



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Medicina Veterinaria

Tema:

EVALUACIÓN DEL ESPECTRO ANTIMICROBIANO DEL CANNABIDIOL, FRENTE *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* MEDIANTE UN ESTUDIO IN VITRO

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

Autores

Dagmar Paola Navarro Osorio
Geovanny Alexander Parco Gavilanes

Tutor

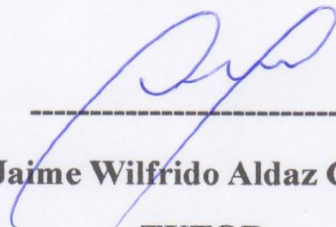
Dr. Jaime Wilfrido Aldaz Cárdenas

Guaranda – Ecuador

2024

EVALUACIÓN DEL ESPECTRO ANTIMICROBIANO DEL CANNABIDIOL, FRENTE *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* MEDIANTE UN ESTUDIO IN VITRO.

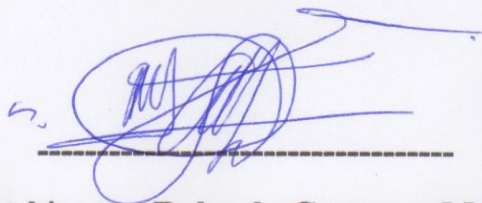
REVISADO Y APROBADO POR:



Dr. Jaime Wilfrido Aldaz Cárdenas
TUTOR



Dr. Washington Fernando Carrasco Sangache
PAR LECTOR



Dr. Washington Rolando Carrasco Mancero.
PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA



Nosotros, Dagmar Paola Navarro Osorio, con CI 0921890703, y Parco Gavilanes Geovanny Alexander, con CI 0250215589, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

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

Autora

DAGMAR PAOLA NAVARRO OSORIO

CI: 0921890703

Autor

GEOVANNY ALEXANDER PARCO GAVILANES

CI: 0250215589

Tutor

DR. JAIME WILFRIDO ALDAZ CÁRDENAS PhD.

CI: 0201104296



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



...rio

Nº ESCRITURA 20240201003P02721

DECLARACION JURAMENTADA

OTORGADA POR:

DAGMAR PAOLA NAVARRO OSORIO y

GEOVANNY ALEXANDER PARCO GAVILANES

INDETERMINADA

DI: 2 COPIAS L.L.

Factura: 001-001-000016284

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día nueve de octubre del dos mil veinticuatro, ante mi Abogado Magister HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda, comparecen la señorita DAGMAR PAOLA NAVARRO OSORIO soltera, celular 0982218033; y, GEOVANNY ALEXANDER PARCO GAVILANES soltero, con número de celular 0993994339, domiciliados en esta ciudad de Guaranda, por sus propios derechos, obligarse a quienes de conocerlos 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, advertido de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presenta su declaración Bajo Juramento declaran lo siguiente "Previo a la obtención del Título de Médico Veterinario, de la carrera de Medicina Veterinaria, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar, manifestó que los criterios e ideas emitidas en el presente estudio de caso titulado **EVALUACIÓN DE ESPECTRO ANTIMICROBIANO DEL CANNABIDIOL, FRENTE *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* MEDIANTE UN ESTUDIOS IN VITRO** es de nuestra exclusiva responsabilidad en calidad de autores". Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad, la misma que la hago 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 les fue a los comparecientes por mí el Notario en unidad de acto, se incorpora al protocolo de esta Notaria la presente escritura, de todo lo cual doy fe.-

Dagmar Navarro
 DAGMAR PAOLA NAVARRO OSORIO
 C.C. 0921890703

[Signature]
 Y GEOVANNY ALEXANDER PARCO GAVILANES
 C.C. 0250215589

[Signature]

AB. HENRY ROJAS NARVAEZ
 NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA



DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi familia y a mis animalitos, quienes siempre han sido una parte importante de mi vida. En especial, agradezco a mi madre, Gabriela, por inculcarme buenos sentimientos y valores que me han ayudado en momentos difíciles. A mi padre, Danilo, por ser esa luz de guía en cada uno de mis proyectos, y a mi segundo padre, Lenin, por su sabiduría y conocimiento que han enriquecido mis experiencias. También, agradezco a mis perrihijos y gatihijos por acompañarme en este proceso universitario. A toda mi familia, amigos, conocidos y mascotas, gracias por nunca dejarme rendirme.

