células epiteliales secretoras hasta sus respectivas cisternas y consecuentemente al exterior en el momento del ordeño o el amamantamiento (Leon, 2021).

## **3.2. Anatomía y fisiología de la glándula mamaria.**

### **3.2.1. Suspensión de la ubre.**

Esta función esta determinada por la fisiología de los ligamentos que le confieren a la glándula mamaria la ubicación en relación al cuerpo y protección adecuada, precedido por el ligamento mamario suspensorio medial el cual con sus dos proyecciones sirve como amortiguador de la parte media de la glándula mamaria cuando ocurren cambios en el peso y tamaño de la ubre en el momento que esta se encuentra grávida, el tendón sinfisario o también conocido como subpélvico el cual constituye el soporte de apoyo lateral de dicha estructura (Neder *et al.*, 2021).

La posición de la ubre esta determinada por fuerte laminas faciales que circundan y envuelven la sustancia glandular prolongándose para dentro, para que se una con la estructura del tejido conjuntivo que está en todo el órgano, la ubre está mantenida en su posición por medio de dos potentes conjuntos de láminas (Quevedo, 2018).

#### **3.2.1.1. Ligamento suspensorio medio**

Se encuentra apoyando al lado derecho e izquierdo de la ubre desde la parte medial, sus ramas constituyen un par de ligamentos de sustentación central o láminas mediales ampliamente compuestas por tejido conectivo amarillo elástico conocido como “ligamentos suspensorios medios” los cuales son considerados como la principal estructura de apoyo en la glándula mamaria (Nazar *et al.*, 2022).

#### **3.2.1.2. Ligamentos suspensorios laterales**

Comprenden la sustentación y separación entre la parte posterior y la anterior de la ubre, de manera contraproducente es menos definida su inserción terminal, además, se encuentra determinada por dos pares de ligamentos o láminas laterales, quienes se encuentran constituidas de tejido conjuntivo blanco denso que no tiene la característica de ser elástico, estas estructuras son parten del tendón subpélvico e intervienen directamente en la rectitud del suelo o piso de la ubre ya que es un tejido fibrosos poco flexible (Suarez *et al.*, 2019).

### **3.2.2. Secreción láctea**

La unidad anatómica funcional del sistema secretor son las células epiteliales y mioepiteliales, las cuales forman el alvéolo con su cisterna, estas características

anatómicas le confieren la capacidad de formación y la producción de leche, los cuales son recursos obtenidos directamente de la circulación sanguínea de la vaca en etapa de lactancia (Maldonado *et al.*, 2022).

La secreción de leche se da por medio de las células secretoras, esta función se debe a un proceso continuo que involucra muchas reacciones bioquímicas en el ordeño, la acumulación de leche incrementa la presión intralvéolar y disminuye el grado de síntesis de leche, como resultado, se recomienda que las vacas sean ordeñadas lo más cerca posible a un intervalo de 12 horas entre ordeños, una expulsión frecuente de leche reduce la presión que se acumula en la ubre (Acosta *et al.*, 2017).

### **3.2.3. Cisterna y conductos mamarios**

Son las estructuras anatómicas responsables de la acumulación intramamaria de la secreción láctea esta ligada al paso de dicha secreción hacia el ambiente extramamario todo iniciado por la estimulación aferente de los nervios sensitivos de la teta, los cuales responden a estímulos como la succión, fricción o presión ejercida por el ternero, el operario y equipo del ordeño (Silvestrini, 2021).

#### **3.2.3.1. Pezón de la ubre**

Es la primera barrera física de protección de la ubre, separa el ambiente intramamario del extramamario con estructuras como el canal del pezón con su respectivo esfínter mediado por la entrada de Fussegber, estas estructuras son primordiales para el desarrollo y establecimiento del tapón de quitina, en conjunto estas estructuras limitan el acceso de partículas patógenas al ambiente interno de la ubre. La función de las estructuras previamente citadas se ve en su máximo contingente cuando la vaca se encuentra en el periodo seco, es decir no existe la producción láctea, generalmente este periodo suele tener una duración de 60 días (Brand *et al.*, 2021).

### **3.2.4. Sistema sanguíneo, linfático y nervioso**

La fisiología de la glándula mamaria se ve medida por la influencia directa del aporte sanguíneo que llega a esta, los cuales determinan los gradientes de lactopoyesis de las células epiteliales, además, para mantener el estado integro del

ambiente intramamario existe un nódulo linfático propio de la ubre el cual provisiona de células inmunológicas que permiten mediar y desencadenar los mecanismos de defensa inmunológica ante la colonización de un antígeno.

El complemento nervioso de la ubre y las glándulas mamarias se ve influenciado por la activación de las ramas del nervio inguinal y el plexo mesentérico caudal, lo cuales cumplen la función de responder ante estímulos sensitivos a nivel de la piel del pezón así como a estímulos relacionados a la activación de la vía neural para la secreción de oxitocina la cual es primordial para que las células mioepiteliales se contraigan y den inicio a la eyección de la leche hacia el exterior (Amr *et al.*, 2021).

### **3.2.5. Mecanismos de defensa de la glándula mamaria**

La ubre tiene algunos mecanismos de defensa, siendo aspectos físicos, celulares, humorales, enzimáticos y químicos, los cuales protegen de una manera u otra dándole resistencia a la colonización de la ubre por patógenos oportunistas, los cuales provocaran reacciones inflamatorias y daños tisular de las células epiteliales encargadas de la producción de leche (Flores *et al.*, 2021).

#### **3.2.5.1. Mecanismos físicos**

Anatómicamente el pezón y el canal del pezón, componen las características de estructura en los mecanismos físico de defensa de la ubre, los que le proporcionan la primera barrera de defensa a los microorganismos oportunistas, el sistema del canal del pezón esta dividido en tres proporciones; Canal estriado, roseta de *Furstenberg* y cisterna. En la actualidad mencionan que los mecanismos de defensa que la ubre han evolucionado considerablemente los cuales interactúan de manera cooperativa con las barreras físicas los mecanismo específicos e innatos del sistema inmunitario (Peng *et al.*, 2020).

#### **3.2.5.2. Respuesta celular**

La respuesta celular principalmente esta mediada por los macrófagos y células epiteliales las cuales liberan citosinas y quimiocinas estas sustancias activan el sistema de complemento mediadas por los neutrófilos, los cuales cumplen la función de fagocitosis, muerte intracelular y apoptosis, estos acontecimientos suceden cuando los mecanismos de defensa fallaron en la prevención del

establecimiento de una infección intramamaria ocasionada por microorganismos oportunistas que han logrado colonizar (Nelson *et al.*, 2018).

La glándula mamaria es muy susceptible a las infecciones ya que la leche es una valiosa fuente de nutrientes para la multiplicación bacteriana, cuando los mecanismos del canal del pezón son superados, existe un eficiente sistema de defensa celular y soluble dentro de la glándula que asiste en remover las infecciones, el componente celular también conocido como células somáticas está constituido básicamente por neutrófilos, macrófagos, linfocitos y en menor medida células epiteliales mamarias, donde conforme varían los componentes (Oyola & Urrea, 2021)

- **Células Somáticas:** la secreción láctea posee un componente celular constituido básicamente por macrófagos, neutrófilos, linfocitos y en menor medida células epiteliales mamarias, conocidos en su conjunto como células somáticas, la cantidad de células somáticas es reducida cuando la glándula está sana < a 100.000 células/ml, variando su concentración con el ciclo de lactancia (Mera, 2020).

La composición celular promedio está constituida por un 12 % de neutrófilos, 60 % de macrófagos y 28 % de linfocitos, de los cuales el 20 % son linfocitos B y un 47 % linfocitos T, a medida que nos acercamos al final de la lactancia, los neutrófilos comienzan a aumentar hasta cerca de un 40 % y durante los primeros quince días del periodo seco la concentración celular se incrementa hasta  $2 - 5 \times 10^6$  células/ml, luego el recuento celular se reduce y previo al parto, el valor aumenta nuevamente a  $1 \times 10^6$  células/ml, y las células epiteliales mamarias se encuentran en una proporción reducida, cercana al 2 % correspondientes a las células somáticas presentes en la leche (Rainard *et al.*, 2018).

- **Neutrófilos:** tiene la principal función de fagocitosis, considerado como la primera línea de defensa celular y destrucción de los microorganismos en el ambiente intramamario, su capacidad bactericida está dada por mecanismos dependientes e independientes de oxígeno (García *et al.*, 2019).

- **Macrófagos:** los macrófagos de la glándula mamaria derivan de los monocitos presentes en sangre, son las células que más abundan en la glándula mamaria sana, actúan como células presentadoras de antígenos específicos de una respuesta a una colonización (Murphy *et al.*, 2019).



- **Linfocitos:** los linfocitos son los encargados de montar y regular la respuesta inmunitaria de adaptación, existen tres tipos de linfocitos, los cuales difieren en funciones y en componentes proteicos producidos, denominados linfocitos B, T y Natural Killer. A los linfocitos T se los divide en dos grandes poblaciones ab y dg (Gómez *et al.*, 2020).

### 3.2.5.3. Mecanismos de defensa no celulares

Los mecanismos de defensa no celular esta dado por varias sustancias que impiden la colonización de un patógeno, entre ellas podemos detallar a las inmunoglobulinas (IgM e IgG) en las vacas, las cuales cumplen con la función de activar el sistema de complemento y a las células presentadoras de antígeno para la continuación de la fagocitosis mediada por los neutrófilos (Souza *et al.*, 2020).

Las IgG1 e IgA en vacas tienen funciones como neutralizar toxinas bacterianas, además se les atribuye la producción de otras sustancias y proteínas antimicrobianas como la lactoferrina, esta impide el desarrollo y multiplicación de los microorganismos patógenos, además, producen citosinas que regulan la inmunidad específica, las cuales cumplen con la función de quimiotaxis ante una infección intramamaria e influyendo en los signos de gravedad y cuadros inflamatorios de la mastitis (Revskij *et al.*, 2022).

- **Lactoferrina:** Es secretada principalmente por las células epiteliales presente en la glándula mamaria y en menor medida es producida por los neutrófilos, la principal función de esta proteína es de ligar el Fe (hierro) en presencia del bicarbonato propiciando que las bacterias no aprovechen el hierro para sus funciones vitales (Freitas *et al.*, 2018).
- **Lactoperoxidasa:** Es una enzima que se encuentra en cantidades limitadas en la leche no patológica (30mg/mL) su función antimicrobiana se encuentra determinada por el tiocinato y peróxido de hidrógeno, actuando en la inhibición de gram positivos y gram negativos (Nagahata *et al.*, 2020).
- **Complemento:** Se demomina asi al paquete de proteínas y elementos bioactivos que al ser activadas colaboran con la mediación de la respuesta inmunológica, desempeñándose favorablemente sobre las funciones opsonizadoras que lisan al microorganismo, también actúan como señal química para los

neutrófilos (C5a), los que en conjunto con los antecedentes mencionados lisan la pared celular del microorganismo, ostentando de un efecto bactericida (Vitenberga *et al.*, 2022).

- **Inmunoglobulinas:** Elementos de estructura proteica, cuya concentración en la leche de vaca es limitada, generalmente existe de muchos tipos de acuerdo a su cadena estructural, sin embargo, la mas abundante en la leche es la IgG1, esta es tomada desde la circulación sanguínea por parte de las células epiteliales mamarias este procedimiento se encuentra mediado por los receptores específicos para esta proteína encontrados en la membrana superficial de las células mencionadas, además, otra proteína inmunológica presente en la leche es la IgA la cual debe su derivación a las células plasmáticas presentes en el ambiente intramamario, estas son los principales precursores debido a su receptor polimérico de Igs (Bruckmaier & Wellnitz, 2017).

El papel de estos elementos inmunológicos esta relacionado con la lisis del patógeno, contribuyendo principalmente a la opsonización de los componentes celulares del propiciando que la fagocitosis sea en medida mas eficiente, es necesario entender que este eslabón es demasiado importante en la cadena de componentes que conforman la respuesta inmunológica (Pellegrino *et al.*, 2017).

### **3.3. La Mastitis**

#### **3.3.1. Aspectos básicos**

En la producción lechera las vacas son el punto critico de control mas evaluado y sometido a vigilancia debido a los multiples factores arraigados a estas que pueden afectar la producción de leche, en donde la integridad de la ubre es necesaria para maximizar la producción de leche en cantidades y calidad adecuada, además, es el factor determinante a la hora de mantener la rentabilidad (Castillo *et al.*, 2019).

La producción de leche se va afectada principalmente por patologías como la mastitis, esta es la inflamación del tejido secretor y de la glándula mamaria, las causas de esta patología se encuentran bajo influencia multifactorial, en donde están factores primordiales como el manejo, la sanidad, microorganismos, tratamientos y diagnósticos mal aplicados, los cuales repercuten en la calidad de la leche que se produce, la piedra angular de la potegenia de esta enfermedad esta

determinada por la presencia de los factores mencionados y adicionalmente la colonización y la virulencia de microorganismos patógenos en la glándula mamaria (Pedroza, 2018).

La glándula mamaria de las vacas por su funcionalidad y disposición anatómicas se ve predispuesta a que factores externos contribuyan al establecimiento y desarrollo de una infección intramamaria, desencadenando un sin número de reacciones inflamatorias ocasionadas por un cuadro mastítico de carácter clínico o subclínico el cual puede afectar a un individuo en cuestión o a todos los animales que se encuentre en etapa productiva (Ashraf & Imran, 2018).

Esta patología puede ser identificada y clasificada mediante el grado inflamatorio establecido, la cual en un principio está influenciada por el número de células somáticas presentes en la leche, esto ocurre como respuesta ante la infiltración de un antígeno al ambiente intramamario (Sharun *et al.*, 2021).

La mastitis clínica se puede diagnosticar mediante la percepción subjetiva de los signos clínicos en la ubre característicos de un cuadro inflamatorio como el dolor, rubor, calor, edema y pérdida de su funcionalidad, la presencia de uno o más signos son considerados patognomónicos para el establecimiento de dicha clasificación patológica (McDougall *et al.*, 2022).

La mastitis subclínica en gran parte de los casos es el resultado del inicio de un proceso inflamatorio, ya que este es el primer paso que resulta ser indicativo de que algo ocurre en el interior de la ubre, la elevación del número de células somáticas es el punto primordial considerado para poder establecer este tipo de mastitis y su elevación no es necesariamente considerado un indicativo de infección intramamaria, generalmente esta presentación de la enfermedad es considerada como silente ya que carece de signología específica que de un indicio patológico, se considera que es la que mayor perjuicio ocasiona en la producción de un hato lechero en cuestión ya que el 70% de las pérdidas suelen ser imperceptibles y son atribuidas a la mastitis subclínica, además es aquella que conduce al descarte prematuro de animales de alto valor productivo (Ruegg, 2017).

Dentro de los factores desencadenantes de la mastitis bovina tenemos; escasas y limitaciones en la sanidad del ordeño, materiales y equipos de ordeño bajo

condiciones no admisibles, lesiones en la superficie de la piel de la teta, factores de virulencia de los patógenos que pueden estar incidiendo en la granja, etc, en conjunto los antecedentes mencionados pueden desencadenar alteraciones de tipo inflamatorio del parénquima de la glándula (Denamur *et al.*, 2020).

La colonización de los microorganismos en la ubre provoca alteraciones composicionales de la secreción láctea, ostentando una decreciente de componente como; Lactosa, caseína, sólidos totales, etc., además, por esta degradación es evidente el aumento de componentes que le confieren un sabor, olor y aspecto desfavorable a la leche como el aumento en; Igs, cloruros, ácidos, enzimas celulares, minerales traza, etc. (Kasai *et al.*, 2022).

### **3.3.2. Categorización de la Mastitis**

Es una patología que genera gran impacto en las granjas lecheras a nivel mundial, siendo categorizada principalmente por grado de inflamación y síntomas clínicos acentuados en la glándula mamaria, provocando cambios en la leche tanto físicos, celulares como químico, pudiendo clasificarse en base a estos antecedentes en “Mastitis clínica y Mastitis Subclínica” (Maldonado *et al.*, 2022).

En relación al avance cronológico de la patología en función al tiempo también se puede clasificar en; subaguda, aguda y crónica, apreciando que en la presentación clínica mas leve o subaguda apenas es evidente el desarrollo patogénico de la mastitis, sin embargo, en aquellos cuadros mastitis donde se a extralimitado su avance en la cronicidad de la enfermedad se puede apreciar inclusive perdida de la funcionalidad de uno o más cuartos mamarios o a su vez, el descarte de animales en producción (Jiménez, 2019).

La etiología esta en relación directa con la presentación de signos clínicos específicos de un determinado tipo de mastitis, ya que las interacciones de la respuesta inmune de la glándula mamaria varía entre un patógeno y otro, así mismo, se puede evidenciar que la terapéutica puede estar en dependencia de este factor, en donde también se debe considerar la susceptibilidad a los antimicrobianos por parte de los agentes infeccioso involucrados en la etiología, por otra parte, también es imprescindible valorar la farmacocinética y farmacodinamia de las drogas consideradas (Gozales & Vidal, 2021).

### **3.3.2.1. Mastitis Subclínica**

La mastitis subclínica es considerada como el proceso patológico en donde se ve la interacción de la respuesta inmune celular con un agente patógeno que invade y coloniza el ambiente intramamario, necesariamente es el primer paso para exhibir los mecanismos de defensa relacionados con el aumento en recuento de células somáticas en la leche patológica, imprescindiblemente los aumentos en los recuentos de células somáticas no siempre indican una colonización bacteriana, dentro del análisis económico es la que mayor impacto económico ocasiona debido a la baja producción, dicha mastitis necesita mayor grado de especificidad y sensibilidad a la hora del diagnóstico del agente patológico que provoca el aumento de la infiltración de las células somáticas en la leche (Khasana *et al.*, 2021).

Principalmente la característica de esta patología es no presentar alteraciones manifiestas clínicas evidentes en la ubre y leche, fundamentalmente se caracteriza por el aumento del número de neutrófilos y leucocitos en la leche, los métodos para la detección son de alta complejidad para su aplicación a nivel del campo, además, suelen tener mayor rango de sensibilidad y especificidad, este tipo de mastitis repercute en varios parámetros influyentes en el performance productivos de la vaca, tanto así que en la actualidad reportan afectaciones en los índices reproductivos de las vacas lecheras (Ranasinghe *et al.*, 2021).

### **3.3.2.2. Mastitis Clínica**

Esta categoría interpretativa de la enfermedad es aquella que cursa con signología específica de un cuadro inflamatorio de la glándula mamaria, pudiendo encontrarse alteraciones anatómicas de la ubre como; dolor, rubor, calor y tumor a la exploración clínica, además, pérdida de la funcionalidad o signos de Virchow, este último se complementa con observación de alteraciones físicas y evidentes de la secreción láctea, tales como dilución, coagulación, presencia de sangre, etc. (García *et al.*, 2019).

Debido a el estado progresivo de la patología y en principio a las alteraciones moleculares, su detección en campo no requiere de métodos de suma complejidad para establecer un veredicto subjetivo del avance patológico o de la interacción citológica con el agente causal en el interior de la ubre (Malcata *et al.*, 2020).

### 3.3.3. Etiología de la mastitis

Las causas de la mastitis pueden ser variadas y están en dependencia de la zona agroecológica donde se desarrolle la actividad lechera en cuestión, los orígenes microbiológicos son una de las principales, en donde, las bacterias son las protagonistas de desencadenar cuadros inflamatorios con manifestaciones clínicas que se ven reflejadas en la producción de leche de baja calidad y de cantidad limitada, esto debido a la interacción ocasionada por la respuesta inmunológica de la vaca y los factores de virulencia propiciados por los microbios que se encuentran colonizando el interior de la ubre (Amer *et al.*, 2018).

Los patógenos con capacidad de afectar a la glándula mamaria se han cuantificado en un aproximado de 200 especies bacterianas, con diferentes características patogénicas que les permiten inhibir los mecanismos de defensa de la glándula mamaria y ocasionar un cuadro inflamatorio, dentro de estas características se les atribuye como una de las principales el medio u origen de la transmisión de la mastitis contagiosa y ambiental (Jung *et al.*, 2021).

Dentro de la clasificación microbiológica de la mastitis, se detalla la mastitis ambiental, esta es aquella ocasionada por patógenos encontrados en el medio ambiente y en vectores físicos como; los equipos y utilería del ordeño, además, pueden encontrarse en el entorno con poco manejo sanitario como en los pastos, establos o materiales de cama contaminados, algunos de estos microorganismos son los responsables de causar cuadro agudos y recurrentes de la enfermedad en casos donde se encuentra comprometida la susceptibilidad de la vaca ocasionada por factores como estrés post-parto, inmunodeficiencia, etc. dentro de los principales patógenos están considerados; *Escherichia coli*, *Enterobacter*; *Klebsiella*, *Pseudomona*, *Streptococcus disgalactiae* y *Streptococcus uberis* (Calvinho, 2017).

La mastitis causada por bacterias como *Eshcerichia coli*, son con mayor predisponencia al el inició y final de la lactancia, ya que no viven en la piel de la ubre, pero entra al canal del pezón cuando la vaca entra en contacto con un medioambiente sucio, estas bacterias se encuentran en las heces, camas y alimento. Estas mastitis pocas veces exceden el 10 % de los casos totales (Flores *et al.*, 2021).

### 3.3.3.1. Microorganismos

Las bacterias con las principales protagonistas en el desarrollo y establecimiento de la mastitis bovina, pudiendo encontrar desde microorganismos mesófilos Gram-positivos hasta enterobacterias Gram-negativas como principales responsables; *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Pseudomonas aureoginosa*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter*, *Bacillus* spp., etc. (Flores *et al.*, 2021).

*Escherichia coli* generalmente es una bacteria que habita en el intestino del humano y animales, en la actualidad se ha descrito varios patotipos que presentan variación en la virulencia, para el caso de *E. coli* causantes de mastitis, a la fecha no se han identificado cepas o factores de virulencia específicos, pero se han propuesto que forman un nuevo patotipo denominado Mammary Pathogenic *E. coli*, sin embargo se ha observado gran diversidad tanto genética como en los factores de virulencia entre bacterias (Jiménez *et al.*, 2017).

### 3.3.3.2. *Escherichia coli*

#### 3.3.3.2.1. Taxonomía

Tabla 1. Taxonomía del *Escherichia coli*

TAXONOMÍA	
<b>Reino:</b>	Bacteria
<b>Clase:</b>	Gamma proteobacteria
<b>Orden:</b>	Enterobacteriales.
<b>Familia:</b>	Enterobacteriaceae.
<b>Género:</b>	<i>Escherichia</i> .
<b>Especie:</b>	<i>E. coli</i>
<b>Nombre binomial:</b>	<i>Escherichia coli</i>

Fuente: Gleizer *et al.*, (2019)

### **3.3.3.2.2. Características de *Escherichia coli*.**

La bacteria del género *Escherichia coli* es una bacteria anaeróbica facultativa, Gram-negativa, no formadora de endoesporas; es un género que pertenece al grupo Enterobacteriaceae.

Las cepas patógenas de *E. coli* se dividen, según los síntomas clínicos y los mecanismos de patogenicidad, en varios grupos que pueden variar en sus períodos de incubación y duración de la enfermedad, también hay una variación considerable en la virulencia. Por ejemplo, pequeñas dosis de 10 células o menos de *E. coli* O157:H7 pueden causar una enfermedad grave, mientras que la *E. coli* enterotoxigénica requiere un número estimado de células de 10<sup>8</sup> a 10<sup>10</sup> para causar una enfermedad leve progresando hacia la cronicidad (Rosano et al., 2019).

*Escherichia coli* es considerado como un agente principal encargado del 20 al 90% de situaciones vinculadas a la mastitis, el origen más amplio de microorganismos proviene principalmente del ambiente donde se encuentra el animal, comúnmente los coliformes no son transmisibles de animal a animal, sino más bien se encuentra prevalente en lugares de con deficiente manejo sanitario (Denamur et al., 2022).

### **3.3.3.2.3. Grupos patogénicos**

#### **3.3.3.2.3.1. Entero-hemorrágica**

Este tipo de variante provoca diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico (SUH) y púrpura trombocitopenia trombótica. Este grupo incluye *E. coli*. productora de toxina Shiga o STEC a la cual anteriormente se la conocía como *E. coli*. verotoxigénica (VTEC) (Jiménez et al., 2017).