Dagmar Navarro

DEDICATORIA

Este logro es para aquellos que creyeron en mí y me alentaron a seguir adelante, sobre todo a mis padres Melida y Klever, por ser ese ejemplo de perseverancia. Cada dificultad y victoria durante este proceso universitario ha sido fundamental para mi crecimiento personal y profesional. Me llevo la enseñanza de que, con determinación y resiliencia, las metas planteadas se materializan. Esta tesis es el resultado de su apoyo incondicional y de todos los que, de alguna manera, contribuyeron a mi formación. Gracias por ser parte de este camino.

Geovanny Parco

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Universidad Estatal de Bolívar por brindarnos la oportunidad de formar parte de esta comunidad académica, y de manera especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente por su apoyo incondicional.

Queremos expresar nuestra profunda gratitud a la Escuela de Medicina Veterinaria por su invaluable contribución académica y científica. Su compromiso con la excelencia educativa y su disposición para proporcionar los recursos necesarios han sido esenciales para el desarrollo y la ejecución de nuestra investigación.

Expresamos nuestra más profunda gratitud a nuestro tutor, Dr. Jaime Aldaz, por su orientación experta, su constante apoyo y los conocimientos que nos ha brindado, los cuales han sido fundamentales para la realización de este trabajo de investigación.

Agradecemos también al Dr. Fernando Carrasco y al Dr. Washington Carrasco por su valioso asesoramiento en este proyecto, cuya contribución ha sido significativa para la calidad del mismo.

Finalmente, queremos agradecer a nuestro amigo, el Ing. Roberto Morán, por su invaluable colaboración en la ejecución del trabajo de campo, sin la cual este proyecto no habría sido posible.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	pág.
CAPÍTULO I	16
1.1. INTRODUCCIÓN	16
1.2. PROBLEMA	18
1.3. OBJETIVOS	20
1.3.1. Objetivo General	20
1.3.2. Objetivos Específicos	20
1.4. HIPÓTESIS	21
1.4.1. Hipótesis nula	21
1.4.2. Hipótesis alterna	21
CAPÍTULO II	21
2. MARCO TEÓRICO	21
2.2. Resistencia a los antibióticos	22
2.2. Amoxicilina	23
2.3. Enrofloxacin	23
2.4. Gentamicina	23
2.5. Oxitetraciclina	24
2.6. Bacterias Gram positivas y Gram negativas	24
2.7. Prueba de sensibilidad antibacteriana	27
2.8. Método de difusión en disco	27
2.9. Medios de cultivo	28
2.10. Agar Mueller Hinton	28
2.11. Descripción general del Cannabis	28
2.11.1. Cannabis medicinal en el Ecuador	28
2.11.3. Cannabinoides	29
2.11.4. Cannabidiol	30
2.11.5. Extracción del cannabis	30
2.11.6. Extracción con fluidos supercríticos (SFE)	30
CAPÍTULO III	31
3. MARCO METODOLÓGICO	31
3.1. Ubicación y características de la investigación	31
3.2. Metodología	32
3.2.1. Material en estudio	32

3.2.2. Obtención del Cannabidiol	32
3.2.3. Obtención del material biológico	32
3.2.4. Factores en estudio	32
3.2.5. Tratamientos	33
3.2.6. Tipo de diseño experimental	34
3.2.7. Manejo de la investigación	34
3.2.7.1. Elaboración de los medios de cultivo	34
3.2.7.2. Activación de las cepas bacterianas	35
3.2.7.3. Preparación de las diluciones del CBD	35
3.2.7.4. Preparación de los discos de sensibilidad	36
3.2.7.5. Preparación medio líquido	36
3.2.7.6. Preparación del inóculo bacteriano	37
3.2.7.7. Antibiograma	37
3.2.7.8. Método de microdilución en medio líquido.	38
3.2.7.9. Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (MBC)	39
3.2.8. Métodos de evaluación	39
3.2.8.1 Prueba de susceptibilidad bacteriana	39
3.2.8.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC)	39
3.2.8.3. Determinación de la concentración bactericida inhibitoria (MBC)	39
3.2.8.4. Insumos de laboratorio	¡Error! Marcador no definido.
3.2.8.5. Equipos	¡Error! Marcador no definido.
3.2.8.6. Reactivos	¡Error! Marcador no definido.
3.2.9.7. Análisis de datos	40
CAPÍTULO IV	40
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
4.1. Evaluación de la actividad antibacteriana de los antibióticos	40
4.2. Actividad antibacteriana del CBD frente a Streptococcus agalactiae	42
4.3. Actividad antibacteriana del CBD Staphylococcus aureus	45
4.4. Actividad antibacteriana del CBD frente a Pseudomonas aeruginosa	47
4.5. Actividad antibacteriana del CBD contra Escherichia coli ATCC* 11775 TM	49
4.7. Concentración bactericida mínima (MBC)	52
4.8. Comprobación de la hipótesis	52
CAPÍTULO V	54
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54

5.1. Conclusiones	54
5.2. Recomendaciones	55
BIBLIOGRAFÍA.	56
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Nº	Detalle	pág.
1.	Número de tratamientos y repeticiones para las cuatro cepas bacterianas.	33
2.	Concentraciones de CBD para antibiograma	35
3.	Concentraciones de CBD para la concentración mínima inhibitoria.	36
4.	Halo de inhibición de los antibióticos	40
5.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Streptococcus agalactiae</i>	42
6.	Comparación del CBD frente a <i>Streptococcus agalactiae</i>	43
7.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	45
8.	Comparación del CBD frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	45
9.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
10.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Escherichia coli</i>	48
11.	Concentración mínima inhibitoria de las diluciones del CBD	51
12.	Concentración bactericida mínima de las diluciones del CBD	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Nº	Detalle	pág.
1.	Gráfico del halo de inhibición de los antibióticos	41
2.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Streptococcus agalactiae</i>	43
3.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	46
4.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
5.	Halo de inhibición del CBD frente a <i>Escherichia coli</i>	50

ÍNDICE DE ANEXOS

Nº	Detalle
1.	Mapa de ubicación de la investigación
2.	Instrucciones para la activación de las cepas bacterianas
3.	Base de datos
4.	Fotografías de la fase experimental
5.	Glosario de términos

RESUMEN

La resistencia a los antibióticos representa un desafío creciente a nivel mundial, suscitando un interés considerable por parte de gobiernos y organismos de salud en todo el mundo. En respuesta a esta problemática y siguiendo las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la investigación de compuestos de origen vegetal, se investigó la actividad antimicrobiana del Cannabidiol (CBD) frente a *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. En la metodología se aplicó el método del antibiograma por difusión en disco, utilizando concentraciones de CBD al 3%, 6% y 9%, y se compararon con los antibióticos Amoxicilina, Enrofloxacin, Gentamicina y Oxitetraciclina como controles positivos. Para determinar la concentración mínima inhibitoria, se probaron concentraciones de CBD de 0,0125%, 0,025%, 0,05%, 0,10%, 0,50% y 1%, las cuales también se emplearon para determinar la concentración mínima bactericida según la turbidez. El extracto de CBD obtenido en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Estatal de Bolívar demostró que, a una concentración del 9%, presenta los mayores halos de inhibición para *S. agalactiae* y *S. aureus*, aunque estos resultados fueron inferiores a los observados en los controles positivos. Sin embargo, no se observó actividad contra *P. aeruginosa* ni *E. coli*. Asimismo, se determinó que la concentración mínima inhibitoria para las bacterias Gram positivas es de 0,05%, siendo esta misma dosis efectiva para la concentración mínima bactericida.

Palabras clave: Cannabidiol, Bacterias Gram positivas y Gram negativas, pruebas de sensibilidad antibacteriana.

SUMMARY

Antibiotic resistance represents a growing challenge worldwide, sparking considerable interest from governments and health organizations worldwide. In response to this issue and following the guidelines of the World Health Organization (WHO) on the research of compounds of plant origin, the antimicrobial activity of Cannabidiol (CBD) against *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* was investigated. The methodology involved the application of the disk diffusion method, using CBD concentrations of 3%, 6%, and 9%, which were compared with the antibiotics Amoxicillin, Enrofloxacin, Gentamicin, and Oxytetracycline as positive controls. To determine the minimum inhibitory concentration, CBD concentrations of 0.0125%, 0.025%, 0.05%, 0.10%, 0.50%, and 1% were tested, which were also used to determine the minimum bactericidal concentration based on turbidity. The CBD extract obtained at the Molecular Biology Laboratory of the Universidad Estatal de Bolívar showed that, at a concentration of 9%, it presents the largest inhibition halos for *S. agalactiae* and *S. aureus*, although these results were lower than those observed in the positive controls. However, no activity was observed against *P. aeruginosa* or *E. coli*. Likewise, it was determined that the minimum inhibitory concentration for Gram-positive bacteria is 0.05%, which is also effective for the minimum bactericidal concentration.