#### **3.3.3.2.3.2. Enterotoxigénica (ETEC)**

Esta variación es comúnmente conocida por causar la diarrea del viajero. ETEC causa diarrea acuosa, similar en apariencia al agua de arroz, y produce fiebres leves. El microorganismo coloniza la parte proximal del intestino delgado, en las células del epitelio intestinal (Manges et al., 2019).



#### **3.3.3.2.3.3. Enteropatógena**

Es la causante de diarrea acuosa en los niños. Provoca vómitos, fiebre y diarrea acuosa que contiene mucosidad, pero no sangre. El microorganismo coloniza las microvellosidades a lo largo del intestino y produce la característica lesión de adhesión y desaparición en los bordes de las microvellosidades intestinales (Rivera *et al.*, 2018).

#### **3.3.3.2.3.4. Enteroagregativa**

Causante de diarrea acuosa persistente, especialmente en niños, que dura más de 14 días. Esta bacteria se alinea en filas paralelas, tanto en tejidos celulares como en portaobjetos. Esta agregación ha sido descrita como “apilamiento de ladrillos”. Producen una toxina termosensible, relacionada antigénicamente con la hemolisina pero que no es hemolítica, y una toxina termoestable codificada por plásmido, no relacionada con la enterotoxina termoestable ETEC. Se cree que la *E. coli* enteroagresiva se adhiere a la mucosa intestinal y produce enterotoxinas y citotoxinas, que provocan diarrea (Magnges *et al.*, 2019).

#### **3.3.3.2.3.5. Enteroinvasiva**

Causa diarrea profusa y moco que contiene sangre. El microorganismo coloniza el colon y contiene un plásmido de 120 a 140 mD responsable de la invasividad, que porta todos los genes necesarios para la virulencia (Peng *et al.*, 2020).

### **3.4. Generalidades fenotípicas de *Escherichia coli*.**

- Los rumiantes, particularmente el ganado bovino, son considerados como uno de los principales reservorios de *E. coli*.
- Varios otros animales domésticos y salvajes ovejales, cerdos, cabras, ciervos.
- Productos de carne molida poco cocidos.
- Embutidos secos fermentados, embutidos cocidos y fermentados.
- Otras fuentes de alimentos incluyen leche y productos lácteos, leche sin pasteurizar, queso elaborado a partir de leche sin pasteurizar, verduras frescas, brotes, ensaladas, bebidas de sidra, zumo de manzana y agua (Leon, 2021).

### **3.4.1. Morfología microscópica**

Esencialmente al ser teñida una asada o una colonia de *E. coli* en cuestión, con tinción de Gram, lo que básicamente se puede observar al microscopio son formas de bacilos pequeños de 1 a 3 micras de longitud, con una coloración que tiene matices entre rosa claro a rojo, lo cual es característico cuando se tiñen bacterias gram negativas (Peng *et al.*, 2020).

### **3.4.2. Morfología macroscópica**

Para la respectiva apreciación del patógeno debemos contar con un cultivo de la cepa en estudio en una placa Petri, el cual nos permite observar las características de las colonias, en medios no selectivos la colonia se presenta de 1 a 3 mm de diámetro, lisas, levemente elevadas, de bordes enteros, levemente convexas y generalmente pigmentadas con un color que puede ir desde el rosa fucsia verde metálico. En dependencia del medio de cultivo esta puede crecer en bacto-agar, en agar macconkey, Agar Eosina azul de metileno, y es el único Gram negativo enterobacteriano que produce  $\beta$ -hemólisis etc. (Casado, 2018).

### **3.5. Técnicas diagnósticas de la mastitis.**

El diagnostico de la mastitis bovina es la piedra angular, debido a que las granjas son entornos con recursos limitados, debido al alto grado de complejidad para determinar una prevención oportuna de la infección intratamamaria, las categorías interpretativas son basadas en los criterios científicos de sensibilidad (Capacidad de discernir los positivos de los negativos) y especificidad (Capacidad de reconocer solamente los negativos) de una enfermedad en cuestión (Ashraf & Imran, 2018).

Generalmente los resultados de los ensayos que mayormente confieren un diagnostico oportuno, están desarrollados en un laboratorio, estos permiten reconocer un patógeno mediante la identificación de umbrales cuantitativos como cualitativos, sin embargo, el diagnostico de esta enfermedad puede realizarse de manera subjetiva en campo, estos básicamente permiten considerar criterios patológicos asociados a la enfermedad contraproducentemente, no proporcionan información relevante de la etiología de base que se encuentra causando la mastitis (Malcata *et al.*, 2020).

### 3.5.1. California Mastitis Test (CMT)

El estudio clínico de la mastitis ha puesto al alcance de los productores nuevas herramientas para contrarrestar la mastitis bovina, siendo la más efectiva y duradera la selección genética, sin embargo la obtención de un hato joven de vacas altamente productivas con progreso genético sostenidos va depender también del mecanismo de selección que se utilice, la mastitis bovina tiene una tasa de infección de 20 a 65 % sobre los rebaños de todo el mundo, generando enormes pérdidas, por lo tanto es indispensable emprender acciones dirigidas a erradicar la patología (Quevedo, 2018).

La mayoría de los agricultores no son consciente de las diferente formas más fáciles y efectivas para la detección de la mastitis, por ende, una de las pruebas diagnósticas de mastitis es la prueba de california (CMT), siendo así que el recuento de células somática es un predictor útil de infección (Hoque *et al.*, 2014).

**Tabla 2.** Interpretación de CMT (California Mastitis Test).

Grado	Categoría	Reacción	Recuento de Células Somáticas
0	Negativo	Normal	< 200 000
T	Traza	Coagulación ligera	150 000 – 500 000
1	Medianamente positivo	Coagulación definida	400 000 – 1 500 000
2	Positivo	Gelificación	800 000 – 5 000 000
3	Fuertemente positivo	Viscosidad considerablemente	>5 000 000

Fuente: Kandeel *et al.*, (2018).

### 3.5.2. Cultivo e identificación de bacterias.

La identificación de la mastitis bovina a llevado a la aparición de nuevas técnicas para el hallazgo oportuno de los patógenos causales, donde prácticamente se basa desde practicas sencilla hasta métodos más complejos (Chakraborty *et al.*, 2019).

Los enfoques para la detección del agente microbiano causante de mastitis resultan de gran importancia para la elección de la terapéutica específica e idónea en base a los requerimientos de la vaca mediados por los resultados de los ensayos microbiológicos, el cultivo e identificación bacteriológica son puntos clave para poner en evidencia la etiología primaria responsable de causar cuadro mastíticos en las vacas y alteración en la producción láctea (Esener *et al.*, 2021).

La utilización de medios de cultivos en placa es un método de laboratorio confiable que permite poner en manifiesto el crecimiento de una bacteria que protagoniza el desarrollo de esta patología, en donde, el agar base sangre con la adición del 5% de sangre de cordero es el medio de primera elección para el cultivo de muestras mastíticas, la versatilidad en la utilización de este medio abre un abanico de alternativas de procedimientos y condiciones de incubación para el crecimiento de los diferentes géneros bacterianos (Adkins & Middleton, 2018).

Generalmente como consecuencia de la obtención de los cultivos primarios se continua con la siembra por estriado en medios selectivo y diferenciales, estos permiten poner en evidencia características nutricionales de un género bacteriano en cuestión, tales como; la utilización y fermentación de azúcares y carbohidratos como fuentes de energía y la producción de radicales como metabolitos de desecho, los cuales se exhiben mediante características fenotípicas diferenciales del crecimiento entre un género bacteriano de otro (Adkins & Middleton, 2018).

El medio de cultivo agar McConkey permite la selección estratificada del crecimiento de enterobacterias debido a su contenido de sales biliares y cristales de violeta las cuales inhiben el crecimiento de aerobios facultativos Gram-positivos, además, mediante características colorimétricas del crecimiento de las colonias se puede identificar la capacidad de la utilización de la lactosa como carbohidrato para la obtención de energía y realización de procesos vitales bacterianos, como es el caso de *Escherichia coli* la cual produce colonias definidas de una coloración definida rosa a roja, los géneros bacterianos que no poseen esta capacidad o ruta metabólica generalmente se manifiestan con el crecimiento de colonias no pigmentadas (Locatelli *et al.*, 2019).

El reconocimiento bacteriano mediante pruebas bioquímicas se fundamenta bajo el principio en poner en manifiesto una ruta metabólica mediante expresiones diferenciadas en el crecimiento de las colonias, pudiendo encontrar hallazgos como; la producción ácido mixta, producción de indol, utilización de ciertos sustratos especiales, crecimiento bajo condiciones limitadas, producción de gas y capacidad fermentativa (Locatelli *et al.*, 2019).

Las enterobacterias principalmente se pueden identificar por los perfiles IMVIC comprendidos por;

- **Indol:** esta prueba permite identificar si la bacteria que se pretende diagnosticar posee la enzima triptofanasa la cual actúa hidrolizando el triptófano presente en un medio en indol y alanina
- **Rojo metilo:** es una prueba colorimétrica la cual pone en manifiesto la acumulación de ácidos (acético, fórmico, etc.) luego de un proceso fermentativo de un medio de cultivo en cuestión, básicamente nos permite saber si el medio es acidificado por el crecimiento de una bacteria.
- **Voges-Proskauer:** esta prueba permite determinar la presencia de producción de acetoina por parte de la bacteria, la cual reacciona con alfa naftol y KOH (hidróxido de potasio), para la identificación de la fermentación butanodiolica.
- **Citrato:** permite identificar los microorganismos que convierten el citrato en fosfato de amonio, amoníaco e hidróxido de amonio, los cuales son metabolitos alcalinizantes, que por aumento del pH cambia la coloración de un medio de cultivo (Younis *et al.*, 2021).

**Tabla 3.** Perfiles IMVIC para *Escherichia coli*.

Prueba	Criterio
Indol	Positivo
Rojo Metilo	Positivo
Voges-Proskauer	Negativo
Citrato	Negativo

Fuente: Tille, (2017).

### **3.5.3. Ensayos de susceptibilidad**

Las pruebas de susceptibilidad en los últimos años se a implementado en base a la necesidad de propiciar un correcto plan terapéutico para la mastitis bovina, estos ensayos nos arroja información tanto cuantitativamente como cualitativamente de la susceptibilidad de una bacteria en cuestión frente aun agente antimicrobiano, en el caso de las mastitis ocasionas por bacterias en la actualidad las multiresistencias a generado gran impacto negativo para la salud publica del consumidor y a reducido la tasa de curación con los protocolos de tratamientos medicamentosos utilizados (Kasai *et al.*, 2022).

Los métodos implementados en los ensayos de susceptibilidad antimicrobianas son el método de difusión disco en placa o Kirby-Bauer, el cual se fundamente en permitir cuantificar el halo de inhibición ocasionado por la difusión de un agente antimicrobiano con la superficie del medio de cultivo frente a una bacteria en estudio, el cual es propiciado por la inhibición del desarrollo de la bacteria, dado principalmente por la acción del agente antimicrobiano (Derackhshani *et al.*, 2018).

### **3.5.4. Prueba de CMI**

La concentración mínima inhibitoria (CMI) o la dosis mas baja requerida de un agente terapéutico para delimitar el desarrollo en el crecimiento de una bacteria, esta prueba permite establecer criterios interpretativos de la susceptibilidad cuando una bacteria presenta resistencia a una concentración determinada, mediante los puntos de corte establecido de la medida del halo de inhibición expresando si es sensibles, intermediamente resistente o resistente (Roy *et al.*, 2018).

### **3.5.5. Tratamiento**

La mastitis bovina es una de las patologías que mayores repercusiones económicas debido a que ocasiona altos costos implementados por un tratamiento mal instaurado, contribuyendo a la generación de resistencias farmacológicas lo que ocasiona descartes prematuros de animales de alta valor productivo para las explotaciones. Cuando se a extralimitado la cronicidad del cuadro patológico es de vital importancia diagnosticar mediante pruebas laboratoriales la presencia de un agente patógeno, para el establecimiento de un protocolo medicamentoso ajustado a la etiología (Lange *et al.*, 2021).

La identificación del microorganismo patógeno con certeza es el punto inicial para la instauración del tratamiento de la patología, con la correcta selección del agente antimicrobiano, en base a su mecanismo de acción y propiedades terapéutica que actúen lisando estructuras conformacionales de un patógeno o atenúen sus funciones vitales (Haenni *et al.*, 2018).

Las antimicrobianos a elegirse en base a factores relacionado en la terapéutica como por ejemplo; cierto antibióticos bctalactámicos como la penicilina o amoxicilina deben evitarse cuando se a identificado como agente causales de la mastitis a los *Staphylococcus* productores de penicilinas, así mismo se debe tener en cuenta si el patógeno es una enterobacteria productora de betalactamasa de espectro extendido, también, es aconsejable considera alternativas de espectro mas amplio como el ceftiofur y la oxitetraciclina (Sharun *et al.*, 2021).

Cuando los antibióticos son utilizados de manera local y sistémica con fines terapéuticos es de suma importancia considerar el prospecto medicamentoso del fármaco que se aplica respectivamente, esto con la finalidad de ajustar a rangos adecuados la dosis para evitar la generación de resistencias bacterianas a los antibióticos y evitar la residualidad del medicamento en el producto de consumo (Sugiyama *et al.*, 2022).

### **3.5.6. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son compuestos volátiles, conforman estructuralmente órganos de las plantas y vegetales, incluyendo a las hojas, tallos raíces, flores, y frutos, poseen actividad biológica como antibacteriana, antifúngica y antioxidante (Pavli *et al.*, 2019). El uso de estos compuestos se remonta a los inicios de la modernidad humana en donde los árabes fueron los pioneros en la obtención de dichos aceites mediante destilación de agua. Estos bioactivos son usados en diferentes enfoques, pudiendo ser utilizados en la industria cosmética, química, alimentaria etc. (Chen *et al.*, 2020).

Farmacológicamente se ha descrito el uso de estos aceites por sus propiedades antimicrobianas ya que químicamente sus compuestos estables se obtienen mediante muchas rutas como la ruta del mevalonato misma que es conocida y estudiada por ser precursora de los sesquiterpenos, la ruta del metil-eritritol que

guía la biosíntesis de los monoterpeno y diterpenos como el carvacrol y timol, por último, la ruta ácido shikímico que es el paso inicial en la biosíntesis de los fenilpropenos (Cui *et al.*, 2019).

#### **3.5.6.1. Acción antibacteriana de los Aceites Esenciales**

La capacidad de difusión de los aceites esenciales es el principal criterio aprovechado para la inhibición de las funciones vitales de un microorganismo en cuestión, la actividad antimicrobiana se puede definir como aquella que, a través del empleo de diferentes sustancias, inhiben su proliferación y desarrollo bacteriano (Concha, 2020). Los aceites esenciales pueden actuar a nivel de membrana o organelos citoplasmáticos, su principal actividad esta definida por su hidrofobicidad, lo que le confiere una mayor capacidad permeable hacia el interior de la célula (Mutlu *et al.*, 2021).

Científicamente, se ha establecido que la microorganismos Gram-negativas son mas resistentes que las Gram-positivas, gracias que tiene característica que le confiere propiedades intrínseca de la membrana celular, ya que en su estructura está conformada por una capa de lipopolisacáridos, las cuales repelen compuestos hídricos, esta membrana tiene la capacidad de actuar como barrera protectora sobre macromoléculas y compuestos hidrófobos como los que se encuentran en los aceites esenciales (McDougall *et al.*, 2019).

El cultivo de plantas medicinales forma parte de los cultivos tradicionales, de donde extraen los aceite esenciales, los cuales son una mezclas complejas de compuestos volátiles provenientes del metabolismo secundario de las plantas, todas las especies vegetales poseen la capacidad de producir compuesto de naturaleza volátil, sin embargo, los aceite esenciales son sintetizados, almacenado y liberado al ambiente por una gran variedad de estructura epidérmica, cuya morfología es característica de cada grupo taxonómico (Mera, 2020).

El aceite esencial del orégano es considerado como uno de los bioactivos que exhibe mayor concentración de compuestos fenólicos; siendo el carvacrol el que se encuentra en mayor medida, este es el principal responsable de la despolarización debido a que propicia una mayor permeabilidad de la membrana citoplasmática de la bacteria (Rodrigues *et al.*, 2020).



### 3.5.7. Orégano (*Origanum vulgare*).

**Tabla 4.** Taxonomía del Orégano (*Origanum vulgare*).

TAXONOMÍA	
<b>Reino</b>	Plantae.
<b>División:</b>	Magnoliophyta.
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida.
<b>Orden:</b>	Lamiales.
<b>Familia:</b>	Lamiaceae.
<b>Tribu:</b>	Mentheae.
<b>Género:</b>	<i>Origanum</i> .
<b>Especie:</b>	<i>Vulgare</i> .

Fuente: Schoch, (2020)

#### 3.5.7.1. Origen.

Su aparición es espontánea en Europa centra y Asia central, teniendo una gran producción en el norte de España, donde se encuentra formando rodales o matas aisladas en orillas de los arroyos, pendientes rocosas, el *Origanum vulgare* especie *vulgare* se extiendes desde Inglaterra, Escandinavia, Europa, Asia hasta Taiwán, el nombre genérico *Origanum* deriva del griego oros y ganos que significa adorno o alegría de la montaña, por su aspecto y aroma agradables cuando la planta está en flor y el nombre específico *vulgare*, indica la relativa facilidad con que la podemos encontrar en todas las partes del mundo (Concha, 2020).

#### 3.5.7.2. Descripción del *Origanum spp.*

El género *Origanum* se clasifico en tres grupos, 10 secciones, 38 especies, 6 subespecies y 17 híbridos, para ello se describen cuatro grupos comúnmente usados con propósitos culinarios/medicinales: el español (*Coridohymus capitatus* (L.) el griego (*Origanum vulgare spp.*) el turco (*Origanum onites* L.) y el

mexicano (*Lippia graveolens* Kunth), siendo que cada especie o variedad tiene la cantidad de metabolitos secundarios en dependencia del factor agroecológico presente en el medio que se desarrolla (Schoch, 2020).

El nombre “orégano” comprende alrededor de dos docenas de diferentes especies de plantas, que presentan un olor característicos a especioso, tiene uso en la actividad culinaria, en la fabricación de cosméticos, fármacos y licores, la Organización Mundial de la salud estima que cerca del 80 % de la población en el mundo usa extractos vegetales o sus compuestos activos como son los terpenoides, y en algunas otras actividades como la aromaterapia que era una terapia que se practicaba en la antigüedad en Egipto e India, en muchas otras actividades que presenta el orégano con la salud humana e animal (Sakkas & Papodopoulou, 2017).



**Figura 1.** Imagen del Orégano (*Origanum vulgare*).

Fuente: Mera, (2020).

### 3.5.7.3. Descripción botánica.

Es una planta herbácea, perenne rizomatosa en forma de un pequeño arbusto achaparrado de unos 45 cm a 90 cm de altura, toda la planta está cubierta de pelos glandulares, presenta tallos erectos de unos 90 cm, son ramificados en la parte superior, pubescente, hirsutos o vellosos, raramente glabros, presenta unas hojas de 10 - 40 x 4-25 mm, son ovaladas, ligeramente serradas, pilosas, punteado glandulosas y pecioladas, las flores dispuesta en espigas de verticilastros de 5-30

mm, son ovoides oblonga o prismática, formando en conjunto, una inflorescencia densa. Brácteas o hipsófilos (hojas de la proximidad de las flores) son diferente a las de las hojas, casi dos veces más largas que el cáliz, ovaladas u alongadas, no apiculadas, pilosas o glabras sin glándulas o ligeramente punteado glandulosas (Díaz, 2020).

#### **3.5.7.4. Hábitat ecológico.**

Habita en zonas de montañosas, orlas de bosques, prados o lindes, crece en terrenos de origen calizo, lomeríos, abanicos aluviales, llanuras con alto contenido de arcilla y terrenos arenosos, es una especie que se desarrolla en climas semi-cálidos húmedos, templados sub-húmedos y secos con lluvias escasas en veranos a una temperatura media anual entre los 17 y 22 °C y máximas de 45°C, con una altitud de 50 a 3100 msnm (Bucay, 2019).

#### **3.5.7.5. Estructura química.**

Muchos estudios hablan sobre la composición química del orégano, principalmente obteniendo extractos acuosos y aceites esenciales en los cuales el termino de “aceite esencial” fue utilizado por primer vez por Paracelso en el siglo XVI, quien nombre los componente efectivo de cada aceite esencial, los cuales tiene un alrededor de 500 compuestos incluyendo terpenos, terpenoides y compuestos alifáticos y aromáticos como aldehídos y fenoles, ya esto depende mucho de varios factores que incluyen a el medio ambiente, la composición del suelo y el método de cultivar, la estación, la región de la planta. (AEMPS, 2018)

Los aceites esenciales se producen a partir de la planta por medio de destilación, fermentación, trituración, extracción, hidrolisis y aireación. El mas utilizado es la destilación por arrastre de vapor, dentro de los compuestos químicos tenemos flavonoides como la apigenia y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano, también se encontró ácido coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzoico y vainillinico (Sakkas & Papodopoulou, 2017).

#### **3.5.7.6. Bioactividades.**

El Orégano y sus aceites esenciales en el uso es muy extenso, ya que tiene como ingrediente en formulación de cosméticos, perfumes, productos para el cuidado del cuerpo y cabello, soluciones orales antisépticas y pastas dentales, productos de limpiezas doméstica y ambientadora (Agexport., 2019).

En medicina se implementado el uso de aceites esenciales como un uso en la aromaterapia que ayuda en el alivio de síntomas con condiciones alérgicas y reumáticas, actividad revitalizantes y antiinflamatorias, incluso en los últimos años con la aparición de patógenos resistentes a los medicamento llama la atención sobre las propiedades antimicrobianas, debido a la gran cantidad biológica y derivados estructurales que constituyen una fuente única y renovables para el descubrimiento de nuevos antimicrobianos muy necesarios. El carvacrol presente en el aceite esencial del Orégano, es un componente volátil en especies del orégano, algunos estudios reportan que es el mayor constituyente natural 70 % de los aceites esenciales de las plantas aromáticas, cuyas acciones farmacológicas sugieren se deben a sus componentes presentes en el aceite. El carvacrol tiene diferentes actividades biológicas antimicrobianas, antioxidantes, antimutogénicas, antigenotóxicas, antihepatotóxicas y hepatoprotectoras (Bocángel, 2016).

#### **3.5.7.7. En la industria alimentaria.**

El orégano que se utiliza en la industria alimenticia tiene algunos usos como es de sazónador y bioconservante culinario, ya que contiene bioconservantes que tiene actividad inhibitoria fuerte, el reconocido principio aromático, incluso el orégano esta incluido en algunas recetas como es la salsa para pastas y pizzas siendo un ingrediente especialmente característico en la cocina griega e italiana, en el uso de condimentos de algunos productos cárnicos. También es una alternativa fitoterapéutica es la utilización del orégano en el que se puede destacar una acción digestiva, bacteriostáticas y antioxidante que se han evidenciados en estudios con el orégano, también se emplea como medio para obtener incremento en la eficiencia y palatabilidad en sistemas donde se utilicen subproductos y alimentos de escasos valor nutricional, que generalmente tienden a afectar el comportamiento animal (Kovačević *et al.*, 2021).

Se ha investigados el uso de enzimas digestivas suplementales para potenciar la producción animal ya que no se absorben y no dejan residuos en los productos animales, según (Sugiharto, 2016), reporta que el uso de orégano en aves aporta unas enzimas que ayudan a la digestión de los alimentos ya que sus principales compuestos en las dietas como el maíz y soya los cuales contienen polisacáridos no amiláceos, que son los que impiden la digestión normal y procesos de absorción de nutrientes en el tracto digestivo (Mera, 2020).

#### **3.5.7.8. Uso Medicinal.**

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales que se considera de actividad inhibitoria, ya que se debe principalmente a la presencia de compuestos fenólicos como el carvacrol, timol, eugenol, entre otros. Incluso los aceites con mayor actividad antimicrobiana son aquellos en con mayor proporción de compuesto fenólicos.

Se ha observado que los elementos traza también son relevantes debido a efectos de sinergia con el restos de componentes, la capacidad de los aceites esenciales para inhibir el crecimiento microbiano ha sido estudiada en gran variedad de productos como frutas y verduras mínimamente procesadas, carne picada, pollo, algunos estudios reportan que el orégano ha sido estudiado sobre principales microorganismos alterantes y patógenos presentes en el pescado, evaluando su actividad frente a bacterias aisladas de diferentes características de patogenicidad (Bocángel, 2016).

El aceite esencial del orégano se a estudiado como un buen antioxidante que puede definirse como una sustancia que cuando está presente a bajas concentraciones comparadas con la de un sustrato oxidable previene o retrasa significativamente la oxidación de sustratos, incluso algunos estudios reportan el uso potencia de inhibitorio de radicales ABTS fue mayor en los aceites esenciales que contiene fenoles como el timol y carvacrol siendo el aceite de orégano el mas importante con el 73% de timol (Casanova, 2019).

El aceite esencial del orégano en algunos estudios reporto que tiene actividad para controlar in vivo eficientemente el desarrollo de microorganismos endógenos en el trigo (*Triticum sp.*), se aprecia esa actividad gracias que se atribuido a la presencia

de compuestos aromáticos y grupos fenólicos como el eugenol y carvacrol en el aceite esencial de orégano (AEMPS, 2018).

En investigaciones del uso del aceite esencial del orégano contra bacterias Gram negativas, expresan que el aceite esencial de orégano utilizado en concentraciones de 100, 200 y 400 p.p.m no tuvo efecto significativo sobre el rendimiento de la canal del pollo, ni sobre la presencia de microorganismos entéricos ni las características fisicoquímicas de la carne, para ello no recomienda el uso de esas dosis por la vía de administración oral, donde nos expreso que se debería evaluar in vitro la actividad del aceite contra microorganismos patógenos (Gámez *et al.*, 2015).

#### **3.5.7.9. En la Cosmetología.**

El orégano es muy eficaz para el tratamiento para el acné y también en los casos de acné quística, el uso se realiza en forma de infusión o el uso de unguento con el aceite esencial, también en el uso para el cabello ya que trata eficazmente la caspa y la grasa, teniendo una función de tónico natural, alivia efectivamente los síntomas de picazón, dolor o sensación de ardor. En el uso de fabricación de perfumes ofrece incontables beneficios por sus bondades, como el aroma, calidades herbáceas y acogedora, la fragancia de orégano es particularmente potente, de igual maneta en el uso de mascarillas de orégano es muy beneficioso ya que es rico en vitaminas A, C, E, y K, que ayudan a estimular la producción de colágeno, a demás de unificar el tono de cutis, combatir algunas arrugas y líneas de expresión (AEMPS, 2018)

#### **3.5.7.10. En la producción animal.**

En los últimos años los aceites esenciales han tenido impacto en la producción animal, debido a que han demostrado ser una alternativa para reducir el uso de compuestos químicos, por ello se a establecido la utilización en la producción de pollos de engorda, con una idea de ayudar a la digestión y la ganancia de peso. También se implementado en la producción de pavos, ya que el orégano a incrementado la estabilidad de su carne cruda y cocida, produciendo una oxidación lipídica, en los sistemas de producción de cerdos reduce la emisión de gases, de bacterias coliformes fecales y bacterias anaeróbicas, en algunas cerdas en gestación reduce la mortalidad de sus lechones. (Concha, 2020)

En sistemas de producción de abejas se ha utilizado para el control de *Varroa destructor*. Y en los rumiantes la presencia de carvacrol p-cimeno, linalol, terpineno y timol, lo utilizan para disminuir las emisiones de metano en el rumen de las ovas, cabras y bovinos. Los sistemas de producción piscícolas el aceite esencial de orégano reduce el estrés oxidativo en los tejidos de los peces, incluso tiene beneficios de aumentar la respuesta del sistema inmune de los animales, también reportan en el aumento en la funcionalidad de la reproducción de diversas especies, con las altas producciones de antioxidantes presentes en los aceites esenciales del orégano, incluso puede aumentar la calidad seminal del semen fresco y sobre la resistencia de los espermatozoides al shock térmico durante el proceso de criopreservación (Casanova, 2019)

La combinación con otros aceites de otras plantas como la canela y pimienta para el aumento de la ganancia de peso o conversión alimenticia en aves y se reportaron un efecto positivo, bajando el uso de antibióticos en la producción (Concha, 2020).

### **3.5.8. Beneficios.**

La planta de orégano (*Origanum vulgare*) al ser empleada en recetas culinarias forman parte de la alimentación humana, los alimentos de origen vegetal se caracterizan por la presencia de metabolitos secundarios, entre los cuales se destacan los compuestos bioactivos y funcionales (Fukalava et al., 2021).

El orégano es una especie que se usa como condimento gastronómico y es apreciado por su función medicinal, adjudicándole beneficios como tónico, calmante, estimulante del apetito, entre otros, varias investigaciones han demostrado que tiene efectos benéficos en la salud de las personas (Crespo et al., 2014).

El orégano es una planta aromática originaria de Europa, cultivada en varias regiones del mundo, por lo que existen diferentes variedades con características propias, en el Ecuador tenemos una especie introducida y por sus características organolépticas es muy apreciada y consumida, sin embargo, de todas sus partes estructurales (raíz, hojas, tallo), las más utilizadas son las hojas tanto frescas como secas (Casanova, 2019).

La planta del orégano se encuentra cultivadas en huertos caseros que suplen las necesidades alimenticias y medicinales de las familias que la cultivan, usando el conocimiento ancestral, dentro de los beneficios se describe los siguientes;

- Es bueno para el sistema digestivo, en la medicina natural austriaca se utiliza las infusiones del orégano para el tratamiento de trastornos en el tracto gastrointestinal.
- Se puede utilizar para tratar catarros y dolores de garganta, es una planta medicinal muy beneficiosa para afecciones del aparato respiratorio debido a su efecto antiinflamatorio, analgésicos y antiséptico.
- Es antiinflamatorio, se a demostrado que un ingrediente activo en el orégano, conocido como beta-cariofilia (E-BCP), que puede ser útil contra trastornos como la osteoporosis y la arteriosclerosis.
- Tiene efecto antioxidante, la presencia de ácidos fenólicos y flavonoides le otorgan estas propiedades, además de prevenir la infección víricas.
- Propiedades antibacterianas, el aceite de orégano es un potente antimicrobiano, debido a que contiene un compuesto esencial llamado carvacol, puede incluso aniquilar al *S. aureus* resistente a la meticilina y otros antibióticos.
- Tiene efectos calmantes, puede utilizarse para calmar dolores menstruales, dolor de oído, dolores de muelas y dolores musculares.
- Uso tópico, en aceite esencial del orégano ayuda para tratar una serie de enfermedades de la piel como el acné y la caspa.
- El uso en producción animal, en los últimos años las investigaciones sobre el uso en la inclusión del orégano, se a obtenidos buenos resultados, como disminución del metano en rumiantes.

**Fuente:** Gallegos *et al.*, (2019).

#### **3.5.8.1. Parte de la planta empelada.**

Los aceites esenciales están presentes en casi todas las plantas, los géneros capaces de desarrollar los constituyentes presentes en un aceiten esencial, los cuales se pueden acumular en cualquier tipo de órgano vegetal, pero principalmente se encuentran en los componentes:



- Hojas
- Tallo

En algunos casos todos los órganos vegetales de la misma especie contienen aceites esenciales sin embargo su composición cualitativa y cuantitativa puede variar dependiendo de la localización de dichos órganos en la planta. La biosíntesis y la acumulación de moléculas aromáticas están normalmente asociadas con la presencia de estructuras histológicas especializadas (CNF, 2008).

### **3.5.9. Obtención del Aceite esencial.**

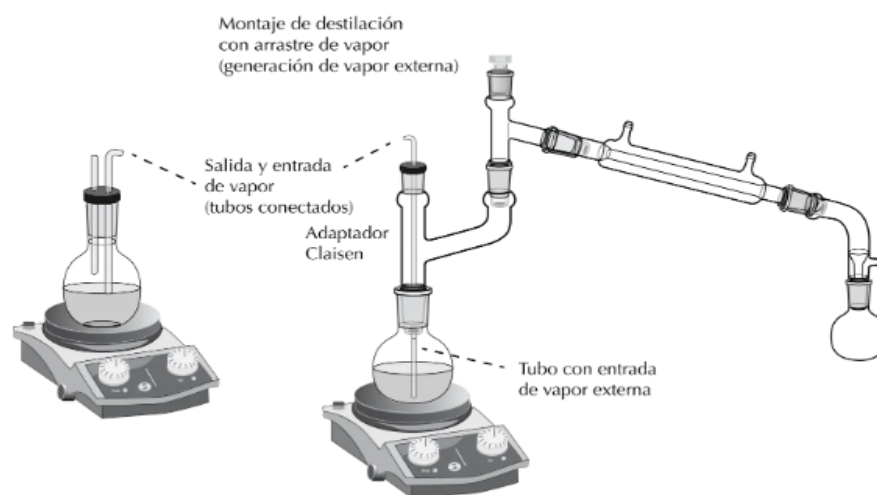
#### **3.5.9.1. Método de extracción de aceites esenciales.**

La elección del método de extracción del aceite esencial depende del estado original y de las características de la materia vegetal, la proporción de aceite esencial en la materia prima vegetal puede variar mucho en dependencia de las plantas y pueden oscilar entre un 0.015%, el método de extracción determina algunas características del aceite esencial, como la viscosidad, el color, la solubilidad, la volatilidad y pueden enriquecer o reducir la presencia de algunos componentes. En el caso del aceite esencial del orégano tiene una relación de 0.15 % - 1 %, siendo que las raíces contienen estaqueos y los tallos sustancias tánicas, para lo cual a continuación se detalla los métodos de extracción de aceite esenciales (AEMPS, 2018).

#### **3.5.9.2. Destilación por vapor.**

El aceite esencial se consigue al pasar el vapor a través de la materia prima vegetal en un equipo adecuado, el vapor puede proceder de una fuente externa o generarse hirviendo agua debajo de la materia prima o con esta dentro, el vapor de agua y los vapores del aceite se condensan y luego por decantación se separa el aceite esencial del agua, es una mezcla formada por dos líquidos inmiscibles (A y B), la presión de vapor total a una temperatura determinada es igual a la suma de las presiones de vapor que tendrían, a esta temperatura ambos componentes sin mezclar, es decir que cada componente ejerce su propia presión de vapor independiente, entre del otro, la mezcla hervirá hasta que la presión de vapor total sea igual a la presión externa (Casado, 2018).

La destilación por arrastre de vapor posibilita la purificación o el aislamiento de compuestos de punto de ebullición elevado mediante una destilación a baja temperatura (siempre inferior a 100 ° C), es una técnica de destilación muy útil para sustancias de punto de ebullición muy superior a 100 ° C, y que descomponen antes o al alcanzar la temperatura de su punto de ebullición (Gallego *et al.*, 2020).



**Figura 2.** Destilación por arrastre de vapor.

Fuente: (De Química, 2022).

### 3.5.9.3. Proceso mecánico.

Se consigue mediante un proceso mecánico, sin calentamiento, conocido normalmente como prensado en frío, se utiliza principalmente con los frutos de citrus e implica la expresión del aceite del pericarpio y su posterior separación por medios físicos, requiere de la aplicación de acción abrasiva a toda la superficie de la fruta bajo una corriente de agua, una vez eliminado los residuos sólidos, el aceite esencial se separa de la fase acuosa por centrifugado (AEMPS, 2018).

### 3.5.9.4. Características fisicoquímicas.

Entre las características de los aceites es que son volátiles, líquidas a temperatura ambiente, esto le diferencia de los aceites fijos, tienen algo de color y su densidad es por lo general menor que el agua, teniendo un índice de refracción alto y la mayoría desvían la luz polarizada, son solubles en lípidos y disolventes orgánicos comúnmente y pueden destilarse con vapor (Patiño *et al.*, 2017).

#### **3.5.9.5. Conservación y condiciones de almacenaje.**

Los operadores deben ser conscientes de la relativa inestabilidad de los constituyentes de un aceite esencial y tomar las precauciones que garantice la calidad del mismo, hay varias formas para identificar fácilmente los síntomas de degradación, ya que los aceites esenciales generan en el mercado una continua renovación de tecnología y optimización de las mismas en su producción (Palacios *et al.*, 2015).

Los aceites esenciales deben ser almacenado en lugares frescos, secos, protegidos totalmente de la luz y del calor, en botellas bien cerradas y selladas en las que no entre el aire, ya que los aceites esenciales se evaporan relativamente rápido así que nunca se debe dejar sin cerrar y guardar tras haber sido utilizados (Ceballos *et al.*, 2016).

Los aceites esenciales son más propensos a oxidarse, así que para evitar que su temperatura oscile continuamente es mejor dejarlos refrigerado a temperatura constante entre 5 y 10 °C, siendo así que se pueden solidificar a bajas temperaturas (Adelakun *et al.*, 2016).

## CAPÍTULO IV

### IV. MARCO METODOLÓGICO

#### 4.1. MATERIALES

##### 4.1.1. Lugar de investigación

La fase de campo empezó con la toma de las muestras en la finca “La felicidad” ubicada en la parroquia Ulpan, perteneciente a el cantón Chambo, de la provincia de Chimborazo. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio general de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar.

*Tabla 5. Especificaciones del lugar de la investigación*

<b>Criterio</b>	<b>Fase de campo</b>	<b>Fase de laboratorio</b>
<b>País</b>	Ecuador	Ecuador
<b>Provincia</b>	Chimborazo	Bolívar
<b>Cantón</b>	Chambo	Guaranda
<b>Parroquia</b>	Ulpan	Gabriel Ignacio Veintimilla
<b>Sector</b>	Km 6 via Ulpan-Chambo	Laguacoto, Vía Guaranda – San Simón Km 1 ½

Elaborado por: Hernández, (2023)

##### 4.1.2. Situación Geográfica del lugar de investigación

*Tabla 6. Situación Geográfica del lugar de investigación*

<b>Parámetros Geográficos de Ulpan</b>	
<b>Altitud</b>	2700 mnsn
<b>Latitud</b>	1°46'14"
<b>Longitud</b>	78°35'21"
<b>Temperatura máxima</b>	15° C
<b>Temperatura mínima</b>	0° C
<b>Precipitación media anual</b>	714 mm
<b>Humedad relativa (%)</b>	67.27 %

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, (2021).

### **4.1.3. Zona de vida**

De acuerdo con el sistema de clasificación de zonas de vida por Leslie Holdridge, menciona que el cantón Chambo corresponde a la formación Bosque alto Subalpino y un bosque Montano Bajo (B.h.m.b) (Holdridge, 1971).

De acuerdo con el sistema de clasificación de zonas de vida por Leslie Holdridge, menciona que el cantón Guaranda corresponde a la formación de Bosque húmedo Montano bajo (B.h.m.b) (Holdridge, 1971).

### **4.1.4. Material Experimental.**

- 20 aislados *Escherichia coli*.
- Aceite esencial de Orégano

#### **4.1.4.1. Equipos de laboratorio.**

- Cámara de flujo laminar (BIOBASE, BBS-H1800, China).
- Incubadora (Mettler, Alemania).
- Autoclave.
- Estufa (BIOBASE, BOV-V30F, China).
- Kit de destilación.
- Microscopio (Amscope, USA).
- Cuenta colonias (Amscope, USA).
- Refrigerador (BIOBASE, China).
- Vortex (DLab, MX-S, China)
- Micropipetas. (DLab, YM5D077650, China)
- Puntas de micropipeta.
- Balanza (OHAUS, Scout Pro SP 2001, China).
- Tubos de Ensayo
- Tubos eppendorf.
- Gradilla para tubos.

- Cajas Petri.
- Mechero de Bunzen.
- Calibrador de Vernier.
- Asas de siembra.
- Toallas estériles.
- Empaques para autoclave.
- Cinta testigo de autoclave.

#### **4.1.4.1.1. Reactivos**

- Agar Mueller Hinton (Difco, LOT: 0294294, USA).
- Discos de antibiograma de papel (OXOID, Lot. 3337882, Reino Unido)
- Agar MacConkey (Difco, LOT.9364856, USA).
- Agar EMB (Difco, LOT.0286056, USA).
- Rojo metilo (TM MEDIA, C.I.13020, India)
- Reactivo de Kovacs (LABO CHEMIE, Lot. LM11071813, India).
- Hidróxido de Potasio KOH.
- Alfa-naftol (Novachem, Ecuador)
- Agua peptonada (Acumedia, Lot.107596<sup>a</sup>, USA)
- California Mastitis Test (Life, Lot. 2101216, Ecuador)
- Discos de Enrofloxacin 5µg (Oxoid, Lot. 3443650, Reino Unido)

#### **4.1.4.2. Materiales de oficina.**

- Hojas de papel Bond.
- Libreta
- Computadora.
- Marcadores

- Impresora.
- Esferográficos.
- Celular

## 4.2. Métodos

### 4.2.1. Factores en estudio

- Tomando como referencia del principal objetivo planteado en esta investigación se pone en consideración “Analizar la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina”, Según Medrano *et al.* (2020) en su investigación de la actividad antimicrobiana del Orégano versus a cepas comerciales certificadas de *Escherichia coli*, propuesto las concentraciones del 100, 80, 40 y 20 %, de tal manera se propone en está investigación la utilización de 60,40 y 20% del aceite esencial del Orégano frente a las cepas de *Escherichia coli* de tipo silvestre aisladas de mastitis bovina.

**Tabla 7.** Factores considerados para la investigación.

<b>Factor A</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• a0: Disco de antibiótico de Enrofloxacin 5µg (Testigo)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• a1: Aceite esencial de Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) al 20%</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• a2: Aceite esencial de Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) al 40%</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• a3: Aceite esencial de Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) al 60%</li> </ul>
<b>Factor B</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• b1: aislados de <i>Escherichia coli</i>.</li> </ul>

**Elaborado por:** Hernández, (2023).

#### 4.2.2. Tratamientos

**Tabla 8.** Distribución de factores en estudio y su interacción (tratamientos).

TRATAMIENTO	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
T0	a0b1	Disco de antibiótico de Enrofloxacin 5µg + Cepa de <i>Escherichia coli</i> .
T1	a1b1	Aceite esencial de orégano al 20% + Cepa de <i>Escherichia coli</i> .
T2	a2b1	Aceite esencial de orégano al 40% + Cepa de <i>Escherichia coli</i> .
T3	a3b1	Aceite esencial de orégano al 60% + Cepa de <i>Escherichia coli</i> .

Experimental: Hernández, (2023).

#### 4.2.3. Especificaciones del experimento

Para la investigación se considero las siguientes características del experimento.

**Tabla 9.** las características del experimento:

<b>Tratamientos</b>	4
<b>Repeticiones</b>	20
<b>Número de Unidades experimentales (aislados)</b>	20
<b>Número total de análisis</b>	80

Experimental: Hernández, (2023).

#### 4.2.4. Tipo de diseño

- Diseño de bloques completamente al azar (DBCA); para ver el efecto de los tratamientos sobre las unidades experimentales con;

El siguiente modelo matemático;

$$Y_{ij} = \mu + Y_{BLOQUES} + t_i + t_j + \epsilon_{ij}$$

- Prueba de Tukey 5%, como comparativa entre las medias de los tratamientos propuestos en la presente investigación.



**Tabla 10. Análisis de Varianza (ADEVA)**

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total (t*r) -1	79
Tratamientos (t-1)	3
Bloques (repeticiones -1)	19
Error experimental (t-1) (t-r)	57

Experimental: Hernández, (2023).

#### 4.2.5. Métodos de evaluación y datos a tomarse

##### 4.2.5.1. Obtención del aceite esencial de orégano.

Esta variable se midió mediante el rendimiento del aceite esencial que tuvo relación con la cantidad de material vegetal (hojas) con la cantidad de aceite esencial obtenido, el rendimiento se calculo con la ayuda de la siguiente formula;

$$R = (M1/M2) * 100$$

**Donde:**

R: rendimiento

M1: Masa final del aceite esencial

M2: Masa inicial del follaje.

- **Parámetros bioquímicos.**

Son los análisis que permitieron generar un perfil diagnóstico para la identificación del agente bacteriano, esto se fundamenta básicamente en poner en manifiesto las rutas metabólicas y capacidad fermentativa utilizada para su nutrición, crecimiento y desarrollo por parte de *Escherichia coli* causante de mastitis bovina, en donde en la presente investigación se evaluó los perfiles IMVIC y TSI.

- **Prevalencia de casos.**

En la investigación se consideró la prevalencia de casos con mastitis, a demás la prevalencia de *Escherichia coli* como el patógenos en estudio ya que es causantes de mastitis con mayor prevalencia en los hatos lecheros

- **Concentración del aceite**

Índico la dosis proporcional de soluto (elementos fitofarmacológicos con acción bactericida) disuelta en una determinada cantidad de solvente; su indicador de medición fue determinado por las concentraciones del aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare*) al 60%, 40%, 20%, además, se analizó la CMI del aceite esencial de orégano al (1%, 2%, 2.5%, 3%, 5% y 10%).

- **Sensibilidad**

Esta variable permitió medir la capacidad de *Escherichia coli* de ser susceptible a la acción del aceite esencial de orégano partir de la exposición a una concentración generalizada; indiscutiblemente podemos evidenciar su ocurrencia mediante la medición de los halos de inhibición; en donde de manera interpretativa se considera:

Sensible (+)  $> 8 \text{ mm} \leq 14 \text{ mm}$

Muy Sensible (++)  $> 14 \text{ mm} \leq 19 \text{ mm}$

Sumamente sensible (+++)  $> 20 \text{ mm}$ .

- **Resistencia**

Esta variable ayudo medir la capacidad de *Escherichia coli* que tiene para resistir la interacción de los compuestos del aceite esencial de orégano con actividad antibacteriana, con el fin de inhibir el crecimiento o multiplicación o a su vez eliminarlo, el indicador de medición son los milímetros del halo de inhibición (mm), de manera interpretativa se considero; Resistente (-)  $\leq 8 \text{ mm}$

- **Determinación de compuestos volátiles por Cromatografía de gases (GC-MSD).**

Los compuestos volátiles del estraco de hojas orégano (*Origanum vulgare*) obtenido por destilación mediante la metodología de arrastre de vapor, fueron caracterizados por cromatografía de gases, acoplado a espectrometría de masas para la cuantificación de los compuestos volátiles del aceite esencial mencionado, principalmente son aquellos que le otorgan la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* causante de mastitis.

## **4.2.6. Procedimiento**

### **4.2.6.1. Obtención el aceite esencial de Orégano.**

- **Obtención del material vegetal**

Se observo primeramente la calidad del material vegetal, constatando las condiciones optimas para su procesamiento, posteriormente se adquirió 2 kg de material vegetal en el mercado en la ciudad de Riobamba, luego se procedió al procesamiento el cual consiste en someter a un proceso de lavado con agua destilada y secado a temperatura ambiente por un tiempo de 24 horas.

- **Separación del material vegetal**

Se procedió a separar las hojas de la porción ramificada de la planta, posteriormente se fraccionó disminuyendo el tamaño de partícula para colocarlas en un balón de destilación el total del material vegetal obtenido.

- **Extracción del aceite esencial**

Se utilizó la metodología de destilación de arrastre por vapor, una vez que el material vegetal se colocó en el balón del equipo de destilación, ensamblado se procede a ebulir a una temperatura aproximada de 100° C, dicho vapor arrastra la esencia de las hojas del orégano (*Oreganum vulgare*) este al pasar por el circuito de enfriamiento se condensa y se recolecta en un embudo de decantación, en donde se permite la separación de los diferentes sustratos obtenidos por su densidad.

- Para la extracción del aceite esencial de orégano se pesaron 500 gramos de hojas de orégano en una balanza analítica, posteriormente se coloco en el balón del equipo de destilación mediante arrastre por vapor, con 300 mL de agua destilada. continuando con el armado y montaje del equipo de destilación, el cual estuvo durante todo el tiempo de extracción a 100° C.

- Finalmente el aceite esencial se recolecto mediante el embudo de decantación.

- **Envasado**

Se procedió a envasar en frascos de 10 mL color ámbar para evitar la interacción de la luz solar con los compuestos volátiles contenidos en el aceite esencial.

#### 4.2.6.2. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*

- **Muestreo de la vaca positiva**

Inicialmente se sometió a exploración clínica la ubre en busca de hallazgos clínicos que pongan en manifiestos alteraciones anatómicas coincidentes con un cuadro inflamatorio, además como parte metodológica se estableció la detección de la mastitis por medio de la prueba diagnóstica California Mastitis test (CMT) la cual se desarrollo con la toma de muestra de cada cuarto estudiado que posteriormente se colocó sobre cada pocillo, añadiendo el reactivo del CMT “púrpura de bromocresol”, este tinte tinte las paredes de las células somáticas presente en la muestra analizada, este principio permite el diagnóstico subjetivo del grado de mastitis establecido en los cuartos mamarios muestreados respectivamente.