Keywords: Cannabidiol, Gram-positive and Gram-negative bacteria, antibacterial sensitivity tests.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Los antibióticos son utilizados para prevenir y tratar infecciones bacterianas. La resistencia a estos fármacos surge cuando las bacterias experimentan cambios genéticos en respuesta a su uso. La resistencia a los antibióticos está creciendo a nivel mundial, lo que representa un riesgo para el tratamiento de enfermedades infecciosas comunes en la salud pública y veterinaria (Camacho, 2023).

En América Latina, la resistencia bacteriana ha alcanzado niveles críticos, lo que representa una seria preocupación para la salud pública. Además, muchos centros de salud en la región no tienen programas de optimización del uso de antimicrobianos (PROA), a pesar de que esta estrategia ha demostrado ser efectiva para combatir las infecciones causadas por microorganismos resistentes. La implementación de PROA en la región ha sido lenta (Fuentes, 2023).

El *Streptococcus agalactiae* es considerado un patógeno de gran importancia en la producción de ganado bovino, ya que causa principalmente casos subclínicos y crónicos de mastitis (Jaramillo et al., 2018). Dado que *Staphylococcus aureus* es un patógeno oportunista, la exposición frecuente de los humanos a animales de compañía y de g

ranja aumenta la posibilidad de transmisión entre estas especies (Galarza & Yarzábal, 2021).

Mientras que *Escherichia coli* se destaca por su implicación en cuadros de colibacilosis en animales de producción, especialmente en porcinos (Miranda et al., 2018). Además, se ha observado que esta bacteria es común en la piometra en animales de compañía. *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista e invasivo que juega un papel importante en la perpetuación de las otitis crónicas. Esta bacteria forma biopelículas protectoras sobre los tejidos colonizados, lo que dificulta su tratamiento (Paz et al., 2019).

En el Ecuador, en febrero de 2021, la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (Arcsa), emitió y publicó la Normativa Técnica Sanitaria para la regulación y control de productos terminados de uso y consumo humano que

contengan cannabis no psicoactivo o cáñamo, o derivados de cannabis no psicoactivo o cáñamo (ARCOSA, 2021).

El cannabidiol representa aproximadamente el 40% de los extractos obtenidos de la planta. Su interacción con el Sistema Endocannabinoide produce un efecto sedante que inhibe la transmisión de señales nerviosas asociadas al dolor. Además, se han descrito propiedades anticonvulsivantes, tranquilizantes y antiinflamatorias, entre otras (García et al., 2021). También el aceite CBD de una marca ecuatoriana ha demostrado cierta acción antimicrobiana frente a *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (Pila & Jiménez, 2022).

Por ello, se evaluó el halo de inhibición para diferentes concentraciones del extracto supercrítico de CBD en bacterias Gram positivas y Gram negativas, en relación con el grado de sensibilidad de los antimicrobianos convencionales. Además, se busca contribuir al conocimiento científico sobre la aplicación terapéutica del cannabis en medicina veterinaria y humana, sobre todo buscando nuevas alternativas que nos permiten mantener el bienestar animal.

1.2. PROBLEMA

La resistencia a los antibióticos constituye una problemática creciente a nivel global, generando un interés significativo por parte de gobiernos y organizaciones sanitarias en todo el mundo. No obstante, en países que carecen de políticas públicas y controles epidemiológicos normalizados, el personal sanitario tiende a prescribir y la población general a consumir agentes antimicrobianos sin control alguno. Esta tendencia acerca cada vez más un escenario en el que las enfermedades infecciosas comunes puedan volverse potencialmente mortales, lo que se conoce como la “era post-antibióticos”.

Diversos factores contribuyen a esta resistencia, como la venta indebida de antibióticos, que lleva a los ganaderos a utilizarlos como promotores del crecimiento del ganado o para prevenir infecciones en animales sanos. Además, el uso incorrecto de antimicrobianos, especialmente sin un diagnóstico preciso, como en procesos virales o de micosis, tiene un impacto significativo. El abandono prematuro de los tratamientos también juega un papel importante en este fenómeno.

La resistencia a los antibióticos responde al siguiente postulado: son las bacterias, y no los humanos ni los animales, las que desarrollan resistencia a los antimicrobianos. Esta resistencia se ve exacerbada por la capacidad de las bacterias para transferir material genético a su progenie, lo que amplifica su resistencia a estos medicamentos.