Una vez establecido el grado de mastitis considerado como positivo, se procede a la higienización del pezón, con una solución a base de yodo al 10% y alcohol 90 volúmenes, posteriormente se procedió a la recolección de las muestras siguiendo las recomendaciones descritas por NCM, (2017) este permite obtener mayor trazabilidad de las muestras obtenidas.

- **Preparación de medios de cultivo**

El agar MacConkey y agar EMB (Eosina azul de metileno) son los medios utilizados siendo medios de crecimiento selectivos y diferenciales, se utilizaron para el aislamiento y diferenciación de enterobacterias especialmente de *Escherichia coli* a partir de muestras positivas a mastitis bovina, Estos medios de cultivo contiene factores de crecimiento e inhibición como; el extracto de carne, lactosa, fosfato dipotásico, sacarosa, Eosina, gelatina digestiva pancreática, la peptona de carne, la tripteína, cristales de azul de metileno, etc. los cuales constituyen la fuente de energía, proteica, nitrógeno, vitaminas y minerales que promueven el desarrollo microbiano, los azúcares simples y carbohidratos son los compuestos fermentables, y el agar es el agente solidificante, para su preparación es imprescindible suspender 36 g del polvo en 1 litro de agua destilada.

Se dejó reposar por 5 minutos y se homogenizó la solución con agitación frecuente, posteriormente se sometió a ebullición durante un periodo de 1 minuto para lograr

disolver completa y homogéneamente, se continuó con la esterilización en autoclave a 121°C por un periodo de tiempo mínimo de 15 minutos. Finalmente se debe dejar reposar hasta enfriar para poder colocar la cantidad necesaria en las cajas Petri a utilizar.

Una vez obtenidos las cajas con los medios de cultivo solidos, se procedió a la siembra y su purificación por triple estriado, para el crecimiento bacteriano uniforme y homogéneo sin evidencia de diferenciación para su posterior análisis de identificación.

- **Identificación del *Escherichia coli*.**

Se estableció un proceso de identificación desde su morfología de las colonias, presentes en un medio específico, también tinción de Gram y pruebas bioquímicas. A continuación, se detallará cada de las pruebas.

La morfología de la colonia del *Escherichia coli*, son colonias de 2 a 4 mm de diámetro, con un centro de color oscuro en agar EMB, con una característica de color verde brillante metálico, en el agar MacConkey son de color roja con un halo turbio (Antanaitis *et al.*, 2021).

Unas de las pruebas fenotípicas utilizadas para la identificación de *Escharichica coli* es la tinción de Gram, la cual consiste en;

- En primer lugar se empieza con la esterilización del asa de siembra.
- Se tomó una porción de colonias con el asa de siembra estéril.
- Se colocó en un portaobjeto suspendiendo en una gota de agua destilada, la cual se fijo con la ayuda del mechero de bunsen.
- Se procedió a la colocación de unas gotas de cristales de violetas y se esperó por un lapso de 1 minuto.
- Se colocó unas gotas de Lugol de igual manera por un periodo de tiempo de 1 minuto.
- Posteriormente se realizó un proceso de enjuague con agua destilada del sobrenadante de los colorantes presentes en la placa portaobjeto y secando con una toalla absorbente para eliminar el exceso de agua.

- Con la finalidad de retirar el exceso de colorante, se procedió a la colocación de una gota de alcohol cetona por un tiempo de 30 segundos, luego se enjuaga con agua destilada, este procedimiento se realiza con la finalidad de reducir la observación de artefactos en la observación.
- La placa que se ha desarrollado la tinción con los dos colorantes iniciales se colocó unas gotas de Safranina y se procedió a cuantificar cronométricamente un lapso de tiempo de 3 minutos.
- Finalmente se retiró el sobrenadante del último colorante utilizado y se colocó una gota de aceite de inmersión para permitir la observación al microscopio con el objetivo de 100 X

Las pruebas bioquímicas son aquellas que ponen en evidencia la existencia de una enzima o pasos metabólicos determinados, a continuación se detalla:

- Prueba de oxidasa; se fundamenta en la exhibición de la enzima citocromo oxidasa, la cual en las enterobacterias como la *E. coli* son excepcionales por ser oxidasa negativos.

Perfiles IMVIC: esta comprendido por cuatro perfiles; Indol, Rojo Metilo, Voges Proskauer y Citrato, para su aplicación se uso medios nutritivos como el agua peptona, caldo MR-vP y agar citrato de Simmons, los cuales fueron empacados en tubos en el siguiente orden;

- Tubo con 5 mL de agua peptona (Indol).
- Tubo con 5 mL de caldo MR-vP (Rojo Metilo).
- Tubo con 5 mL de caldo MR-vP (Voges-Proskauer).
- Tubo con 5 mL con agar citrato de Simmons (inclinarse hasta solidificar).

Concluida la preparación de estos medios se inocularon con una porción de colonia extraída de un medio de cultivo purificado, finalizando este procedimiento con la introducción de los tubos inoculados a la incubadora por un periodo de 24 horas a 37 °C.

- **Indol:** Este ensayo es mediado por la utilización del reactivo de Kovacs, del cual se colocaron de 3 a 5 gotas en el tubo de agua peptona el cual tenía 24 horas

previas de incubación, se esperó un lapso de 10 a 20 minutos hasta que la reacción en el medio sea evidente con la formación de un anillo de color rojo cuando es positivo (+) y amarillo cuando es negativo (-) a la producción de Indol.

- **Rojo Metilo:** Al tubo que contiene caldo MR-vP inoculado se colocaron de 3 a 5 gotas del reactivo rojo de metilo, posteriormente se deja transcurrir un periodo de 3 a 5 minutos para observar el cambio de color del medio, debido a los cambios en el pH del medio, siendo considerado el color rojo como positivo (+) en aquellos medios ácidos y negativo (-) la coloración amarilla o ninguna.
- **Voges-Proskauer:** Cronológicamente se utiliza alfa naftol al 6% y KOH al 40% en el tubo con caldo MR-vP inoculado, con la finalidad de observar si metabólicamente la bacteria tiene una ruta butanodiólica la cual oxida la acetoina en diacetilo, es considerado positivo (+) cuando el caldo se torna de una coloración roja y negativo (-) cuando se torna de una coloración amarilla.
- **Citrato:** Luego de transcurrido el tiempo de incubación del medio previamente sembrado, se observa si ocurrió el cambio de coloración del medio, en donde metabólicamente se logra diagnosticar aquellos patógenos que utilizan al citrato para transformarlo en fosfato de amonio, amoniaco e hidróxido de amonio, los cuales son metabolitos alcalinizantes que logran cambiar de coloración el medio citrato Simmons, siendo considerado positivo (+) cuando el medio a cambiado de color verde a azul y negativo (-) no se observa ningún cambio.

Dentro de los ensayos diagnósticos de las pruebas bioquímicas se contemplo la prueba Triple Sugar Iron (TSI), la cual básicamente permite identificar la fermentación de azúcares, la producción de gas y ácido sulfhídrico en patógenos Gram-negativas como la *Escherichia coli* que prácticamente es positivo en fermentar los azúcares, producción de gas y negativa en producir ácido sulfhídrico.

- Principalmente se inicia con la preparación del medio de cultivo, siguiendo las recomendaciones del fabricante.
- Se colocó 5 mL en tubo de ensayo de tapa rosca, el cual se dejó solidificar de manera inclinada.

- la inoculación básicamente tiene las características de que se realizó con picada en el fondo y estriado en la superficie inclinada del agar.
- Posteriormente se procedió a la incubación por un tiempo 24 horas a 37 °C.
- Finalmente se observó los resultados obtenidos donde se contemplar;
  - a) Coloración amarilla en la parte central indica la utilización de glucosa; coloración amarilla del bisel indica la fermentación de la lactosa y sacarosa, generalmente todo el medio se vuelve ácido.
  - b) Coloración amarilla en la parte central indica la utilización de la glucosa, bisel de coloración roja indica que la bacteria no es capaz de fermentar el medio con la utilización de lactosa y sacarosa.
  - c) Coloración roja en la parte central y consecuentemente del bisel indica que la bacteria no es capaz de fermentar el medio ni de utilizar ningún azúcar presente.
  - d) La formación de burbujas o fracturación del medio indica la capacidad de producir gas por parte del patógeno.
  - e) El color negro en el medio indica la producción de ácido sulfhídrico.

#### **4.2.6.3. Establecimiento la susceptibilidad de *Escherichia coli*.**

- **Inoculación en caja Petri**

Inicialmente para el establecimiento de la susceptibilidad se preparó agar Müeller-Hinton en las cajas Petri, en las cuales se sembraron la bacteria una vez ajustada la escala McFarland 0.5 con la ayuda de un hisopo estéril se inoculó la caja sembrando sobre toda la superficie del medio, de manera continua y ceñida con una población aproximada de  $1 \times 10^8$  UFC/mL.

- **Dilución del aceite esencial del orégano**

En la presenta investigación se realizó la dilución del aceite esencial mediante la ayuda de un disolvente (Dimetilsulfóxido), para llegar a la concentración del 60%, 40% y 20 % se realizó de la siguiente forma;

- 60 %: Se tomó 600  $\mu$ L de aceite esencia de orégano y se mesclará con 400  $\mu$ L de Dimetilsulfóxido, esto se hizo en proporción a la unidad (1 mL).



- 40 %: Se tomó 400  $\mu$ L de aceite esencia de orégano y se mesclará con 600  $\mu$ L de Dimetilsulfóxido, esto se hizo en proporción a la unidad (1 mL).
- 20%: Se tomó 200  $\mu$ L de aceite esencia de orégano y se mesclará con 800  $\mu$ L de Dimetilsulfóxido, esto se hizo en proporción a la unidad (1 mL)..
- La CMI: se realizó de la misma forma, por consiguiente se plantea determinar con la concentración que mantenga halos  $\geq 9$  mm de diámetro del halo inhibición, donde se estudio las concentraciones del 1%, 2%, 2.5%, 3%, 5% y 10% del aceite esencial.
- **Aplicación de los discos impregnado del aceite esencial.**

Posteriormente a la inoculación de las cajas Petri con las cepas bacterianas en estudio, con el uso de una pinza estéril se procedió a la colocación de los discos de papel filtro de celulosa impregnados en aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare*) a una distancia mínima aproximada de 15 – 20 mm entre disco, y 1,5 cm desde el borde la caja Petri, ya finalizado este proceso se introdujeron las cajas Petri inoculadas y con sus respectivos discos a la incubadora a 37 °C por un lapso de 24 a 48 horas.

- **Medición de los halos de inhibición**

Con el fin de saber la susceptibilidad de las cepas bacterianas en estudio al aceite esencial de Orégano (*Oreganum vulgare*), posteriormente de haber sido inoculadas en una caja Petri, aplicadas los discos de inhibición e incubadas por 24 horas, se midió los halos de inhibición del crecimiento en las cajas Petri.

**Tabla 11.** Escala general de sensibilidad de un Fitofármaco

Inhibición	Diámetro del halo de inhibición (mm)
Nula	(-) $\leq 8$ mm
Sensible	(+) $> 8$ mm $\leq 14$ mm
Muy Sensible	(++) $> 14$ mm $\leq 20$ mm
Sumamente sensible	(+++) $> 20$ mm

Fuente: Duraffourd *et al*, (1987).

## CAPÍTULO V

### V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

#### 5.1. Rendimiento del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*).

*Tabla 12. Resultados de la extracción del aceite esencial de orégano.*

Mat	P.g	Sol H <sub>2</sub> O	T. ex.	T°C	V. ext.	Repeticiones	Promedio
Hojas	500	300	6	100	4.2	R1	<b>4.22</b>
	500	300	6	100	3.9	R2	
	500	300	6	100	4.1	R3	
	500	300	6	100	4.5	R4	
	500	300	6	100	4.4	R5	

*Mat: Material vegetal, P.g: peso en gramos, Sol: solvente, T.ex.: tiempo de extracción, TC: temperatura, V.ext.: volumen extraído.*

Mediante el análisis de los resultados en la obtención del aceite esencial considerado para realizar procedimientos de actividad antimicrobiana y CMI, se obtuvo en promedio 4.22 mL de aceite esencial por cada 500 g de material vegetal.

*Tabla 13. Resultados del rendimiento del aceite esencial.*

Muestra	Hojas
Peso g	500
Aceite esencial	4.22
Rendimiento %	0.84

**Elaborado por:** Hernández, (2023).

En la tabla 13 se muestra los resultados obtenidos del rendimiento del aceite esencial de orégano mediante la destilación por arrastre de vapor el cual obtuvo un rendimiento de 0.84%. Al comparar con Ortega, (2015) en su investigación de la extracción del aceite esencial de orégano por destilación de arrastre de vapor obtuvo un rendimiento de 1.08% para la variedad *Marú*, siendo valores ligeramente mayores a los obtenidos en la presente investigación, evidenciado que estos valores se encuentran sujetos a variabilidad y están en dependencia de factores como la variedad y la zona agroecológica.

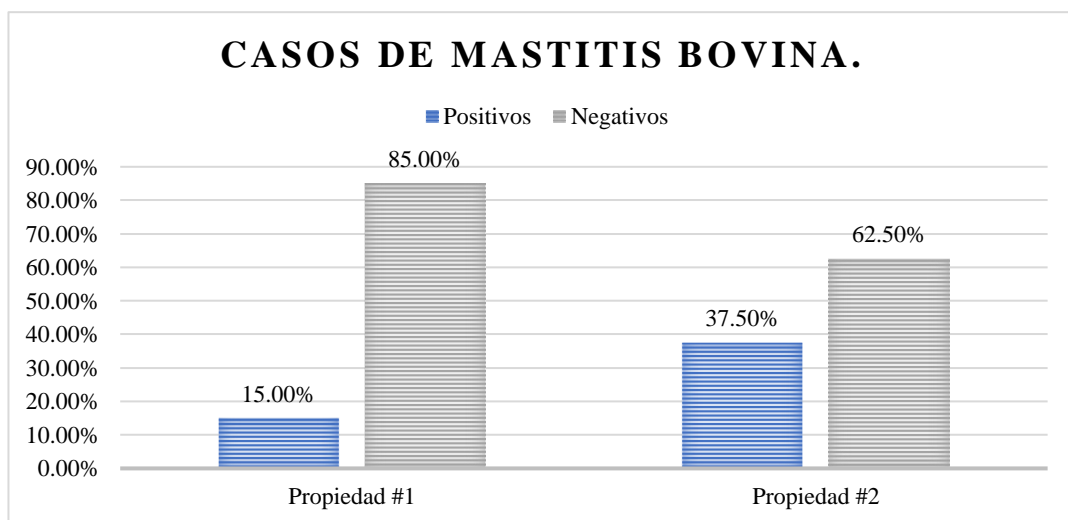
## 5.2. Prevalencia de casos de mastitis.

**Tabla 14.** Prevalencia de la mastitis bovina.

Propiedad	Número de Animales	Casos Positivos	Casos Negativos	Prevalencia
Finca la felicidad 1	40	6	34	15 %
Finca la felicidad 2	40	15	25	37.5 %
<b>Total</b>	80	21	59	<b>26.25 %</b>

Elaborado por: Hernández, (2023).

La prevalencia total de la mastitis en las dos propiedades se expresa en un 26.25 % (n=21), demostrándonos que la hacienda La Felicidad 1 obtuvo el 15 % (n=6) de prevalencia de mastitis bovina mientras que la propiedad La Felicidad 2 obtuvo el 37.5 % (n=15) de prevalencia.



**Figura 3.** Porcentaje de casos de mastitis bovina.

Al comparar con Guzñay, (2021) en su investigación de diagnóstico microbiológico de mastitis bovina en el cantón Chambo obtuvo una prevalencia de 58.33% de mastitis bovina aplicando CMT como prueba diagnóstica, también Proaño & Vásquez, (2013) en su investigación de determinación de mastitis bovina mediante CMT y otros pruebas diagnóstica obtuvo una prevalencia de 21.40% (n=6) de un total de 28 vacas analizadas, concluyendo que la prevalencia de la mastitis bovina están en dependencia de la zona de desarrollo de la actividad lechera y de muchos factores, uno de ellos es el manejo sanitario aplicado en las producciones.

### 5.3. Resultados de la identificación.

De los 21 animales positivos a mastitis bovina mediante california mastitis test (CMT), se recolectaron 28 muestras de los diferentes cuartos mamarios de las vacas positivas para su posterior análisis, donde se utilizó el agar MacConkey y EMB como medios selectivos y diferenciales exclusivos para enterobacterias, las cuales se identificaron mediante pruebas bioquímicas.

**Tabla 15.** Resultado de los perfiles IMViC

Perfiles IMViC						Perfiles TSI			
#	Código	I	RM	VP	C	Glu	Lac/sac	Gas	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
1	F1001	+	+	-	-	+	+	+	-
2	F1002	Sin crecimiento							
3	F1003	+	+	-	-	+	+	+	-
4	F1004	+	+	-	-	+	+	+	-
5	F1005	Sin crecimiento							
6	F1006	+	+	-	-	+	+	+	-
7	F1007	+	+	-	-	+	+	+	-
8	F1008	Sin crecimiento							
9	F1009	+	+	-	-	+	+	+	-
10	F1010	Sin crecimiento							
11	F1011	+	+	-	-	+	+	+	-
12	F1012	+	+	-	-	+	+	+	-
13	F2001	+	+	-	-	+	+	+	-
14	F2002	+	+	-	-	+	+	+	-
15	F2003	+	+	-	-	+	+	+	-
16	F2004	+	+	-	-	+	+	+	-
17	F2005	Sin crecimiento							
18	F2006	+	+	-	-	+	+	+	-
19	F2007	+	+	-	-	+	+	+	-
20	F2008	Sin crecimiento							
21	F2009	+	+	-	-	+	+	+	-
22	F2010	Sin crecimiento							
23	F2011	+	+	-	-	+	+	+	-
24	F2012	+	+	-	-	+	+	+	-
25	F2013	+	+	-	-	+	+	+	-
26	F2014	Sin crecimiento							
27	F2015	+	V	+	+	No realizado			
28	F2016	-	V	+	+	No realizado			
<b>Total</b>		18 confirmadas como <i>Escherichia coli</i>							

I: indol, RM: Rojo Metilo, VP: Voges Proskauer, C: citrato/ Glu: Glucosa, Lac/sac: Lactosa/Sacarosa, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Ácido Sulhídrico

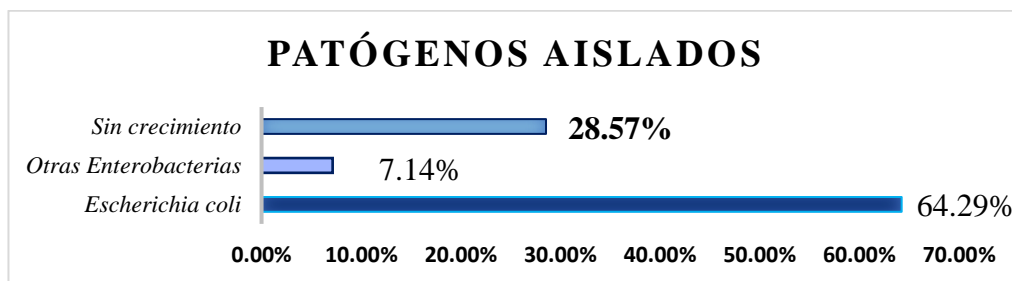
### 5.3.1. Prevalencia de la identificación de los patógenos aislados.

**Tabla 16.** Prevalencia de patógenos aislados.

Patógeno	Frecuencia	Porcentaje
<i>E. coli</i>	18	64.29 %
Otras Enterobacterias.	2	7.14 %
Sin crecimiento	8	28.57 %
<b>Total</b>	28	100 %

**Elaborado por:** Hernández, (2023).

De un total de 28 muestras, se aislaron e identificaron 18 cepas de *Escherichia coli* lo que corresponde al 64.29 %, mientras que 2 (7.14%) cepas aisladas pertenecen a otra clase de enterobacterias y finalmente el 28.57 % (n=8) no evidenciaron crecimiento ya que los agares utilizados permitieron inhibir el crecimiento de otro género no relacionado a las enterobacterias.



**Figura 4.** Porcentaje de patógenos aislados.

Al comparar con Guzñay, (2021) en su investigación de diagnóstico microbiológico de mastitis bovina en el cantón Chambo aisló un 30% bacterias bacilo Gram negativo, mientras que Bonifaz & Conlago, (2016) aisló e identificó en un 13% a *Escherichia coli* en la primera fase, mientras que en la segunda fase obtuvo un 40% quien menciona que estos coliformes son causantes de mastitis ambiental, interpretando que el agente etiológico mencionado se presenta cuando existe déficits de higiene en el entorno y las ubres, ya que es la principal puerta de entrada para establecer un cuadro de mastitis, concordando con lo antes mencionado ya que se evidencian limitaciones higiénicas en el momento del ordeño.

#### 5.4. Actividad antimicrobiana de los tratamientos propuestos.

**Tabla 17.** Análisis de varianza (DBCA) de la actividad antimicrobiana de los tratamientos propuestos.

Fuente	G.L.	S.C	C.M.	F-Valor	Pr. F.	
<b>Tratamientos</b>	3	18888.63	6296.21	2234.47	<.0001	**
<b>Repeticiones</b>	19	180.73	9.512	3.38	0.0002	**
<b>Error</b>	57	160.61	2.81	C.V.: 4.14%		
<b>Total</b>	79	19229.98				

\*\*: Efecto Estadístico Altamente significativo, C.V.: coeficiente de variación

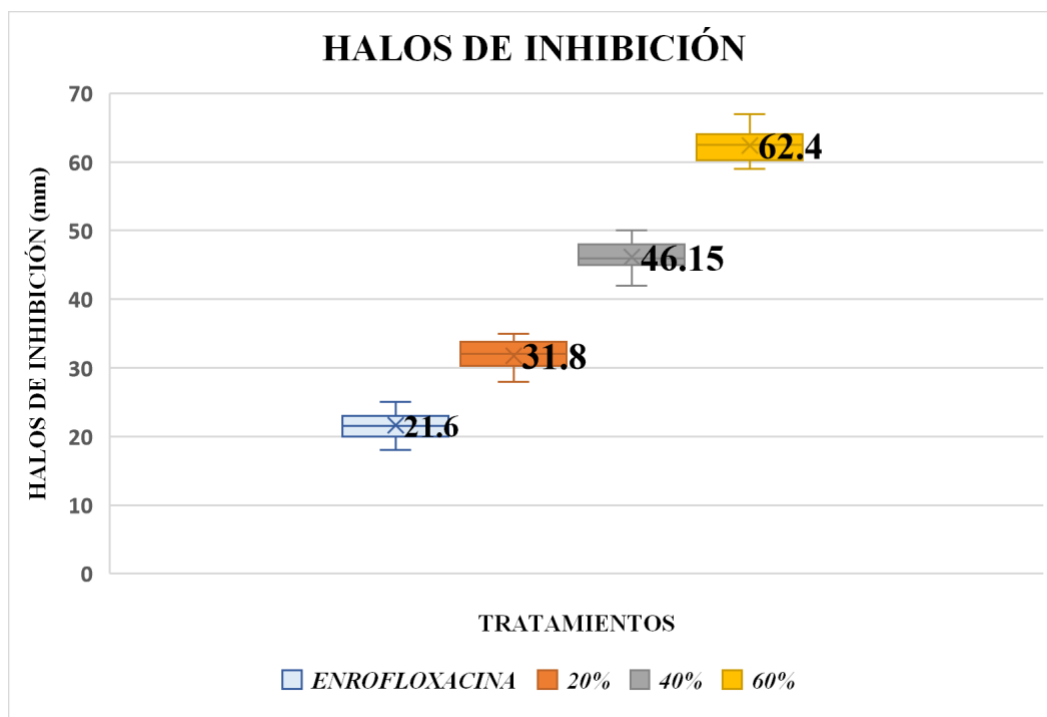
De acuerdo a el análisis de varianza, la prueba de Fisher nos expresa que por parte de los tratamientos existió un efecto estadístico altamente significativo, manifestando que los tratamientos tiene distinto efecto inhibitor, mientras que las repeticiones de igual manera se manifestó un efecto altamente significativo, es decir que el comportamiento de las unidades experimentales fueron diferentes al interactuar con los tratamientos, esto con un coeficiente de variación de 4.14% dándonos aceptabilidad y confiabilidad en los datos obtenidos en la investigación.