Las bacterias asociadas a infecciones nosocomiales se caracterizan por su notable resistencia a los antibióticos, lo que representa un gran desafío en su control y tratamiento. Esto genera futuras amenazas en la medicina veterinaria y, por ende, para la salud pública. Se ha observado que entre los agentes bacterianos aislados de infecciones nosocomiales tanto en medicina humana como veterinaria se encuentran bacterias como *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, las cuales serán evaluadas en esta investigación.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su esfuerzo por frenar una posible era post-antibióticos, busca la aplicación de principios activos de origen vegetal en

terapéutica. Estos principios se fundamentan en el conocimiento científico moderno y representan pilares fundamentales de la farmacología y la terapéutica actual. Dentro de estas plantas medicinales, se encuentra el Cannabis sativa, una angiosperma originaria de Asia con una amplia distribución debido a su adaptación geoclimática y ecosistémica.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

- Evaluar el espectro antimicrobiano del Cannabidiol contra *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* mediante un estudio in vitro

1.3.2. Objetivos Específicos

- Activar las cepas de *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.
- Identificar el antimicrobiano que genera una mayor eficacia sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas.
- Determinar la bacteria clínica con mayor tolerancia a los antibióticos.
- Establecer el grado de sensibilidad de las diferentes concentraciones del extracto de CBD.

1.4. HIPÓTESIS

1.4.1. Hipótesis nula

El extracto del Cannabidiol sativa no tiene efecto antibacteriano significativo in vitro sobre *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* comparado con los cuatro controles positivos.

1.4.2. Hipótesis alterna

El extracto del Cannabidiol tiene efecto antibacteriano significativo in vitro sobre *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* comparado con los cuatro controles positivos.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antibióticos

Son sustancias químicas también conocidas como antibacterianos que pueden detener el crecimiento de bacterias (siendo bacteriostáticos) o eliminarlas por completo (siendo bactericidas). Estos compuestos son producidos por una variedad de organismos, como bacterias y hongos. Además, existen antibióticos de origen sintético y semisintético que se obtienen mediante modificaciones químicas para mejorar su espectro de acción y las formas de administración (Fernández, 2013).

2.2. Resistencia a los antibióticos

Se describe de forma más precisa como la habilidad de una bacteria para resistir las concentraciones terapéuticas de un fármaco dado. A nivel genético, se han identificado diversos mecanismos de transferencia de información entre bacterias que están relacionados con esta resistencia, destacando la conjugación, la transformación y la transducción, que permiten la diseminación de genes asociados a la resistencia antimicrobiana (Camacho, 2023).

En el mundo de la ganadería, los antimicrobianos se usan para tratar infecciones, prevenir enfermedades y evitar complicaciones debidas al estrés fisiológico. A menudo se emplean como promotores del crecimiento, pero debido a las preocupaciones de la OMS, la OIE y la FAO, muchos países han tomado medidas para restringir este uso. En la producción ganadera intensiva, los antibióticos suelen administrarse a grandes grupos de animales simultáneamente, sin distinguir entre animales enfermos y sanos. Esto puede llevar a la dispersión de antibióticos en el ambiente a través de las excretas, lo que altera las comunidades bacterianas y favorece el desarrollo de resistencia antimicrobiana (Espinosa et al., 2019).

El cultivo y antibiograma previos al inicio de un tratamiento de erradicación no se consideran costo – beneficio ni se realizan de manera habitual. Por ello, la selección del tratamiento se basa en pautas internacionales. Sin embargo, conocer los patrones locales de sensibilidad puede ser útil para elegir los esquemas terapéuticos más adecuados para cada población específica (Pereyra et al., 2017).

2.2. Amoxicilina

La amoxicilina es una aminopenicilina, una clase de antibióticos que se consideran penicilinas de amplio espectro. Es similar en eficacia y campo de acción a la ampicilina, otra aminopenicilina efectiva. Se utiliza en medicina veterinaria debido a su capacidad bactericida, que va más allá de simplemente inhibir la reproducción bacteriana. Su efectividad terapéutica es superior a la de la penicilina natural. Además, la amoxicilina es eficaz contra diversas bacterias aerobias, como *Haemophilus*, *Klebsiella* y *E. coli* (J. Morales, 2019).