**Tabla 18.** Prueba de Tukey 5% de los tratamientos planteados.

Tratamiento	Media	Tukey Agru.
T3 (60%)	62.40	A
T2 (40%)	46.15	B
T1 (20%)	31.80	C
T0 (5µg Enrofloxacin)	21.60	D

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5%, nos expresa que los promedios de los tratamientos son estadísticamente diferentes, siendo que el T3 (60%) obtuvo el mayor promedio del diámetro del halo de inhibición con 62.40 mm, siguiéndole el T2 (40%) con 46.15 mm, el T1 (20%) con una media de 31.80 mm de halo de inhibición y finalmente, el promedio mas bajo lo obtuvo el T0 (5µg de Enrofloxacin) con una media 21.60 mm de diámetro del halo de inhibición.

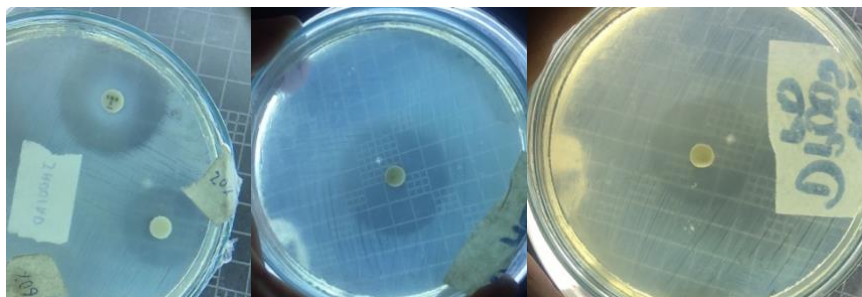


**Figura 5.** Diagrama de caja y bigotes del diámetro del halo de inhibición de los tratamientos propuestos.

Según Yerren & Salazar, (2021) en su investigación del efecto antibacteriano del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, donde evaluó la concentración del 50 y 100 % expresando medias de 11.68 mm y 15.28 mm del diámetro del halo de inhibición. Así mismo Llanos, (2022) en su investigación del efecto antimicrobiana del orégano y romero frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 a las concentraciones del 50, 75 y 100 % obtuvieron promedios en los halos de inhibición de 11.1mm, 16.2 mm y 21.9 mm respectivamente, siendo datos menores a los obtenidos en la presente investigación.

Mientras que Medrano & Medrano, (2020) en su investigación en el uso del aceite esencial de orégano como antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 a las concentraciones del 100, 80, 40 y 20 % obtuvo promedios en los halos de inhibición de 12 mm, 15,7 mm, 9.3 mm, 8 mm respectivamente, siendo resultados menores a los obtenidos en la presente investigación, presumiblemente estos hallazgos se deban a la distinción en los patotipos de *E. coli* y a la naturaleza de las diluciones de los extractos en cada investigación respectivamente.

Para obtener un resultado confiable se procedió a colocar un solo disco a una sola concentración en estudio, como se observa en la figura 6 la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano por el método difusión de disco.



**Figura 6.** Actividad antimicrobiana por el método difusión de disco de los tratamientos planteados.

Observando desde la primera fotografía a la izquierda el disco con Enrofloxacin 5µg (testigo) y un disco con la concentración del 20 %, seguido en la fotografía de en medio un solo disco a la concentración del 40 % y finalmente en la fotografía del lado derecho observamos un solo disco a la concentración del 60 %.

#### 5.4.1. Análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de la enrofloxacin frente a *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina.

Para el análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de la enrofloxacin frente a *Escherichia coli*, se realizó la comparación con los puntos de corte establecido por el CLSI, (2020) donde es considerado como resistente halos de  $\leq 16$  mm, intermedio 17 – 22 mm y sensibles halos de  $\geq 23$  mm, para lo cual en la siguiente tabla se detalla el porcentaje susceptibilidad antimicrobiana.

**Tabla 19.** Susceptibilidad antimicrobiana de la Enrofloxacin frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.

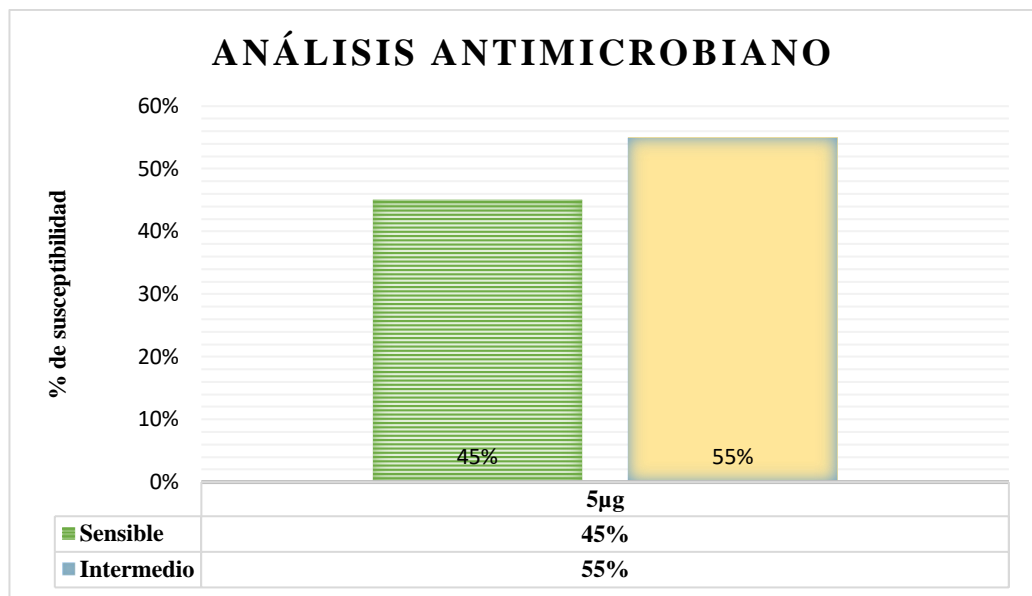
Criterio	S		I		R	
	Fre.	%	Fre.	%	Fre.	%
Guía CLSI	9	45	11	55	0	0

S: sensible, I: intermedio, R: resistentes.

Elaborado por: Hernández, (2023).



Mediante el análisis de la susceptibilidad antimicrobiana, podemos ver que solo el 45% (n=9) son sensibles a 5 µg de enrofloxacin y el 55% (n=11) presentaron una resistencia intermedia a dicha concentración. En la figura 7 se encuentra los porcentajes respectivos del análisis de susceptibilidad antimicrobiana de Enrofloxacin frente a *E. coli* aisladas de mastitis bovina.



**Figura 7.** Susceptibilidad antimicrobiana de Enrofloxacin frente a *E. coli* causante de mastitis bovina.

Al comparar con Sánchez, (2018) en su investigación de resistencia antibiótica de los agentes causales de mastitis bovina, donde evidenció que *Escharichia coli* frente a Enrofloxacin (5µg) expresó un 75 % (n=6) de sensibilidad y un 25 % (n=2) resistencia intermedia, siendo datos diferentes a los encontrados en la investigación.

Así mismo Ayala, (2019) en su investigación aisló *Escherichia coli* = 6 (24%) donde evaluó la sensibilidad antimicrobiana las cuales presentaron el 100 % de sensibilidad a 5 µg de Enrofloxacin, siendo datos diferentes a los obtenidos en la presente investigación.

También (Franco, 2020) en su investigación de perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias causante de mastitis aisló *Escharichia coli*= 11 (7.7%) donde evidenció que el 100 % fueron sensibles a 5 µg de Enrofloxacin, dichos valores son muy variables ya que la variable de susceptibilidad está en dependencia de la exposición a los antibióticos usados para tratar dicha patología.

**5.5. Análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina.**

**Tabla 20.** Análisis de varianza (DBCA) de la CMI del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Escherichia coli* causante de mastitis bovina.

Fuente	G.L.	S.C	C.M.	F-Valor	Pr. F.	
<b>Tratamientos</b>	5	6288.07	1257.61	846.78	<.0001	**
<b>Repeticiones</b>	19	52.75	2.77	1.87	0.0256	*
<b>Error</b>	95	141.09	1.48	C.V.: 11.57%		
<b>Total</b>	119	6481.92		R <sup>2</sup> : 0.97		

\*\**: Efecto Estadístico altamente significativo, \**: Efecto Estadístico significativo, C.V: coeficiente de variación.**

De acuerdo a el análisis de varianza del (DBCA), la prueba de Fisher nos expresa que la interacción a nivel de los tratamientos existió un efecto estadístico altamente significativo, manifestando que los tratamientos tienen distinto efecto inhibitorio. Mientras que en lo que concierne a las repeticiones de igual manera se manifestó un efecto significativo, es decir que el comportamiento de las unidades experimentales fue diferente, con un coeficiente de variación de 11.57% dándonos aceptabilidad y veracidad en los datos obtenidos en la investigación.

**Tabla 21.** Análisis de Tukey 5% para la CMI.

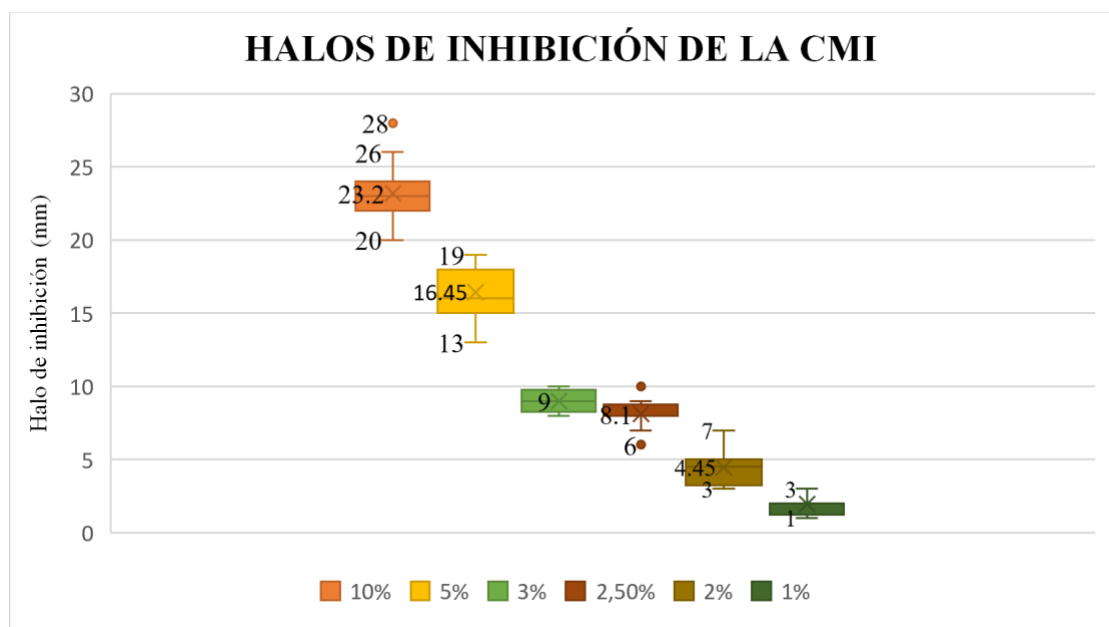
Tratamiento	Media	Tukey Agru.
(10%)	23.20	A
(5%)	16.45	B
(3%)	9.00	C
(2.5%)	8.10	C
(2%)	4.45	D
(1%)	1.95	E

*Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.*

La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano frente a *Escherichia coli* causante de mastitis bovina, se evidenció que al utilizar diluciones con una concentración del 3 % de aceite esencial se obtuvieron promedios en el diámetro del halo de inhibición de 9 mm siendo considera como sensible según Duraffoud, (1897), mientras que la concentración del 2.5 % los ensayos ostentaron promedios de 8.10 mm.

Las concentraciones superiores a las antes mencionadas exhibieron promedios de 16.45 mm y 23.20 mm a la concentración 5 % y 10 % respectivamente, siendo valores muy aceptables para inhibir el crecimiento de dicha bacteria en estudio, al comparar la concentración del 10 % del aceite esencial de orégano con la Erofloxacina, se observo que el aceite esencial a la concentración mencionada presentó mayor promedio en los halos de inhibición que dicho antibiótico.

Al mencionar las concentraciones de 2 % y 1 % concluyentemente se evidenció que expresaron promedios de 4.45 mm y 1.95 mm respectivamente, siendo considerados como insuficientes para inhibir el crecimiento de *Escharichia coli* causante de mastitis bovina. En la figura 8 se ilustra con un diagrama de caja y bigotes los resultados obtenidos en cada unos de los tratamientos aplicados.



**Figura 8.** Halos de inhibición de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano.

**Elaborado por:** Hernández, (2023).

Al comparar con Contreras, (2017) en su investigación del efecto sinérgico del aceite esencial de orégano con ciprofloxacina frente a *E. coli* ampicilino-resistentes, obtuvo que a la concentración del 5% y 10% exhibió promedios de halos de inhibición de 11.70 mm y 10.62 mm respectivamente, estableciendo que la CMI necesaria para inhibir el crecimiento del patógeno mencionado fue del 5%, siendo datos menores a los encontrados en la presente investigación ya que la CMI del aceite esencia de orégano se estableció en la concentración del 3%.

### 5.5.1. Análisis de la escala de sensibilidad de las concentraciones usadas en la CMI del aceite esencial de orégano frente a *Escherichia coli*.

Los resultados obtenidos de la CMI fueron comparados con la escala de sensibilidad descrita por Duraffoud, (1897) para un aceite esencial, donde mediante las concentraciones analizadas se detallan la actividad que presentaron.

**Tabla 22.** Análisis de la escala de sensibilidad de la CMI.

Número	Código	10 %		5 %		3 %		2.5 %		2 %		1 %	
1	F1001	23	+++	16	++	10	+	8	-	6	-	3	-
2	F1003	26	+++	16	++	8	-	8	-	5	-	2	-
3	F1004	24	+++	15	++	9	+	8	-	4	-	2	-
4	F1006	28	+++	19	++	10	+	8	-	3	-	1	-
5	F1007	23	+++	13	++	9	+	8	-	3	-	2	-
6	F1009	22	+++	15	++	8	-	7	-	3	-	1	-
7	F1011	21	+++	14	+	8	-	10	+	5	-	2	-
8	F1012	24	+++	17	++	9	+	9	+	5	-	2	-
9	F2001	24	+++	19	++	10	+	8	-	4	-	1	-
10	F2002	22	+++	15	++	9	+	6	-	3	-	2	-
11	F2003	22	+++	18	++	10	+	8	-	4	-	2	-
12	F2004	24	+++	17	++	9	+	10	+	5	-	2	-
13	F2006	23	+++	15	++	9	+	9	+	5	-	2	-
14	F2007	21	+++	16	++	9	+	7	-	5	-	1	-
15	F2009	25	+++	18	++	10	+	9	+	3	-	1	-
16	F2011	20	++	16	++	9	+	8	-	5	-	3	-
17	F2012	21	+++	15	++	8	-	7	-	4	-	2	-
18	F2012	22	+++	19	++	9	+	8	-	6	-	3	-
19	F2013	24	+++	17	++	8	-	8	-	7	-	3	-
20	F2013	25	+++	19	++	9	+	8	-	4	-	2	-

+++ : Sumamente sensible, ++ : Muy sensible, + : Sensible, - : Actividad nula.

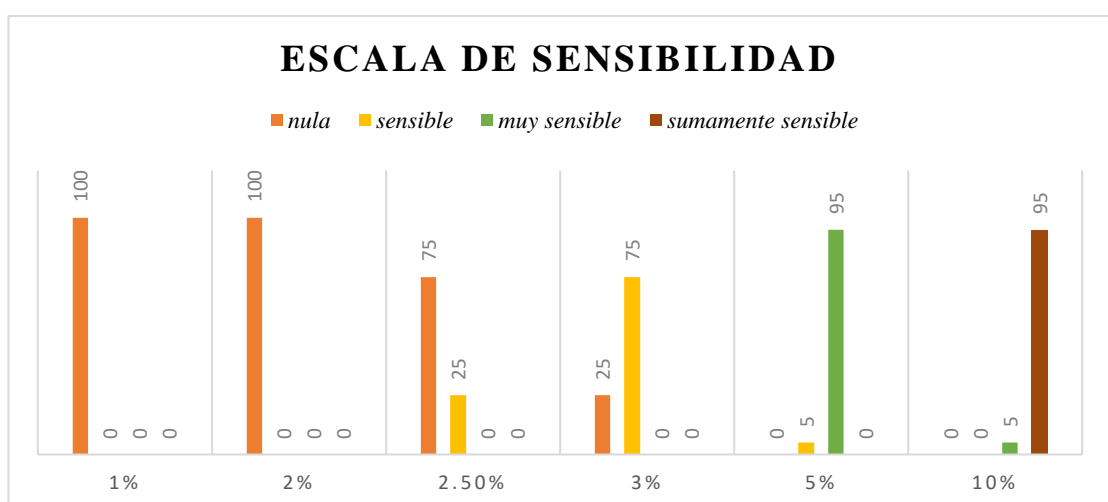
Elaborado por: Hernández, (2023).

**Tabla 23.** Frecuencia y porcentaje de la escala de sensibilidad según Duraffoud.

Concentración	+++		++		+		-		Total	
	Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%
10%	19	95	1	5	-	-	-	-	20	100
5%	-	-	19	95	1	5	-	-	20	100
3%	-	-	-	-	15	75	5	25	20	100
2.5%	-	-	-	-	5	25	15	75	20	100
2%	-	-	-	-	-	-	20	100	20	100
1%	-	-	-	-	-	-	20	100	20	100

+++ : Sumamente sensible, ++ : Muy sensible, + : Sensible, - : Actividad nula.

En la tabla 20 se observa la escala de la sensibilidad según Duraffoud (1897), en donde podemos ver que la concentración del 1% y 2% tiene actividad nula en un 100% frente a los 20 aislados de *Escherichia coli*, así mismo, la concentración de 2.5% exhibió un 25% de sensibilidad y un 75% de actividad nula, mientras que la concentración del 3% ostentó un 75% de sensibilidad y 25% de actividad nula, posterior la concentración del 5% manifestó un 5% de sensibilidad y un 95% de muy sensibles, de igual forma la concentración del 10% obtuvo el 5% de muy sensibles y el 95% de sumamente sensibles.

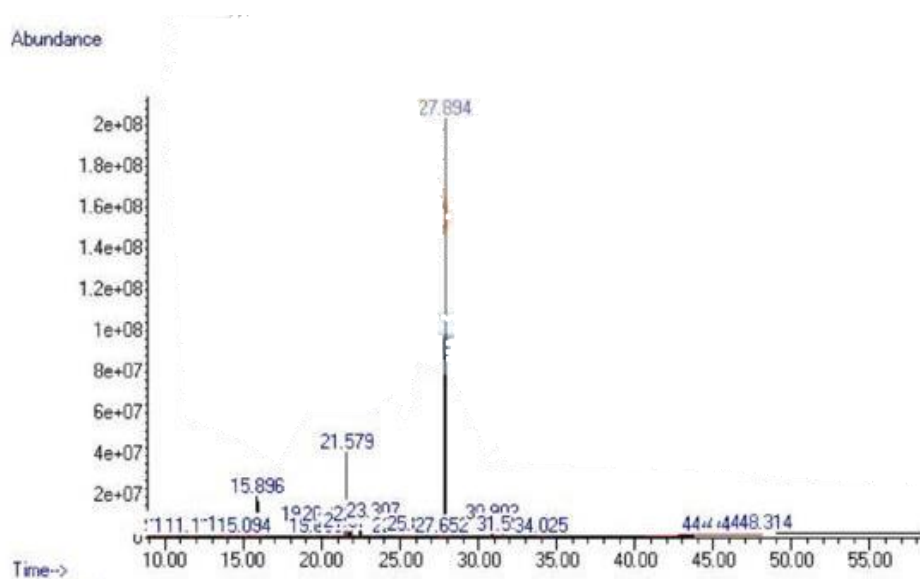


**Figura 9.** Escala de sensibilidad de la concentración mínima inhibitoria (CMI).

Elaborado por: Hernández, (2023).

## 5.6. Resultados de compuestos volátiles por cromatografía de gases del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*).

En la presente investigación se muestra la identificación de los compuestos volátiles del aceite esencial del orégano, el mismo que se destacó por tener buena actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina. La figura 10 se observa el cromatograma de los compuestos volátiles del aceite esencial del orégano obtenido mediante arrastre por vapor.



**Figura 10.** Cromatograma del aceite esencial de orégano

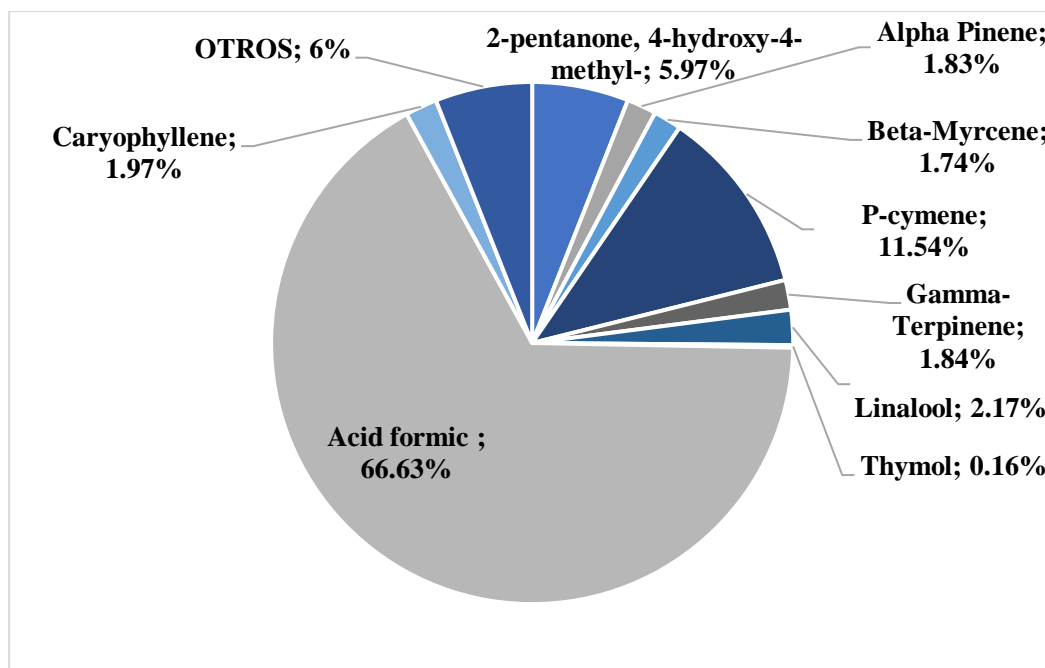
**Fuente:** Laboratorios LASA, (2022).

**Tabla 24.** Compuestos volátiles del aceite esencial de orégano por arrastre de vapor.

#	Compuesto	Tiem. de retención (minutos)	Área (%)
14	2-Pentanone, 4 - hydroxy - 4 - methyl (alcohol diacetona)	15.896	5.97
15	alpha. - Pinene	19.080	1.83
17	Beta. - Myrcene	20.437	1.74
19	p-Cymene	21.579	11.54
22	Gamma. -Terpinene	22.430	1.84
23	Linalool	23.307	2.17
29	Acid Formic	27.894	66.63
30	Caryophyllene	30.903	1.97

**Fuente:** Laboratorios LASA, (2022).

Se registraron 42 picos, donde la mayor intensidad la demostró el pico 29 (acid formic) el cual obtuvo una retención de 27.894 minutos, siguiéndole el pico 19 (p-Cymene) obteniendo un tiempo de retención de 21.579 minutos, y finalmente, el pico con menor intensidad la obtuvo el pico 14 (2-pentanone, 4-hydroxy -4- methyl) demostrando un tiempo de retención de 15.896 minutos, observando que se presentaron en un 66.63%, 11.54% y en un 5.97% respectivamente.



**Figura 11.** Compuestos mayoritarios del aceite esencial de orégano.

Al comparar con Abalco, (2020) en su investigación de la caracterización fitoquímica del aceite esencial de orégano por cromatografía de gases, evidenció que el aceite esencial de orégano obtenido de la provincia de Pichincha presento 51 compuestos volátiles, donde  $\gamma$ -Terpineno se encontraba en una proporción de 21.28%, p-Cimene con un 20.88%, thymol con un 2.64%,  $\beta$ -Mirceno con un 1.75%, Caryophyllene en un 1.58 y linalool 0.043%, dentro de los compuesto de mayor porcentaje, comparando con los resultados obtenidos en mayor porcentaje se obtuvo acido formico y p-Cymene a los que se les otorga la capacidad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* causante de mastitis bovina.

Dicha composición fisicoquímica del aceite esencial del orégano tiene relación con las condiciones agroecológicas presente en la planta utilizadas para la extracción del aceite esencial.

## CAPÍTULO VI

### VI. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

En la presente investigación se planteo las siguientes hipótesis;

$H_0 = \text{Test} = 20\% = 40\% = 60\%$

$H_1 \neq \text{Test} \neq 20\% \neq 40\% \neq 60\%$

Mediante el análisis estadístico de los resultado obtenido de los halos de inhibición de los tratamientos planteados se evidenció en la tabla 22 que; existió un efecto estadístico altamente significativo mediante la prueba de t-student, infiriendo en rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna la misma que nos refiere; Existe efectividad antimicrobiana del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*) a las tres concentraciones frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina, con un halo de inhibición mayor a 8 mm.

**Tabla 25.** Parámetros estadísticos mediante la prueba de t para comprobación de hipótesis.

Tra.	$\bar{x}$	Mo	$\sigma^2$	$\sigma$	EE	CV%	Max	Min	V. T	Pr
Test.	21.6	23	4.46	2.1	0.47	9.78	25	18	45.7	<.0001
20%	31.8	32	3.74	1.9	0.43	6.08	35	28	73.4	<.0001
40%	46.1	46	5.18	2.2	0.50	4.93	50	42	90.6	<.0001
60%	62.4	60	4.56	2.1	0.47	3.42	67	59	130	<.0001

$\bar{x}$ : media, Mo: moda,  $\sigma^2$ : varianza,  $\sigma$ : desviación estándar, EE.: error estándar, CV: coeficiente de variación, Max: máximo, Min.: mínimo, VT: valor de T-student. Pr: probabilidad

**Elaborado por:** Hernández, (2023).



## CAPÍTULO VII

### VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 7.1. Conclusiones.

- En lo que respecta a los resultados obtenidos de la destilación del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), se evidenció un rendimiento de 0.84 % obteniendo de cada 500 gramos de material foliar un volumen extraído de 4.22 mL de aceite esencial en promedio.
- En lo pertinente a la determinación de la casuística de la mastitis, se evidenció una prevalencia total de 26.25%, añadiendo que fueron 2 predios (“La Felicidad 1” y “La Felicidad 2”) los que se sometieron a muestreo y diagnóstico mediante CMT, en donde se obtuvo una prevalencia de 15% y 37,5% respectivamente en cada uno de los mencionados.
- De la toma de muestras (n=28) procedentes de 21 animales positivos a mastitis bovina, se obtuvo mediante procedimientos de aislamiento e identificación en el laboratorio; *Escherichia coli* en un 64.29% (n=18), otras enterobacterias en un 7.14% (n= 2) y una proporción de cultivos sin crecimiento en un 28.57% (n=8) del total de muestras analizadas.
- Mediante el análisis de varianza del (DBCA) nos expresa que los tratamientos presentaron un efecto altamente significativo ( $p < 0.05$ ), evidenciando que el T3 (60%) expresó el mayor promedio del diámetro del halo de inhibición con 62.40 mm en relación a T0 (Enrofloxacin 5µg) que expresó una media de 21.60 mm del halo de inhibición.
- Finalmente la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) se estableció en la concentración del 3% la cual obtuvo un promedio de 9 mm en el diámetro del halo de inhibición, dicha actividad antimicrobiana se le atribuye a la presencia de ácido fórmico en un 66.63%, y p-Cymene en un 11.54% quienes se encontraban en mayor proporción y que presumiblemente poseen actividad bacterisida.

## 7.2. Recomendaciones.

- Realizar estudios de la actividad antimicrobiana del aceite estudiado frente a otros géneros bacterianos con características diferentes a la *Escherichia coli*
- Realizar estudios in-vitro para evaluar la actividad citotóxica y residualidad orgánica.
- Realizar ensayos a mínima escala que conduzcan a la formulación e industrialización del aceite esencial.
- Realizar una propuesta para su aplicación en modelos in-vivo.
- La utilización de la concentración del 10% del aceite esencial, ya que obtuvo buena escala de sensibilidad.
- Extraer y aislar los principios activos que se encuentran en mayor cantidad en el aceite esencial del orégano medidos mediante cromatografía de gases con espectro de masa.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abalco, T. (2020). Caracterización Fitoquímica Del Aceite Esencial De Orégano (O. Vulgare L.) Por Cromatografía De Gases Procedente De Dos Provincias Del Ecuador. *Universidad Central Del Ecuador*, pp. 30-60.
- Abdelazeem, M., Mohamed, E., M., R., O., M., Ghbashy, & Yosra, A. (2020). Prevalence, Antimicrobial Resistance Profiles, Virulence And Enterotoxins-Determinant Genes Of Mrsa Isolated From Subclinical Bovine Mastitis In Egypt. *Pathgens*, 9(1), pp. 362.
- Acosta, M. A., Hernández, M., & Posada, A. (2017). Tópicos En Mastitis Bovina: Desde La Etiología Hasta Algunas Terapias Alternativas. *Journal Of Agricultura And Animal Sciences*, 6(1), pp. 1-6.
- Adelakun, O., Oyelade, O., & Olanipekun, F. (2016). Use Of Essential Oils In Food Preservation. *Food Preservative Effects Of Essential Oils*, 10(2), pp.71-84.
- Adkins, P., & Middleton, J. (2018). Methods For Diagnosing Mastitis. The Veterinary Clinics Of North America. *Food Animal Practice*, 34(3), pp. 479 - 491.
- Aemps, A. E. (2018). Guía Sobre Aceites Esenciales En Productos Cosméticos. *Edqm.Eu* (1 Edición), pp. 43.
- Agexport. (2019). Orégano. *Agexport Agrícola*, 4(2), pp.6.
- Alemany, J., Palá, J., & Díaz, S. (2014). Aceites Esenciales: Concepto Básicos Y Actividad Antibacteriana. Reduca (Biología). *Serie Botánica*, 7(2), pp. 60-70.
- Amer, D., Aguilar, F., Fukuda, Y., Tada, C., Ludeña, I., Maza, W. F., & Nakai, Y. (2018). Prevalence And Etiology Of Mastitis In Dairy Cattle In El Oro Province, Ecuador. *The Journal Of Veterinary Science*, 80(6), pp. 861 - 868.
- Angelopoulou, A., Warda, A., Hill, C., & Ross, P. (2019). Non-Antibiotic Microbial Solituions For Bovine Mastitis - Live Biotherapeutics, Bacteriophage, And Phage Lysins. *Critical Reviews In Microbiology*, 45(5), pp. 564 - 580.

- Antanaitis, R., Juozaitiene, V., Jonike, V., Baumgartner, W., & Paulauskas, A. (2021). Milk Lactose As A Biomarker Of Subclinical Mastitis In Dairy Cows. *Animals: An Open Access Journal From Mdpi*, 11(6), pp. 1736.
- Arango, O., Pantoja, D., Santacruz, L., & Hurtado, A. (2012). Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Orégano (*Lippia Origanoides*) Del Alto Patia. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 10(2), pp.79-86.
- Ashraf, A., & Imran, M. (2018). Diagnosis Of Bovine Mastitis: From Laboratory To Farm. *Tropical Animal Health And Production*, 50(6), pp.1193 - 1202.
- Astudillo, S. S. (2020). Práctica Empresarial En La Secretaría De Medio Ambiente Del Municipio De Itagüí Con Énfasis En Bienestar Animal. *Corporación Universitaria Lasallista*, pp. 50.
- Ayala, C. (2019). Determinación De Las Bacterias Mas Frecuentes Causantes De Mastitis Subclínicas Y Sensibilidad Ante Antibióticos En Vacas Criollas Del Municipio De Santa Apolonia, Chimaltenango. Guatemala: *Universidad De San Carlos De Guatemala*, Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia Escuela De Medicina Veterinaria, pp. 30.
- Barreto, D., Sedgwick, E., Nagi, C., & Benveniste, A. (2018). Granulomatous Mastitis: Etiology, Imaging, Pathology, Treatment, And Clinical Findings. *Breast Cancer Research And Treatment*, 171(3), pp. 527 - 534.
- Bocángel, J. (2016). Efecto Antibacteriano In Vitro Del Carvacrol (Aceite De Orégano) Sobre *Candida Albí*. *Revistas De Investigación De La Universidad Norbert Wiener*. 5(1), pp. 43.
- Bonifaz, N., & Conlago, F. (2016). Prevalencia E Incidencia De Mastitis Bovina Mediante La Prueba De california mastitis Test Con Identificación Del Agente Etiológico, En Paquiestancia, Ecuador. *La Granja, Revista De Ciencias De La Vida*, 24(2), pp. 27.
- Bozin, B., Mimica, D., & Simin, N. (2006). Chareacterization Of The Volatile Composition Of Essential Oils Of Some Lamiaceas Spices And The

Antimicrobial And Antioxidante Activities Of The Entire Olis. *J Agric Food Chem*, 54 (2), pp. 30.

- Brand, K., Filor, V., & Bäumer, W. (2021). Early Inflammatory Events Of Mastitis - A Pilot Study With The Isolated Perfused Bovine Udder. *Bmc Veterinary Research*, 17(1), pp. 356.
- Bruckmaier, R., & Wellnitz, O. (2017). Triennial Lactation Symposium/Bolfa: Pathogen-Specific Immune Response And Changes In The Blood-Milk Barrier Of The Bovine Mammary Gland. *Journal Of Animal Science*, 95(12), pp. 5720 - 5728.
- Bucay, J. S. (2019). Las Plantas Con Principios Amargos Y Su Uso Medicinal. ¿Un Futuro Dulce? *An Orl Mex*, 4(64), pp. 202-228.
- Camarillo, E. Y. (2006). Actividad Antifúngica De Aceites Esenciales De Canela (*Cinnamomum Zeylanicum* Blume) Y Orégano (*Origanum Vulgare* L.) Y Su Efecto Sobre La Producción De Aflatoxinas En Nuez Pecanera [*Carya Illinoensis* (F.A. Wangenh) K. Koch]. *Revista Mexicana De Fitopatología (Mexical Journal Of Phytopatology)*, 24(1), pp. 8-12.
- Casado, I. (2018). Evaluación Diferencial De Extractos De Orégano En La Producción De Ácidos Grasos Volátiles Y Metano Durante Fermentación Ruminal In Vitro. Universidad Politécnica De Madrid.
- Casanova, N. (2019). Evaluacion De La Composición Química Y Capacidad Antioxidante De La Planta De Orégano (*Origanum Vulgare* L.). *Uce*. 10(1), pp. 5.
- Castillo, B., Vargas, L., Hueckmann, V., & Romero, Z. (2019). Factores Que Afectan La Producción En Primera Lactancia De Vacas Lecheras De Costa Rica. *Agronomia Mesoamericana*, 30(1), pp. 209 - 227.
- Ceballos, T., & Londoño, G. (2016). Aceites Esenciales En La Conservación De Alimentos. *Essential Olis In Food Preservation*.
- Chakraborty, S., Dhama, K., Tiwari, R., Yatoo, M. I., Kumar, S., Khandia , R., Chaicumpa, W. (2019). Technological Interventions And Advances In The

Diagnosis Of Intramammary Infections In Animals With Emphasis On Bovine Population-A Review. *Pubmed Central, Veterinary Quarterly*, 39(1), pp. 76 - 94.

- Chen, S., Wu, M., Lu, P., Gao, L., Yan, S., & Wang, S. (2020). Development Of Ph Indicator And Antimicrobial Cellulose Nanofibre Packaging Film Based On Purple Sweet Potato Anthocyanin And Oregano Essential Oil. *Elsevier*, 149(1), pp. 271 - 280.
- CLSI. (2020). Estándares De Rendimiento Para Pruebas De Susceptibilidad De Dilución Y Disco Antimicrobiano Para Bacterias Aisladas De Animales, 5.<sup>a</sup> Edición. Clsi.
- CNF, C. N. (2008). Paquete Tecnológico De La Producción De Orégano. Vive Mejor.
- Concha, H. M. (2020). Revisión Del Aceite De Orégano Spp. En Salud Y Producción Anima. *Abanico Agroforestal*, 1(2), pp. 22.
- Contreras, C. S. (2017). "Efecto Sinérgico In Vitro Del Aceite Esencial De Origanum Vulgare "Orégano" Con Ciprofloxacino Frente A E. Coli Ampicilino-Resistente". pp. 30-31.
- Corella, R. A., & Ortega Nieblas, M. M. (2013). Importancia Del Aceite Esencial Y La Producción De Orégano Lippia Palmeri Watson En El Estado De Sonora. *Bio Tecnia*, 15(1), pp. 57-64.
- Crespo, G., Zabala, U., & Franco, S. (2014). Plantas Aromáticas Que Vivifica Mi Ser, La Yerbabuena, Limoncillo, Cidrón, Orégano Y Manzanilla. Universidad Del Tolima.
- Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. (2019). Antibacterial Mechanism Of Oregano Essential Oil. *Elsevier*, pp. 139.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2020). The Population Genetics Of Pathogenic Escherichia Coli. *Nature Reviews Microbiology*
- Derakhshani, H., Fehr, K., Sepehri, S., Frnacoz, D., De Buck, J., Barkema, H., Khafipour, E. (Diciembre De 2018). Invited Review: Microbiota Of The Bovine

Udder: Contributing Factors And Potential Implications For Udder Health And Mastitis Susceptibility. *Journal Of Dairy Science*, 101(12), pp. 10605 - 10625.

- Díaz, D. L. (2020). El Orégano De Los Géneros Lippia (Verbenaceae) Y Poliomintha (Lamiaceae) En El Estado De Nuevo León, México. *Polibotanica Instituto Politecnico Nacional* (50), pp. 1-18.
- Duraffourd, C., Lapraz, J., & L., H. (1987). Cuadernos De Fitoterapia Clínica. En C. Duraffourd, J. Lapraz, & H. L., Cuadernos De Fitoterapia Clínica. Masson.
- El-Sayed, A., & Kamel, M. (2021). Bovine Mastitis Prevention And Control In The Post-Antibiotic Era. *Tropical Animal Health And Production*, 53(2), pp.236.
- Esener, N., Guerra, A., Giebel, K., Lea, D., Green, M., Bradley, A., & Dottorini, T. (11 De Junio De 2021). Mass Spectrometry And Machine Learning For The Accurate Diagnosis Of Benzylpenicillin And Multidrug Resistance Of Staphylococcus Aureus In Bovine Mastitis. *Plos Computational Biology*, 17(6).
- Filippo, F., Margherita, G., Mancini, S., Pisseri, F., Najjar, .., & Pistelli, L. (2021). Evaluation Of The In Vitro Antibacterial Activity Of Some Essential Oils And Their Blends Against Staphylococcus Spp. Isolated From Episodes Of Sheep Mastitis. *Rendiconti Lincei Scienze Fisiche E Naturali*, 32, pp. 407-416
- Flores, B., Mora, B., Elias , J., & Torres , D. (2021). Efecto Inhibitorio Del Extracto Hidroalcohólico De “Eucalipto” Eucalyptus Globulus En Bacterias Aisladas De Vacas Con Mastitis. *Kasmera*, 49(2).
- Flores, S., & Garcia, F. (2021). Actividad Antibacteriana Del Alcohol En Gel A Base De Aceite Esencial De *Syzygim aromaticum* (Clavo De Olor) Frente A *Staphylococcus Aureus*. Universidad Privada De Huancayo.
- Fonseca, P. (2015). Aspectos De Composição E Propriedades. *Química E Sociedade*, pp. 10.
- Franco, M. F. (2020). Prevalencia Y Perfil De Resistencia Antimicrobiana De Bacterias Causantes De Mastitis Aisladas En Leche Cruda Bovina En Un Establecimiento De La Localidad De Shoenweide Del Departamento De Presidente Hayes – Paraguay. *Universidad Nacional De La Plata*.

- Freitas, C., Mendes, J., Villarreal, P., Santos, P., Gonçalves, C., Gonzales, H., & Nascente, P. (2018). Identificação E Perfil De Suscetibilidade Antimicrobiana De Bactérias Causadoras De Mastite Bovina Em Propriedades Leiteiras De Pelotas, Rio Grande Do Sul. *Scielo Brasil*, 78(04)
- Fukalava, T., Brito, B., Novoa, T., Sagñay, E., Samaniego, I., Tacán, M., & Tapia, I. (2021). Comparative Analysis Of The Physicochemical Properties And Antioxidant Capacity Of A Morphotype Of Oregano (*Origanum Vulgare L.*) Cultivated In Two Locations Of The Ecuadorian Sierra. *Siembra*, 8(1), pp. 12.
- Gallego, A., & Zambrano, S. (2020). Extracción De Limoneno De Citrus X Sinensis Por Método Soxhlet Y Arrastre De Vapor . *Researchgate*.
- Gallegos, F., Valenzuela, B., Ruiz, L., Echavarría, F., López, C., & Tenorio, R. (2019). Evaluación Diferencial De Extractos De Orégano En La Producción De Ácidos Grasos Volátiles Y Metano Durante Fermentación Ruminal In Vitro. *Abanico Veterinario*, 9, pp. 300-315.
- Gámez, P. J., Rentería Monterrubio, A. L., Durán Meléndez, L. A., Chávez Martínez, A., Alarcón Rojo, A. D., Aguilar Palma, N. G., & Silva Vázquez, R. (2015). Efecto Del Aceite Esencial De Orégano En El Rendimiento Y Las Propiedades Fisicoquímicas Y Microbiológicas De La Carne De Pollo. *Investigación Y Ciencia*, 23(66), pp.5-11.
- Garcia, N., Acosta, J. P., Bedolla, C., Castañeda , H., Cal, L., & Velázquez , V. (2019). Mecanismos De Defensa E Inmunidad De La Glándula Mamaria En La Vaca Lechera. *Uaem – Fmvz*, pp. 25.
- Gleizer, S., Nissan, R., Bar-On, Y., Antonovsky, N., Noor, E., Zohar, E., . . . Milo, R. (2019). Conversión De Escherichia Coli Para Generar Todo El Carbono De Biomasa A Partir De Co 2. *Elsevier*, 179(6).
- Gomez, L., Rodriguez, J., & Olivera, M. (2020). Respuesta Inmune Innata De La Glándula Mamaria. Antioquia: *Biogénesis*.
- Gozales , R., & Vidal, M. (2021). Mastitis Bovina Y Calidad De La Leche, Un Desafío Para La Salud Humana. *Universidad Y Sociedad*, 13(1), pp. 89-96.



- Graaf, T., & Dwinger, R. (1996). Estimación De Pérdidas De Producción De Leche Por Mastitis Subclínica En Ganado Lechero En Costa Rica. *Elsevier*, pp. 215-216.
- Guzñay, E. (2021). Diagnóstico Microbiológico De La Mastitis Bovina Y Evaluación De Tres Alternativas De Tratamiento En El Criadero Jersey “El Puente” De Chimborazo. Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo: [Http://Dspace.Espoch.Edu.Ec/Bitstream/123456789/16271/1/17t01686.Pdf](http://Dspace.Espoch.Edu.Ec/Bitstream/123456789/16271/1/17t01686.Pdf).
- Haenni, M., Lupo, A., & Madec, J. (2018). Antimicrobial Resistance In *Streptococcus Spp.* *Microbiology Spectrum*, 6(2), pp. 36.
- Holdridge, L. (1971). Sistema De Zonas De Vida.
- Hoque, N., Kumar, A., & Nasar, A. (2014). Different Screening Tests And Milk Somatic Cell Count For The Prevalence Of Subclinical Bovine Mastitis In Bangladesh. *Trop Anim Health Prod* 18(3), pp. 400.
- Instituto Nacional De Meteorología E Hidrología. (2021). Instituto Nacional De Meteorología E Hidrología. Obtenido De Inamhi: [Https://Www.Inamhi.Gob.Ec/](https://www.inamhi.gob.ec/).
- Jiménez, G. L. (2019). La Mastitis Bovina. *Dialnet Unirioja*, 23(92), pp. 30-33.
- Jiménez, M., Gudiño, S., Aguilar, L., & Loeza, L. (2017). Caracterización Molecular De *Escherichia Coli* Resistente A Antibióticos Aislada De Mastitis Bovina En Michoacán, México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.*, 8(4), pp. 387-396.
- Jung, D., Park, S., Ruffini, J., Dussault, F., Dufour, S., & Ronholm, J. (2021). Comparative Genomic Analysis Of *Escherichia Coli* Isolates From Cases Of Bovine Clinical Mastitis Identifies Nine Specific Pathotype Marker Genes. *Microbiology Society*, 7(7).
- Kandeel, S. A., Morin, D. E., Calloway, C. D., & Costable, P. D. (2018). Association Of California Mastitis Test Scores With Intramammary Infection Status In Lactating Dairy Cows Admitted To A Veterinary Teaching Hospital. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), pp. 497 - 505.

- Kasai, S., Prasad, A., Kumagai, R., & Takanohashi, K. (2022). Scanning Electrochemical Microscopy - Somatic Cell Count As A Method For Diagnosis Of Bovine Mastitis. *Biology*, 11(4), pp. 549.
- Khasana, H., Setyawan, H., Yulianto, R., & Widianingrum, D. (2021). Subclinical Mastitis: Prevalence And Risk Factors In Dairy Cows In East Java, Indonesia. *Veterinary World*, 14(8), pp. 2102 - 2108.
- Kovačević, Z., Radinovič, M., Čabarkapa, I., Kladar, N., & Bozin, B. (2021). Natural Agents Against Bovine Mastitis Pathogens. *Antibiotic*, 10(2)
- Lange, A., Grzenia, A., Wierzbicki, M., Cieslak, S., Kalińska, A., Gołęblewski, M., Jaworski, S. (2021). Silver And Copper Nanoparticles Inhibit Biofilm Formation By Mastitis Pathogens. *Animals*, 11(7).
- Lehw, & Dechow, C. (2021). Relationship Of Daily Total Somatic Cell Output With Somatic Cell Concentration And Clinical Mastitis. *Elsevier*, 196(1), pp. 197-198.
- Leon, O. (2021). Guía De Buenas Prácticas En El Ordeño Mecánico Como Herramienta Para El Manejo Y Control De La Mastitis Bovina En La Finca Guachipalo De La Mesa De Los Santos. Mexico: Untrm.Edu.
- Lima, S., Teixeira, A., Lima, F., Ganda, E., Higgins, C., Oikonomou, G., & Bicalho, R. (2016). The Bovine Colostrum Microbiome And Its Association With Clinical Mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 100(4), pp. 3031 - 3042.
- Linzell, J., & Peaker, M. (1975). Efficacy Of The Measurement Of The Electrical Conductivity Of Milk For The Detection Of Subclinical Mastitis In Cows: Detection Of Infected Cows At A Single Visit. *Elsevier*, pp. 447-448.
- Llanos, V. (Febrero De 2022). Efecto Antibacteriano In Vitro De La Mezcla Del Aceite Esencial De Origanum Vulgare “Orégano” Y Rosmarinus Officinalis “Romero” Frente A Staphylococcus Aureus Y Escherichia Coli. Cajamarca, Perú.
- Locatelli, C., Barberio, A., Bonamico, S., Casula, A., Moroni, P., & Bronzo, V. (2019). Identification Of Multidrug-Resistant Escherichia Coli From Bovine

Clinical Mastitis Using A Ceftiofur-Supplemented Medium. *Foodborne Pathogens And Disease*, 18(8), pp. 590 - 596.