2.3. Enrofloxacina

En la mayoría de las especies animales, las fluoroquinolonas tienen un gran volumen de distribución, mucho mayor que el de los betalactámicos y aminoglucósidos. Alcanzan altas concentraciones en saliva, secreción nasal, mucosa, epitelio y secreción bronquial, así como en el hígado y en el tracto urinario. Penetran bien en el tejido pulmonar, el fluido de revestimiento y los macrófagos alveolares, lo que resulta en concentraciones mayores que en la sangre. En general, las fluoroquinolonas tienen una buena absorción oral en animales, excepto en rumiantes y posiblemente en equinos, y una completa absorción parenteral (Otero et al., 2001).

2.4. Gentamicina

Es un aminoglucósido con acción bactericida, altamente efectivo contra una amplia gama de bacilos gramnegativos como *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y especies de *Proteus* positivas a indol, así como *Pseudomonas aeruginosa*. Actúa ingresando a las bacterias susceptibles a través de transporte activo, donde se une de forma irreversible a las subunidades ribosómicas 30S, impidiendo la síntesis de proteínas y llevando a la muerte celular. La gentamicina tiene una absorción oral muy limitada, pero se absorbe rápida y casi completamente de los depósitos intramusculares (Rodríguez, 2013).

2.5. Oxitetraciclina

La oxitetraciclina, perteneciente al grupo de las tetraciclinas, actúa inhibiendo la síntesis de proteínas en las bacterias a nivel ribosomal. Su acción es principalmente bacteriostática, afectando tanto a bacterias Gram-positivas como Gram-negativas, así como a otros microorganismos como micoplasmas, espiroquetas, clamidias y rickettsias. Actualmente, se clasifica como co-dependiente en cuanto a su cinética de muerte bacteriana. Este antibiótico deriva del hidronaftaceno y presenta una estructura tetraciclínica. Su mecanismo de acción implica el bloqueo de la síntesis proteica en microorganismos sensibles, ejerciendo un efecto bacteriostático contra diversos gérmenes. La oxitetraciclina se administra por vía oral, aunque también existen formulaciones para uso parenteral. Su amplio espectro antibacteriano ha llevado a un uso indiscriminado en medicina veterinaria (Dupuy, 2015).

2.6. Bacterias Gram positivas y Gram negativas

La tinción de Gram diferencia bacterias en dos grupos: Gram positivas (retienen la tinción azul-violeta) y Gram negativas (se decoloran y luego se tiñen con safranina). Esta diferencia se debe a la estructura de sus paredes celulares. Las Gram positivas tienen una pared gruesa de peptidoglucanos, mientras que las Gram negativas tienen una capa delgada de peptidoglucanos y una bicapa de lipoproteínas que se deshace con la decoloración (Rodríguez, 2018).

2.6.1. *Streptococcus agalactiae*

El *Streptococcus agalactiae*, también conocido como estreptococo del grupo B (EGB), es una bacteria Gram positiva que se caracteriza por ser betahemolítica y anaerobia facultativa, y dar negativo en la prueba de catalasa y positivo en la prueba de Christie, Atkins y Munch-Petersen (CAMP), así como por ser resistente a la bacitracina. Esta bacteria cuenta con una variedad de factores de virulencia que desempeñan un papel crucial en la adherencia e invasión celular, así como en la evasión de la respuesta inmune del huésped, lo que le confiere la capacidad de causar enfermedades (Pulido et al., 2021).

El *Streptococcus agalactiae* (SAG) es considerado un patógeno de gran importancia en la producción de ganado bovino, ya que causa principalmente casos subclínicos y crónicos de mastitis, que requieren tratamiento con terapia antimicrobiana. Esta enfermedad conlleva a pérdidas económicas significativas debido a la reducción en la producción de leche, la eliminación de la leche infectada, los costos de consultas y tratamientos veterinarios, la eliminación temprana de las vacas afectadas y el aumento en el recuento de células somáticas (Jaramillo et al., 2018).

La presencia de *Streptococcus agalactiae* como agente causal de infecciones en caninos ha sido poco estudiada. Algunas investigaciones han identificado la presencia de *S. agalactiae* en neonatos caninos muertos. Además, se ha reportado un caso de *S. agalactiae* en un perro con un pioderma profundo caracterizado por lesiones erosivas ulcerativas en las patas, lo que sugiere que la contaminación pudo haber sido causada por la participación de un vector, como la mosca (López et al., 2022).