- Lozano, C. C., & Guadalupe Loarca Piña, S. L. (2004). El Orégano: Propiedades, Composición Y Actividad Biológica De Sus Componentes. *SciELO*, 54(1).
- Maestro Durána, M., García Salinero, C., Almagro Sanchez, M., Santiago Freijanes, M. P., Varela Romero, J. R., & Mosquera Oses, J. J. (2021). Avance En El Tratamiento De La Mastitis Granulomatosa Idiopática: Utilidad De Micofenolato De Mofetilo. *Elsevier*.
- Malcata, F., Pepler, T., O'Reilly, E., Brady, N., Eckersall, D., Zadoks, R., & Viola, L. (2020). Point - Of- Care Tests For Bovine Clinical Mastitis: What Do We Have And What Do We Need? *The Journal Of Dairy Research*, 87(1), pp. 60 - 66.
- Maldonado, D. F., Santos , C., Quilapanta , A. E., & Mena, L. A. (2022). Diagnóstico De Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos Para El Control Y Tratamiento En Bovinos De Leche Holstein (Vol. 8). Riobamba, Chimborazo, Ecuador.
- Manges, A., Geum , H., Guo, A., Edens , T., Fibke , C., & Pitout , J. (2019). Global Extraintestinal Pathogenic Escherichia Coli (Expec) Lineages. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(3).
- Martínez, L., Nieto, M. V., Léndez, P. A., Barone, L., Pérez, S. E., Dolcini, G., & Ceriani, M. C. (2018). Stable Infection Of A Bovine Mammary Epithelial Cell Line (Mac-T) With Bovine Leukemia Virus (Blv). *Elsevier*, pp. 2-3.
- Martínez, M., Poirrier, P., Chamy, R., Prufer, D., Schulze-Gronover, C., Jorquera, L., & Ruiz, G. (2015). Taraxacum Officinale And Related Species An Ethnopharmacological Review And Its Potential As A Commercial Medicinal Plant. *Elsevier*.
- Martínez, P. (2015). Evaluación De Dos Dosis De Ozono En El Tratamiento De Mastitis Bovina. Trabajo De Titulación. *Universidad Central Del Ecuador*, Quito.

- McDougall, S., Clausen, L., Hintukainen, J., & Hunnam, J. (2019). Randomized, Controlled, Superiority Study Of Extended Duration Of Therapy With An Intramammary Antibiotic For Treatment Of Clinical Mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 102(5), 4376 - 4386.
- McDougall, S., Clausen, L., Hussein, H., & Compton, C. (2022). Therapy Of Subclinical Mastitis During Lactation. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(2), pp. 209.
- Medrano, E., & Medrano, D. (2020). “Actividad Antimicrobiana Y Efecto Desinfectante Del Aceite Esencial De Origanum Vulgare L. (Orégano) Frente A *Staphylococcus Aureus* Y *Escherichia Coli*”. Lima, Perú.
- Mera, M. C. (2020). Caracterización Química Del Aceite Esencial De Orégano Como Agente Bioconservador En Alimentos. *Universidad, Ciencia Y Tecnología*, 24(105), pp. 54-62.
- Metanálisis, P. M. (2021). Krishnamoorthy, Paramanandham; Goudar, Akshata Lokanath; Puttahonnappa Suresh, Kuralayanapalya; Roy, Parimal. . *Elsevier*, pp. 2-3.
- Montero, M., Mira, J., Avilés, D., Pazmiño, P., & Erazo, R. (2018). Eficacia Antimicrobiana Del Aceite Esencial Del Tomillo (*Thymus Vulgaris*) Sobre Una Cepa De *Staphylococcus Aureus* (Vol. 29 ). Ambato, Tungurahua, Ecuador: *Scielo*.
- Montes, M. (2017). Efecto Genotóxico In Vitro Del Látex De Plantas Medicinales De Uso Dérmico *Argemone Mexicana* L. “Cardo Santo” Y *Taraxacum Officinale* “Diente De León”. Trabajo De Titulación. Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga, Ayacucho.
- Muñoz, M. C., Agudelo, E. J., & Maldonado Estrada, J. (2007). Relación Entre El Recuento De Células Somáticas Individual O En Tanque De Leche Y La Prueba Cmt En Dos Fincas Lecheras Del Departamento De Antioquia (Colombia). *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*.

- Murphy, M., Noedziela, D., Leonard, F., & Keane, O. (2019). The In Vitro Host Cell Immune Response To Bovine'adapted Staphylococcus Aureus Varies According To Bacterial Linage. *Scientific Reports Natureresearch*, 9(1), 6134.
- Mutlu , A., Catalkaya, G., Capanoglu, E., & Karbancioglu, G. (2021). Antioxidant And Antimicrobial Activities Of Fennel, Ginger, Oregano And Thyme Essential Oils. *Food Frontiers*, 2(4), pp. 50.
- Nagahata, H., Moriyama, A., Sawada, C., Asai, Y., Kokubu, C., Gondaira, S., & Higuchi, H. (2020). Innate Immune Response Of Mammary Gland Induced By Intramammary Infusion Of Bifidobacterium Breve In Lactating Dairy Cows. *The Journal Of Veterinary Medical Science*, pp. 1742 - 1749.
- Nazar, M., Abdalla, I., Chen, Z., Ullah, N., Liang, Y., Shuangfeng, C., Lu, X. (2022). Genome - Wide Association Study For Udder Conformation Traits In Chinese Holstein Cattle. *Animals: An Open Access Journal From Mdpi*, 12(19), pp. 2542.
- Ncm, N. M. (2017). *Laboratory Handbook On Bovine Mastitis (Vol. Third Edition)*. Minneota, Usa.
- Nelson, C., Merriman, K., Poindexter, M., Kweh, M., & Blakely, L. (1 De Marzo De 2018). Symposium Review: Targeting Antimicrobial Defenses Of The Udder Through An Intrinsic Cellular Pathway. *Journal Of Dairy Science*, 101(3), pp. 2753 - 2761.
- Ortega, B. (2015). Extracción de aceite esencial de orégano a través del método de arrastre con vapor a escala laboratorial. *Ciencia Sur*. 1(1). pp. 20-30.
- Otero, F. C. (1991). *Mecanismos De Defensa De La Glándula Mamaria Bovina En La Fase De Involución Y Lactancia*. México, Toluca: Inifap, Sarh.
- Ouweltjes, W., Beerda, Windig, J., M.Pl, C., & R.F., V. (2007). Effects Of Management And Genetics On Udder Health And Milk Composition In Dairy Cows. *Elsevier*, 229 - 238.

- Oyola, L. S., & Urrea, M. C. (2021). *Conceptos Generales Y Métodos Establecidos Para El Diagnóstico Y Tratamiento De La Mastitis Bovina*. Ibagué, Tolima, Colombia.
- Parra, A. A., Ortega, A. L., Mendoza, C., & Delgado, N. (2009). *Efecto De La Mastitis Clínica Y Subclínica Sobre La Concentración Plasmática De Metabolitos, Proteínas Totales Y Albúmina En Hembras Bovinas*. Scielo.
- Patiño, C. L. (2022). *Prevalencia De Mastitis En La Estación Agraria Paysandú Y Su Correlación Con La Pluviometría*.
- Patiño, L., Saavedra, A., & Martínez, J. (2014). *Extracción Por Arrastre De Vapor De Aceite Esencial Del Romero*. *Ciencias Tecnológicas Y Agrarias*.
- Pavli, F., Argyri, A., Skandamis, P., Nychas, G., Tassou, C., & Chorianopoulos, N. (2019). *Antimicrobial Activity Of Oregano Essential Oil Incorporated In Sodium Alginate Edible Films: Control Of Listeria Monocytogenes And Spoilage In Ham Slices Treated With High Pressure Processing*. *Materials*, 12(22).
- Pedroza, A. (2018). *Manejo Técnico De Mastitis Y Calidad De Leche*. *Sitio Argentino De Producción Animal*.
- Pellecuer, J. (1995). *Aromaterapia Y Toxicidad De Los Aceites Esenciales*. *Natura Medicatrix*(37).
- Pellegrino, M., Berardo, Girardo, J., Nader'macias, M., & Bogni, C. (2017). *Bovine Mastitis Prevention: Humoral And Cellular Response Of Dairy Cows Inoculated With Lactic Acid Bacteria At The Dry'off Period*. *Beneficial Microbes*, 589 - 596.
- Peng, S., Qian, Z.-G., Hu, C.-F., Pan, F., Chen, M.-T., Lee, S., & Xia, X. (2020). *Formation And Functionalization Of Membraneless Compartments In Escherichia Coli*. *Nature Chemical Biology* Volume, 16, 1143 - 1148.
- Pereyra, E., Dallard, B., & Calvino, L. F. (2014). *Aspectos De La Respuesta Inmune Innata En Las Infecciones Intramamarias Causadas Por Staphylococcus Aureus En Bovinos*. Elsevier, Doyma, 364-366.

- Pérez, L., Andrade, S., Levario, A., Cantú, E., Sánchez, D., Nevárez, G., & Loya, M. (2019). Evaluación De La Propiedad Antimicrobiana Y Antiadherente Del Sulfato De Cobre (Cu<sub>2</sub>so<sub>4</sub>) Y Monoterpenos Sobre Lactobacillus Acidophilus Y Streptococcus Mutans. *Acta Universitaria - Multidisciplinary Scientific Journal*, 10.
- Pharmacopeia, U. S. (2008). Tests For Specified Microorganismo. *Microbiological Examination Of Nonsteril Products*, 31.
- Pizzorno, J., & Murray, M. (2020). *Textbook Of Natural Medicine (Quinta Ed.)*. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Proaño, S., & Vásconez, C. (2013). Determinación De Mastitis Bovina Mediante California Mastitis Test, Recuento De Células Somáticas Y Cultivo Bacteriológico En La Comunidad De Llanos De Albas Del Cantón Cayambe – Provincia De Pichincha. Quito: Pontificia Universidad Católica Del Ecuador.
- Quevedo, W. (2018). Recuento De Celulas Somaticas (Rsc), Como Indicador En La Resistencia De La Mastitis Bovina. *Rev. Cien. Tec. In.*, 16(17).
- Rainard, P., Foucras, G., Boichard, D., & Rupp, R. (1 De Agosto De 2018). Invited Review: Low Milk Somatic Cell Count And Susceptibility To Mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 101(8), 6703 - 6714.
- Rampone, H., Bogni, C., Giraud, J., & Calzolari, A. (1993). Identificación De Estafilococos De Leche Bovina En Argentina. *Elsevier*, 537 - 538.
- Ranasinghe, R., Deshapriya, R., Abeygunawardana, D., Rahularaj, R., & Dematawewa, C. (2021). Subclinical Mastitis In Dairy Cows In Major Milk-Producing Areas Of Sri Lanka: Prevalence, Associated Risk Factors, And Effects On Reproduction. *Journal Of Dairy Science*, 104(2), 12900 - 12911.
- Requelme, N., & Bonifaz, N. (2011). Buenas Prácticas De Ordeño Y La Calidad Higiénica De La Leche En El Ecuador. *La Granja*, 45-46.
- Revskij, D., Haubold, S., Plinsky, C., Viergutz, T., Tuchscherer, A., Kröger, C., Mielenz, M. (2022). Cellular Detection Of The Chemokine Receptor Cxcr4 In

Bovine Mammary Glands And Its Distribution And Regulation On Bovine Leukocytes. *Journal Of Dairy Science*, 866 - 876.

- Rivera, L., Espinosa, A., García, M., & Herrera, R. (2018). Efecto Antifúngico De Emulsiones A Base De Aceite Esencial De Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*), Contra *Candida Albicans*. *Saludjalisco*, 5(1).
- Rodrigues, L., Salgado, C., Machado, V., Alves, A., Ferreira, F., & Vilela, S. (2020). Aceites Esenciales De Ajo Y Orégano Incorporados En Películas De Acetato De Celulosa: Actividad Antimicrobiana Y Propiedades Físicas. *Research, Society And Development*, 9(10).
- Rodríguez, C., Zárata, A., & Sánchez, L. (2017). Actividad Antimicrobiana De Cuatro Variedades De Plantas Frente A Patógenos De Importancia Clínica En Colombia. *Scielo*, 119-127.
- Rodríguez, E. (2011). Uso De Agentes Antimicrobianos Naturales En La Conservación De Frutas Y Hortalizas. *Ra Ximhai*, 154.
- Rosano, G., Morales, E., & A. Cec, E. (2019). Nuevas Herramientas Para La Producción De Proteínas Recombinantes En *Escherichia Coli*. *The Protein Society*.
- Roy, R., Tiwari, M., Donelli, G., & Tiwari, V. (2018). Strategies For Combating Bacterial Biofilms: A Focus On Anti-Biofilm Agents And Their Mechanisms Of Action. *Virulence*, 9(1), 522 - 554.
- Ruegg, P. (Diciembre De 2017). A 100-Year Review: Mastitis Detection, Management, And Prevention. *Journal Of Dairy Science*, 100(12), 10381 - 10397.
- Sakkas, H., & Papadopoulou, C. (2017). Antimicrobial Activity Of Basil, Oregano, And Thyme Essential Oils. *J. Microbiol Biotechnol*, 3(27), 429-438.
- Salcido, N., Villareal, J., Díaz, M. A., & Patricia., G. P. (2015). Evaluación De La Actividad De Los Agentes Antimicrobianos Ante El Desafío De La Resistencia Bacteriana. *Scielo*, Vol.46 (2).



- Sánchez, J. (2018). Resistencia Antibiótica A Los Agentes Causales De Mastitis En Vacas. Huancavelica, Perú: Universidad Nacional De Huancavelica.
- Sathiyabarathi, M., Jeyakumar, S., Manimaran, A., Jayaprakash, G., Pushpadass, G., Sivaram, M., . . . Kumar, R. (2016). Infrared Thermography: A Potential Noninvasive Tool To Monitor Udder Health Status In Dairy Cows. *Veterinary World*, 9, 1075-1081.
- Schoch, C. E. (2020). Taxonomy: *Origanum Vulgare* Subsp. *Vulgare*. National Center For Biotechnology Information.
- Seija, V. (2008). Etiopatogenia Microbiológica . En D. D. Higiene, Temas De Bacteriología y Virología Médica (Págs. 257-259). Montevideo : Facultad De Medicina, Instituto De Higiene .
- Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Bashi, M., Iqbal, M., Kumar , S., . . . Chaicumpa, W. (2021). Advances In Therapeutic And Managerial Approaches Of Bovine Mastitis: A Comprehensive Review. *The Veterinary Quarterly*, 41(1), 107 - 136.
- Silva, F. (2021). Caracterización De Los Agentes Bacterianos Casuales De Mastitis Bovina. Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.
- Silvestrini, P. (2021). Estudio Del Potencial Inmunomodulatorio Y Capacidad Adyuvante Del Ginsenosido Rg1. Argentina: Universidad Nacional Del Litoral.
- Snaas, S. N. (2013). Mastitis Management In Dairy Animals. New Delhi.
- Solis, Evaluación De La Actividad Antimicrobiana De Los Aceites Esenciales De Orégano (*Origanum Vulgare* L.) Y Tomillo (*Thymus Vulgaris* L.) Como Potenciales Bioconservadores En Carne De Pollo. Riobamba - Chimborazo.
- Souza, F., Blagitz, M., Batista , C., Takano, P., Gargano, R., Diniz, S., . . . Della Libera, A. (2020). Immune Response In Nonspecific Mastitis: What Can It Tell Us? *Journal Of Dairy Science*, 103(6), 5376 - 5386.
- Spanamberg, A., Wunder, E., Brayer, D., Argenta, J., Cavallini, E., & Laerte Ferreiro, P. (2018). Diversity Of Yeasts From Bovine Mastitis In Southern Brazil. Elsevier, 154.

- Srivastava K, K. A. (2015). Mastitis In Dairy Animals. Azadpur, Delhi-110033 (India): Satish Serial Publishing House.
- Suares, H., Martínez, G., Agustín, B., Salatin, A., & Dib, A. (2019). Prevalencia Y Etiología De Las Mastitis Bovinas En La Cuenca Lechera Del Valle De Lerma (Salta). *Rev. Med. Vet.*, 100(1), 0-6.
- Swinkels, J., Leach, K., Breen, J., Payne, B., White, V., Green, M., & Bradley, A. (2020). Randomized Controlled Field Trial Comparing Quarter And Cow Level Selective Dry Cow Treatment Using The California Mastitis Test. Elsevier, 9063-9067.
- Toalombo, P., Almeida, F., Días, H., & Trujillo, J. (2019). Estudio De Las Correlaciones Entre Valores Genéticos De Producción Reproducción Y Tipo De Los Toros Jersey En Ecuador. *Archivos De Zootecnia*, 68(264), 588.593.
- Vitenberga-Verza, Z., Pilmane, M., Šerstnova, K., Melders, I., Gontar, L., Kochański, M., . . . Prieto-Simón, B. (2022). Identification Of Inflammatory And Regulatory Cytokines Il-1a-, Il-4-, Il-6-, Il-12-, Il-13-, Il-17a-, Tnf-A-, And Ifn-γ- Producing Cells In The Milk Of Dairy Cows With Subclinical And Clinical Mastitis. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(3), 372.
- Yerren, M., & Salazar, R. (2021). Efecto Antibacteriano Del Aceite Esencial De Melissa Officinalis (Toronjil) Y Origanum Vulgare (Oregano) Frente A Cepas De Escherichia Coli. Huancayo, Perú: Universidad Roosevelt.
- Younis, W., Hassan, S., & Mohamed, H. (Septiembre De 2021). Molecular Characterization Of Escherichia Coli Isolated From Milk Samples With Regard To Virulence Factors And Antibiotic Resistance. *Veterinary World*, 14(9), 2410 - 2418.
- Zambrano, W. J., & Marques, A. D. (2008). Evaluación De La Glándula Mamaria Y Composición Química De La Leche En Vacas Primíparas Mestizas Lecheras En El Parto, Hasta El Quinto Mes De La Lactación. Scielo

# ANEXOS

### **Anexo 1.** Lugar de la experimentación

La toma de las muestras se realizo en la parroquia ULPAN, perteneciente a el canton Chambo, de la provincia de Chimborazo.



Laboratorio general de la facultad de Ciencias agropecuarias recursos naturales y del ambiente, sección de microbiología.



**Fuente:** (Google earth, 2022).

**Anexo 2.** Base de datos.

<i>Resultados obtenidos de los tratamientos planteados en la investigación.</i>					
Número	Código	Enrofloxacina	20%	40%	60%
1	F1001	23	30	46	61
2	F1003	23	33	48	62
3	F1004	19	32	47	60
4	F1006	21	31	45	63
5	F1007	24	29	43	61
6	F1009	18	28	42	59
7	F1011	21	34	49	60
8	F1012	24	31	47	62
9	F2001	18	30	45	64
10	F2002	23	31	43	60
11	F2003	25	35	49	64
12	F2004	24	32	46	61
13	F2006	22	29	43	60
14	F2007	21	32	46	64
15	F2009	20	34	48	65
16	F2011	23	32	45	63
17	F2012	19	32	46	64
18	F2012	23	34	49	67
19	F2013	20	33	46	65
20	F2013	21	34	50	63

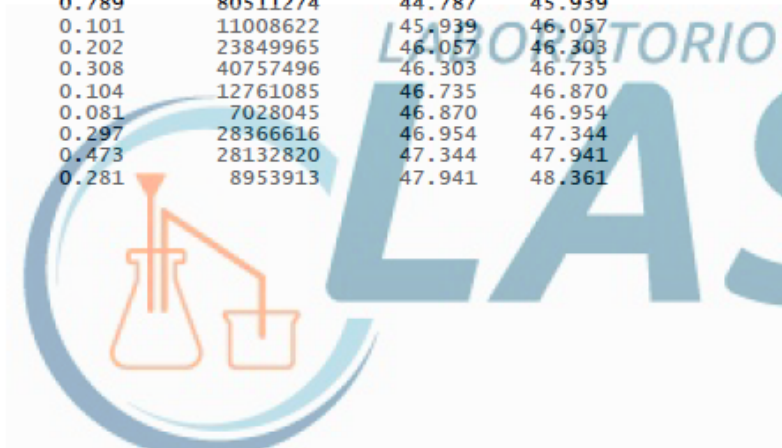
<i>Halos de inhibición obtenidos de la CMI del aceite esencial del orégano</i>							
Número	Código	10 %	5 %	3 %	2.5 %	2 %	1 %
1	F1001	23	16	10	8	6	3
2	F1003	26	16	8	8	5	2
3	F1004	24	15	9	8	4	2
4	F1006	28	19	10	8	3	1
5	F1007	23	13	9	8	3	2
6	F1009	22	15	8	7	3	1
7	F1011	21	14	8	10	5	2
8	F1012	24	17	9	9	5	2
9	F2001	24	19	10	8	4	1
10	F2002	22	15	9	6	3	2
11	F2003	22	18	10	8	4	2
12	F2004	24	17	9	10	5	2
13	F2006	23	15	9	9	5	2
14	F2007	21	16	9	7	5	1
15	F2009	25	18	10	9	3	1
16	F2011	20	16	9	8	5	3
17	F2012	21	15	8	7	4	2
18	F2012	22	19	9	8	6	3
19	F2013	24	17	8	8	7	3
20	F2013	25	19	9	8	4	2

**Anexo 3.** Resultados de la Cromatografía de gases para la obtención de los compuestos volátiles.

- Compuestos identificados con el tiempo de retención.

TIC: 22-14450 dil 1 a 10000.D\data.ms  
22-14450 dil 1 a 10000

Peak #	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time
1	9.075	BV	0.062	25108763	8.921	9.164
2	9.462	PV	0.089	37269459	9.352	9.606
3	9.961	PV	0.131	37770116	9.829	10.132
4	10.544	BV	0.071	77859676	10.409	10.624
5	10.661	VV	0.072	15001107	10.624	10.778
6	11.020	VV	0.077	15892173	10.928	11.086
7	11.721	PV	0.073	11153128	11.552	11.859
8	13.381	VV	0.069	16403055	13.304	13.474
9	13.940	BV	0.081	10908748	13.719	14.018
10	14.091	VV	0.093	12198385	14.018	14.210
11	14.412	PV	0.064	18563781	14.266	14.484
12	14.913	BV	0.080	21656723	14.782	15.013
13	15.094	PB	0.076	22557906	15.013	15.389
14	15.896	BV	0.069	799477057	15.511	16.315
15	19.080	PV	0.065	244621716	18.913	19.193
16	19.633	BV	0.077	26003076	19.428	19.736
17	20.437	VV	0.066	232473949	20.333	20.688
18	21.383	VV	0.066	98439393	21.258	21.474
19	21.579	VV	0.064	1546361411	21.474	21.666
20	21.721	VV	0.062	86117696	21.666	21.796
21	21.874	VV	0.066	95574731	21.796	22.029
22	22.430	PV	0.065	246755278	22.322	22.562
23	23.307	PV	0.065	290649314	23.203	23.527
24	24.909	VV	0.068	14325856	24.822	25.091
25	25.452	PV	0.068	53235956	25.337	25.519
26	25.555	VV	0.062	13573403	25.519	25.699
27	25.834	PV	0.070	42916497	25.699	26.004
28	27.652	PV	0.069	21129273	27.506	27.723
29	27.894	VV	0.065	8928264530	27.723	28.295
30	30.903	PB	0.066	264449237	30.724	31.160
31	31.595	PB	0.069	26614491	31.472	31.802
32	34.025	VV	0.071	11654795	33.952	34.201
33	44.742	BV	0.000	-207484777	40.654	44.787
34	45.896	VV	0.789	80511274	44.787	45.939
35	46.006	VV	0.101	11008622	45.939	46.057
36	46.273	VV	0.202	23849965	46.057	46.303
37	46.691	VV	0.308	40757496	46.303	46.735
38	46.800	VV	0.104	12761085	46.735	46.870
39	46.912	VV	0.081	7028045	46.870	46.954
40	47.239	VV	0.297	28366616	46.954	47.344
41	47.866	VV	0.473	28132820	47.344	47.941
42	48.314	VV	0.281	8953913	47.941	48.361



- % de los compuestos.

Library Search Report

Data Path : D:\MassHunter\GCMS\1\data\pest nitro 12102022\  
 Data File : 22-14450 dil 1 a 10000.D  
 Acq On : 13 Oct 2022 23:23  
 Operator :  
 Sample : 22-14450 dil 1 a 10000  
 Misc :  
 ALS Vial : 12 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\DATABASE\NBS75K.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1 sachu inchi.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	9.075	0.19	C:\DATABASE\NBS75K.L Borane carbonyl Morpholine, 2,6-dimethyl- 3-Aminopropionitrile	65 7968 505	013205-44-2 000141-91-3 000151-18-8	9 9 5
2	9.462	0.28	C:\DATABASE\NBS75K.L 2,2-Dimethyl-1,3-propanediamine Hydroxylamine, O-(3-methylbutyl)- Morpholine, 2,6-dimethyl-	4453 4693 7971	007328-91-8 019411-65-5 000141-91-3	9 9 9
3	9.961	0.28	C:\DATABASE\NBS75K.L (Aminomethyl)cyclopropane 1-Butanamine, 2-methyl- 1,2-Epoxy-3-propyl acetate	628 1934 8185	002516-47-4 000096-15-1 006387-89-9	9 9 9
4	10.544	0.58	C:\DATABASE\NBS75K.L Butane, 2-nitro- Morpholine, 2,6-dimethyl-, cis- 1-Butanol, 2-methyl-, (S)-	4616 7999 2159	000600-24-8 006485-55-8 001865-80-6	10 9 9
5	10.661	0.11	C:\DATABASE\NBS75K.L 18-Nonadecen-1-amine 2-Ethylbutylamine 6-Amino-1-hexyl phosphate	141081 4215 62591	1000221-52-8 000617-79-8 007564-68-3	9 9 9
6	11.020	0.12	C:\DATABASE\NBS75K.L Cyclohexanemethylamine 6-Amino-1-hexyl phosphate 1-Hexanamine, N-nitro-	7116 62591 22466	003218-02-8 007564-68-3 098275-81-1	9 9 9
7	11.721	0.08	C:\DATABASE\NBS75K.L 2-Ethylbutylamine 1-Hexanamine, N-nitro- 1-Butanol	4215 22466 841	000617-79-8 098275-81-1 000071-36-3	12 12 9
8	13.381	0.12	C:\DATABASE\NBS75K.L Toluene Spiro[2,4]hepta-4,6-diene Toluene	2482 2499 2478	000108-88-3 000765-46-8 000108-88-3	81 81 76
9	13.940	0.08	C:\DATABASE\NBS75K.L Hexanenitrile, 6-amino- 1-Propanamine, 3-propoxy- N-Formyl-beta-alanine	6407 8710 8614	002432-74-8 016728-59-9 014565-43-6	9 7 5
10	14.091	0.09	C:\DATABASE\NBS75K.L 3,3-Dimethylbutylamine 3-Butoxypropylamine Oxalic acid, ethyl propyl ester	4217 14244 32227	015673-00-4 016499-88-0 1000309-25-3	4 4 4
11	14.412	0.14	C:\DATABASE\NBS75K.L 2-Pentyn-1-ol N-Ethoxyisobuten-3-imine 3-(Prop-2-enoyloxy)dodecane	1409 7066 102359	006261-22-9 1000098-80-8 1000245-66-6	9 9 9
12	14.913	0.16	C:\DATABASE\NBS75K.L Cyclotrisiloxane, hexamethyl- Cyclotrisiloxane, hexamethyl- Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	85992 85994 85993	000541-05-9 000541-05-9 000541-05-9	90 90 90
13	15.094	0.17	C:\DATABASE\NBS75K.L 1-Butanol 1-Butanamine, 3-methyl- 1,4-Butanediamine	841 1943 1992	000071-36-3 000107-85-7 000110-60-1	9 7 4
14	15.896	5.97	C:\DATABASE\NBS75K.L 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl- 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl- 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	8340 8339 8338	000123-42-2 000123-42-2 000123-42-2	74 64 56
15	19.080	1.83	C:\DATABASE\NBS75K.L (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene -alpha.-Pinene (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene	16226 16063 16224	007785-70-8 000080-56-8 007785-70-8	96 94 94
16	19.633	0.19	C:\DATABASE\NBS75K.L 2-(1-Cyclohexenyl)ethylamine 2-(1-Cyclohexenyl)ethylamine Phenylethanolamine	11122 11121 17113	003399-73-3 003399-73-3 007568-93-6	12 10 10
17	20.437	1.74	C:\DATABASE\NBS75K.L			

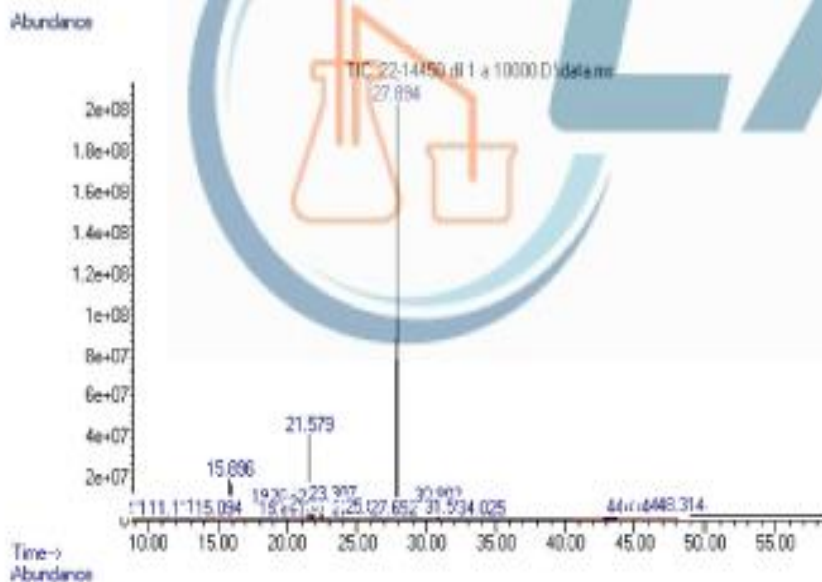


			.beta.-Myrcene	16061	000123-35-3	83
			Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	16274	003387-41-5	72
			(1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	16223	007785-26-4	68
18	21.383	0.73	C:\DATABASE\NBS75K.L (+)-2-Carene	16051	1000149-94-6	95
			(+)-4-Carene	16052	029050-33-7	94
			Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	16230	000586-62-9	92
19	21.579	11.54	C:\DATABASE\NBS75K.L p-Cymene	15142	000099-87-6	96
			Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	15243	000535-77-3	96
			o-Cymene	15140	000527-84-4	95
20	21.721	0.64	C:\DATABASE\NBS75K.L D-Limonene	16046	005989-27-5	96
			D-Limonene	16044	005989-27-5	90
			Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethyl)-	16206	013898-73-2	86
21	21.874	0.71	C:\DATABASE\NBS75K.L 1-Methyl-2-aminomethylimidazole	6198	124312-73-8	14
			9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-	171439	015677-71-1	8
			Cyclooctanecetic acid, 2-oxo-	50849	019144-09-3	4
22	22.430	1.84	C:\DATABASE\NBS75K.L .gamma.-Terpinene	16077	000099-85-4	96
			.gamma.-Terpinene	16078	000099-85-4	95
			.gamma.-Terpinene	16076	000099-85-4	93
23	23.307	2.17	C:\DATABASE\NBS75K.L Linalool	27451	000078-70-6	64
			Linalool	27447	000078-70-6	53
			Linalool	27453	000078-70-6	43
24	24.909	0.11	C:\DATABASE\NBS75K.L Spirohexan-4-one, 5,5-dimethyl-3-Butyn-1-ol	10741	067149-98-8	9
			2-(1-Cyclohexenyl)ethylamine	518	000927-74-2	9
				11122	003399-73-3	9
25	25.452	0.40	C:\DATABASE\NBS75K.L endo-Borneol	27488	000507-70-0	94
			endo-Borneol	27485	000507-70-0	91
			Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-	27824	000464-45-9	76
26	25.555	0.10	C:\DATABASE\NBS75K.L 2-Propanoic acid, 1-hydroxy-, oxime	2203	068113-52-0	7
			1-Propanamine, 3-chloro-N-Formyl-beta-alanine	2509	014753-26-5	5
				8614	014565-43-6	5
27	25.834	0.32	C:\DATABASE\NBS75K.L Terpineol	27454	1000411-59-6	91
			7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene-	27650	000543-39-5	64
			7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene-	27653	000543-39-5	45
28	27.652	0.16	C:\DATABASE\NBS75K.L Thymol	24339	000089-83-8	93
			Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	24486	000499-75-2	93
			3-Methyl-4-isopropylphenol	24408	003228-02-2	93
29	27.894	66.63	C:\DATABASE\NBS75K.L Benzene, (1-propenylthio)-	25263	022103-05-5	47
			Tricyclo[3.2.1.0<2,4>]oct-6-ene, (1.alpha.,2.alpha.,4.alpha.,5.alpha.)-	5205	003635-94-7	43
			Formic acid, 2-phenylhydrazide	16536	000622-84-4	38
30	30.903	1.97	C:\DATABASE\NBS75K.L Caryophyllene	68509	000087-44-5	91
			Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4Z,9S*)]-	68786	000118-65-0	90
			Caryophyllene	68513	000087-44-5	38
31	31.595	0.20	C:\DATABASE\NBS75K.L Butane, 1,4-bis(3-phenylureido)-	184031	1000294-02-1	4
			2,4,6-Octatrien-1-ol, 3,7-dimethyl-(E,E)-	26005	089155-85-1	4
			2-Chloroethanol	1057	000107-07-3	3
32	34.025	0.09	C:\DATABASE\NBS75K.L Ethanamine, 2-phenoxy-	17128	001758-46-9	4
			Oleylamine	127673	000112-90-3	4
			9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-	171439	015677-71-1	4
33	44.742	-1.55	C:\DATABASE\NBS75K.L N-Ethylformamide	742	000627-45-2	5
			2-(3-Methylguanidino)ethanol	8598	1000242-22-5	3
			cis-Aconitic anhydride	29562	006318-55-4	2
34	45.896	0.60	C:\DATABASE\NBS75K.L Tetrasiloxane, 1,7-dialloctadecyl	214370	1000309-08-2	53
			Tetrasiloxane, decamethyl-	168284	000141-62-8	42
			Tetrasiloxane, decamethyl-	168283	000141-62-8	42



35	46.006	0.08	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			Tetrasiloxane, decamethyl-	168283	000141-62-8	53		
			Tetrasiloxane, 1,7-diallyloctadecyl	214370	1000309-08-2	53		
			Tetrasiloxane, decamethyl-	168284	000141-62-8	42		
36	46.273	0.18	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			N-Ethylformamide	742	000627-45-2	4		
			Hydrazinecarboxamide	917	000057-56-7	4		
			N-Formyl-beta-alanine	8614	014565-43-6	3		
37	46.691	0.30	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			1-(4-bromobutoxy)-2,4-bis(2-methyl	218915	1000398-60-1	9		
			butan-2-yl)benzene					
			N-Ethylformamide	742	000627-45-2	5		
			Hydrazinecarboxamide	917	000057-56-7	4		
38	46.800	0.10	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			N,N-Dimethylformamide dipropyl ace	44099	006006-65-1	5		
			tal					
			N-Ethylformamide	742	000627-45-2	5		
			N-Formyl-beta-alanine	8614	014565-43-6	3		
39	46.912	0.05	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			Oleylamine	127673	000112-90-3	4		
			N-Ethylformamide	742	000627-45-2	4		
			Hydrazinecarboxamide	917	000057-56-7	4		
40	47.239	0.21	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			1-(4-bromobutoxy)-2,4-bis(2-methyl	218915	1000398-60-1	9		
			butan-2-yl)benzene					
			N-Ethylformamide	742	000627-45-2	4		
			Hydrazinecarboxamide	917	000057-56-7	4		
41	47.866	0.21	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			1-(4-bromobutoxy)-2,4-bis(2-methyl	218915	1000398-60-1	9		
			butan-2-yl)benzene					
			Hydrazinecarboxamide	917	000057-56-7	4		
			N,N-Dimethylformamide dipropyl ace	44099	006006-65-1	3		
			tal					
42	48.314	0.07	C:\DATABASE\NBS75K.L					
			Oleylamine	127673	000112-90-3	4		
			N-Ethylformamide	742	000627-45-2	4		
			Hydrazinecarboxamide	917	000057-56-7	4		

Back als DB...n g14integ.M Fri Oct 14 10:55:57 2022



**Anexo 4.** Fotografías de la investigación.



**Fot. 1:** Preparación del material vegetal



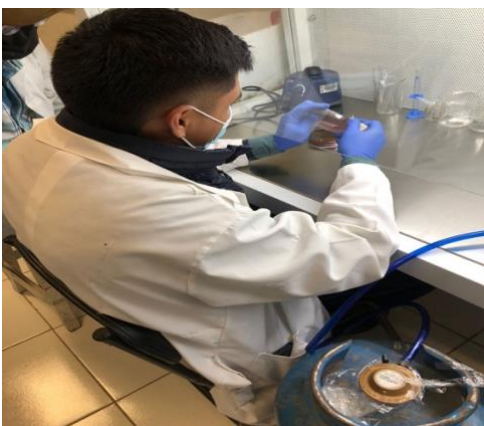
**Fot. 2:** Orégano utilizado.



**Fot 3:** Observación clínica a los animales de la propiedad



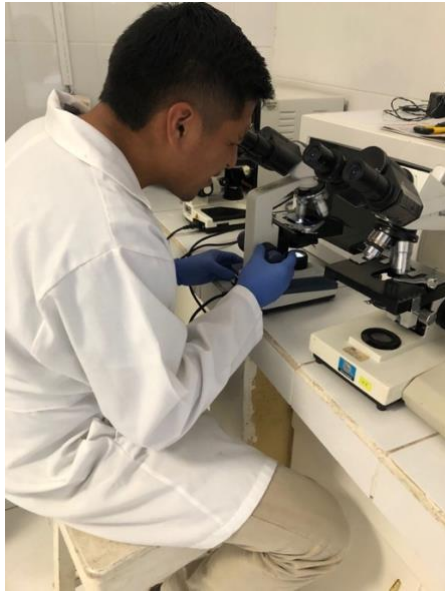
**Fot 4.** Toma de muestras para realizar CMT



**Fot 5.** Aislamiento microbino



**Fot 6:** Identificación.



**Fot 7.:** *Proceso de Tinción de Gram*



**Fot 8.:** *Escherichia coli en agar Macconkey*



**Fot 9.:** *Perfiles IMVIC*

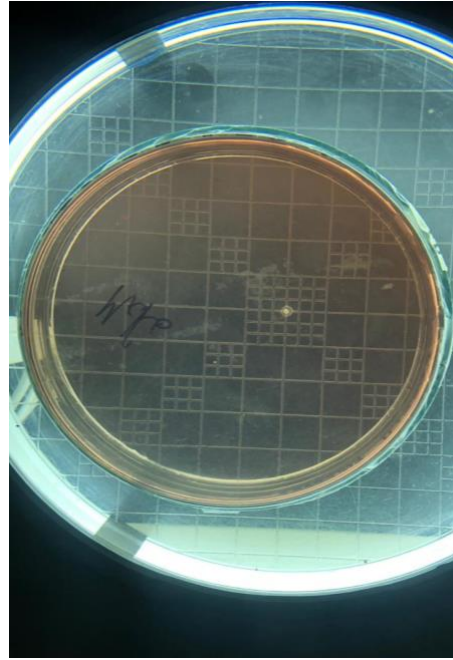


**Fot 10.:** *Prueba de indol (-)*

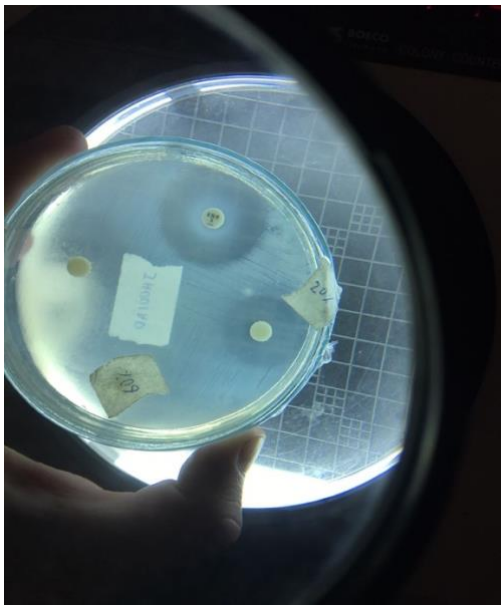




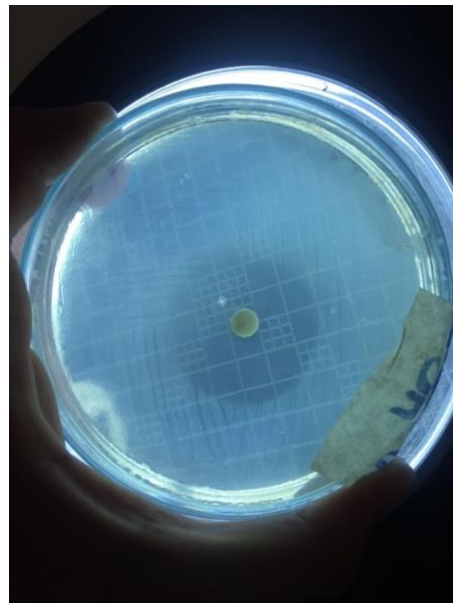
**Fot 11.:** *TSI positivo*



**Fot 12.:** *Placa sin crecimiento.*



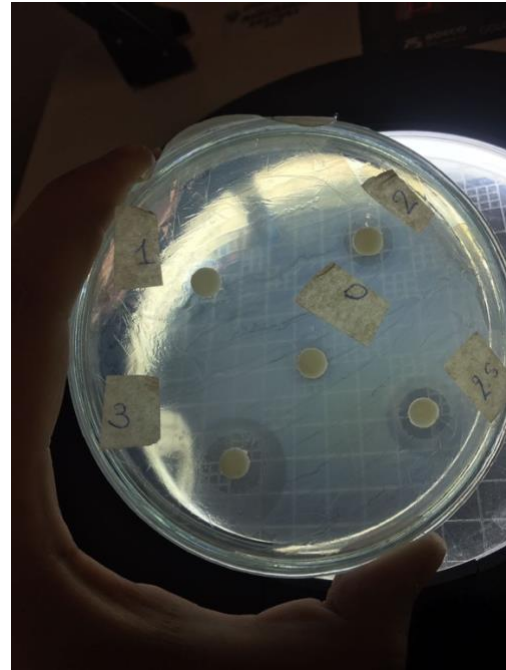
**Fot 13.:** *Actividad antimicrobiana del aceite esencial 20% y Enrofloxacin*




**Fot 14.:** *Actividad antimicrobiana del aceite esencial 40%.*



**Fot 15.:** *Actividad antimicrobiana del aceite esencial al 60%*



**Fot 16.:** *Actividad antimicrobiana del aceite esencial al 1, 2, 2.5, 3, 5 y 10%*

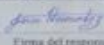
  
 Universidad Estatal de Bolívar  
 Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente  
 Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**Tema:** Determinación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial del *Origanum vulgare* frente a cepas de *Escherichia coli* aisladas de resacas bovinas

**Fecha:** 08 de Agosto del 2022

**Propiedad:** Finca "Cuchumatán", J. Nueva Florencia, M.

Propiedad	Número de aceite	Código	Cuanto marcarlo
Propiedad 1	FR 0070	F 1001	Post. Izq.
Propiedad 1	FR 0010	F 1003	Anterior Izq.
Propiedad 3	FR 0010	F 1004	Anterior Dere.
Propiedad 4	FR 0050	F 1005	Post. Dere.
Propiedad 5	FR 0055	F 1006	Anterior Izq.
Propiedad 5	FR 0055	F 1007	Post. Anter.
Propiedad 5	FR 1010	F 1008	Anterior Izq.
Propiedad 5	FR 1020	F 1009	Post. Izq.
Propiedad 5	FR 1021	F 1004	Post. Dere.
Propiedad 5	FR 1022	F 1003	Anterior Dere.
Propiedad 5	FR 1001	F 1007	Posterior Izq.
Propiedad 5	FR 1004	F 1006	Anterior Dere.

  
 Firma del responsable

**Fot 17.:** *Hoja de ruta.*



**Fot 18.:** *Visita de campo por parte del tribunal*

## **Anexo 5** Glosario de términos

**ABSORCIÓN:** Movimiento de sustancias hacia el interior de las células. Transferencia de energía desde las ondas electro-magnéticas a los enlaces químicos.

**ANAEROBIO:** Organismo que crece en tanto presencia o como en ausencia de oxígeno.

**ANTIBIOGRAMA:** El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos. Las técnicas de antibiograma son las utilizadas en el laboratorio de microbiología para estudiar la actividad de los antimicrobianos frente a los microorganismos responsables de las infecciones.

**ANTICUERPO:** Un anticuerpo, también llamado inmunoglobulina, es una proteína producida por el sistema inmunitario como respuesta a la detección de la presencia de una sustancia percibida como ajena al organismo. Esta sustancia, denominada antígeno, puede ser una bacteria, un parásito, o incluso una molécula, como las proteínas. Los anticuerpos reconocen a los antígenos y se enganchan a ellos a fin de expulsarlos del cuerpo humano. A cada anticuerpo le corresponde un antígeno.

**BACTERIA:** Las bacterias son microorganismos procariotas que presentan un tamaño de unos pocos micrómetros (por lo general entre 0,5 y 5  $\mu\text{m}$  de longitud) y diversas formas, incluyendo filamentos, esferas (cocos), barras (bacilos), sacacorchos (vibrios) y hélices (espirilos).

**BACTERIOCINAS:** Proteínas excretadas por unas bacterias que inhiben o matan a otras especies relacionadas.

**BACTERIOCLOROFILAS:** Pigmentos de las bacterias que realizan fotosíntesis anoxigénica.

**BACTERIÓFAGO:** Virus que infecta células procarióticas.

**BACTERIORRODOPSINA:** Proteína que contiene retinal, presente en la membrana de algunas arqueobacterias halófilas extremas.

**BACTERIOSTÁTICO:** Que inhibe el crecimiento y la multiplicación de las bacterias, sin matarlas.

**CATALASA:** Enzima que descompone el peróxido de hidrógeno liberando oxígeno.

**CMI:** Es la menor concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de bacterias en medio de cultivo, tras 18-24 h de incubación. Se clasifica la sensibilidad de un germen frente a un antibiótico en función de sus respectivas CMI.

**CITRATOASAS :** Sistema de enzimas que convierten al acetato (proveniente de la descarboxilación del piruvato o de la  $\beta$ oxidación de los ácidos grasos) en CO<sub>2</sub> con la liberación de átomos de hidrógeno, acarreados por los transportadores hacia la cadena respiratoria.

**CITOSOL:** Materia viva encerrada por la membrana citoplasmática. Citoquinas. Proteínas mediadoras de la respuesta inmune producidas por los leucocitos.

**CINÉTICA MICROBIANA.** Representación de los cambios en la población microbiana a lo largo del tiempo.

**CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA:** La mínima concentración de una sustancia para matar o inhibir el crecimiento de los microorganismos.

**COLIFORMES:** Bacterias Gram-negativas facultativas que fermentan lactosa con producción de gas.

**COLONIA.** Masa de microorganismos visible sobre un medio sólido, proveniente de una sola célula en la mayoría de los casos. / Conjunto de hifas, generalmente con esporas, que puede ser un solo individuo si proviene de una sola espora o célula.

**DISBIOSIS:** También denominada disbacteriosis, hace referencia a un desequilibrio en el número o tipo de colonias microbianas que han colonizado al hombre. Se da más en el tracto digestivo, pero puede producirse en cualquier parte en la que haya una superficie expuesta o una membrana mucosa. La disbiosis puede afectar a la digestión, absorción de nutrientes, producción de vitaminas y control de microorganismos dañinos. Numerosos factores, entre ellos los cambios de hábitos alimenticios o los tratamientos antibióticos.

***Escherichia coli:*** Es una especie bacteriana (familia de las Enterobacteraceae) que vive habitualmente en el intestino de humanos y animales. La mayoría de *E. coli*

son inofensivas y desempeñan un papel esencial a la hora de mantener un sistema digestivo sano, ayudar a digerir los alimentos y producir vitamina K. Sin embargo, algunas de estas bacterias *E. coli* son patógenas y pueden provocar enfermedades. Los serotipos dañinos pueden transmitirse mediante el agua o alimentos contaminados o a través del contacto con animales u otras personas infectadas.

**GRAM-NEGATIVA:** Célula procariótica cuya pared celular contiene relativamente poco péptidoglucano y tiene una membrana externa compuesta de lipopolisacáridos, lipoproteínas y otras macromoléculas complejas. Aparece roja después de sometida a la tinción de Gram.

**GRAM-POSITIVA:** Célula procariótica cuya pared celular consiste principalmente de péptidoglucano y no posee membrana externa. Aparece azul o violeta después de la tinción de Gram.

**POLIPÉPTIDO.** Molécula que consta de muchos aminoácidos unidos por enlaces peptídicos.

**RESERVORIO:** Organismo o ambiente que normalmente alberga a un patógeno

**RESPIRACIÓN ANAERÓBICA.** Uso de un aceptor de electrones distinto del O<sub>2</sub>, en una oxidación basada en el transporte de electrones que conduce a la bomba de protones.

**RESISTENCIA FARMACOLOGICA:** Se produce cuando las células cancerosas o los microorganismos, como bacterias o virus, no responden a un medicamento que por lo general los debilita o destruye.

**RETÍCULO ENDOPLÁSMICO:** Una disposición de membranas internas en las células eucarióticas.