2.6.2. *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* está compuesto por cocos Gram-positivos y catalasa positivos, que son anaerobios facultativos y tienden a agruparse cuando se observan al microscopio. Las infecciones invasivas suelen originarse por la ascensión a lo largo de los tractos epiteliales, a través de heridas penetrantes o mediante propagación hematológica. Las bacterias del género *Staphylococcus* son parte normal de la piel y las membranas mucosas en mamíferos y aves, lo que dificulta definir qué es considerado patógeno, siendo estas bacterias generalmente patógenas oportunistas en la mayoría de las especies animales (Ríos et al., 2015).

Los estafilococos se caracterizan por dividirse en agrupaciones que se asemejan a racimos de uva. Además, exhibe una notable capacidad de adaptación, lo que le permite afectar a todas las especies de mamíferos conocidas. Esta habilidad de propagación facilita la transmisión de estos microorganismos de una especie a otra, siendo común la zoonosis y antropozoonosis (Zendejas et al., 2014).

En términos generales, las cepas de *S. aureus* encontrados en animales suelen originarse a partir de cepas humanas, cuyas modificaciones genéticas determinan un cambio en la especificidad del huésped. A los bovinos se destaca como uno de

los principales reservorios animales, aunque la transmisión de estas cepas puede ocurrir entre animales de diferentes especies que cohabitan en una misma explotación. Muchas de estas cepas no presentan el gen *mecA* en su genoma, sino su homólogo conocido como *mecC*, responsables de la resistencia a los antibióticos (Galarza & Rodríguez, 2021).

2.6.3. *Pseudomona aeruginosa*

Es un patógeno común y resistente, su capacidad de movimiento lo debe a su flagelo polar. Se considera una bacteria aerobia facultativa, pero también crece en ambientes anaerobios utilizando nitrógeno o arginina. La capacidad de *P. aeruginosa* para causar una amplia gama de infecciones se debe a la diversidad de factores de patogenicidad que posee, los cuales se dividen en dos categorías: factores asociados a la célula bacteriana y factores secretados (Paz et al., 2019).

Es una bacteria Gram negativa que se caracteriza por no fermentar glucosa y se ha identificado como uno de los agentes causales de la otitis externa (OE), encontrándose en hasta un 11,9% de los casos. Su susceptibilidad a los antibióticos es variable, lo que se agrava por los múltiples mecanismos de resistencia que presenta (Luján et al., 2020).

En las granjas avícolas, el hacinamiento y las condiciones que dificultan el crecimiento adecuado de las aves pueden provocar la proliferación de enfermedades bacterianas, como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa*. Estas enfermedades afectan la calidad de la carne, el consumo de alimento, la conversión de alimento y, en general, la calidad de vida de las aves (Peña, 2020).

2.6.4. *Escherichia coli*

Es un tipo de bacteria con forma de bacilo que se tiñe de color rojo bajo el microscopio, es anaerobio facultativo, lo que significa que puede vivir en ambientes con o sin oxígeno. Pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Aunque esta bacteria forma parte de la flora normal de los animales y los seres humanos, existen cepas patógenas que son importantes tanto para la salud animal como para la salud pública (S. Morales et al., 2017).

Las infecciones del tracto urinario representan una de las principales razones por las que los veterinarios de atención primaria ven a los perros, y son un desafío para el tratamiento debido a su alta tasa de recurrencia y las implicaciones terapéuticas asociadas. *Escherichia coli* es la bacteria más comúnmente aislada en infecciones urinarias tanto en caninos como en humanos (Vargas, 2024).

La colibacilosis es una enfermedad frecuente en crías de alpaca que provoca altas tasas de enfermedad y muerte durante las primeras semanas de vida. Puede manifestarse como una infección intestinal leve o como una septicemia que resulta en la muerte del animal. Entre los agentes infecciosos causales, especialmente en neonatos, se encuentran cepas patógenas de *Escherichia coli*, que a diferencia de las cepas no patógenas, poseen elementos genéticos adicionales que les confieren patogenicidad (Barrios et al., 2016).

2.7. Prueba de sensibilidad antibacteriana

Son métodos utilizados para determinar la susceptibilidad de un microorganismo a los medicamentos antimicrobianos. Esto se logra exponiendo una concentración estandarizada del microorganismo a los fármacos. Estas pruebas pueden realizarse para bacterias, hongos o virus. En algunos casos, los resultados obtenidos con un fármaco pueden predecir la respuesta a otros fármacos similares, por lo que no todos los medicamentos potencialmente útiles necesitan ser probados individualmente (Vazquez, 2022).

2.8. Método de difusión en disco

El método de difusión en agar con discos, también conocido como antibiograma, se utiliza para determinar la actividad in vitro de un Agente Terapéutico de Microorganismos (ATM) frente a un microorganismo específico. Este método evalúa la capacidad del ATM para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Consiste en impregnar un disco de papel de filtro o tableta con una concentración conocida del antimicrobiano y colocarlo sobre un medio de cultivo sólido en una placa de Petri previamente inoculada con una concentración estandarizada de una cepa pura (Giacoboni et al., 2023)

2.9. Medios de cultivo

En el ámbito de la microbiología, los medios de cultivo son fundamentales, ya que permiten el crecimiento y la multiplicación de microorganismos en condiciones controladas en el laboratorio. Estas herramientas son vitales para analizar la biología, ecología y patogenicidad de estos organismos. Los medios pueden ser elaborados de manera específica para estudiar distintas características microbianas, incluyendo su morfología, fisiología, metabolismo y resistencia a los antimicrobianos (Varon et al., 2023).

2.10. Agar Mueller Hinton

Este medio de cultivo, altamente nutritivo, está especialmente formulado para llevar a cabo pruebas de sensibilidad a antimicrobianos. Ha sido respaldado por el Comité de la Organización Mundial de la Salud como un estándar para las pruebas de susceptibilidad, ya que no contiene sustancias que inhiban la acción de los antibióticos. Este agar está diseñado para el crecimiento de bacterias aeróbicas o facultativas que crecen de manera normal sin necesidad de suplementos adicionales (Caycedo et al., 2021).

2.11. Descripción general del Cannabis

Esta planta, conocida desde hace milenios, ha sido objeto de controversia en las últimas décadas debido al descubrimiento del sistema endocannabinoide, lo que ha revolucionado la investigación sobre sus características y funciones principales. La planta contiene más de 400 componentes, principalmente cannabinoides, siendo el Delta 9-tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC) y Cannabidiol (CBD) sus componentes más abundantes y responsables de sus principales efectos. Los mismos que están relacionados con su capacidad para estimular la función del sistema endocannabinoide (Rodríguez et al., 2020).

2.11.1. Cannabis medicinal en el Ecuador

En Ecuador, uno de los desafíos de la industria es superar el estigma asociado al consumo de productos con CBD, un compuesto no psicoactivo derivado del

cannabis. El cannabidiol es legal en el país desde 2019, y en 2021 se publicó una norma que regula la importación, cultivo, comercialización y exportación de productos que contengan cannabis no psicoactivo o cáñamo, con menos de 1% de THC, para uso industrial. Desde 2022, también se permite la comercialización de alimentos y bebidas con CBD. En la actualidad, existen 705 empresas registradas para actividades legales relacionadas con el cannabis en Ecuador, y más de 200 productos están disponibles en el mercado, generando una facturación anual de más de USD 7 millones (González, 2023).

2.11.2. Sistema endocannabinoide

El sistema endocannabinoide es un sistema interno de comunicación presente en el cuerpo de los mamíferos que participa en múltiples procesos metabólicos y regula diversas funciones celulares. Juega un papel importante en el control de una amplia variedad de funciones fisiológicas, como el metabolismo, el estado de ánimo, la movilidad, el apetito, la regulación cardiovascular, la respuesta al estrés, la digestión, las respuestas inmunitarias e inflamatorias, la función hormonal y la percepción del dolor. Este sistema consta de varios componentes, incluidos dos receptores principales conocidos como CB1 y CB2 (Gómez & García 2022).

2.11.3. Cannabinoides

Los productos naturales aislados de Cannabis sativa que poseen el característico esqueleto terpenofenólico C₂₁ se denominan "cannabinoides". Esta clase de compuestos incluye derivados y productos de transformación que también se consideran cannabinoides. Desde que comenzaron las investigaciones químicas sobre Cannabis sativa, en total, se han aislado 120 cannabinoides, que se pueden clasificar en 11 tipos generales: Δ 9-trans-tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC), Δ 8-trans-tetrahidrocannabinol (Δ 8-THC), cannabigerol (CBG), cannabicromeno (CBC), -cannabidiol (CBD), cannabinodiol (CBND), cannabielsoína (CBE), cannabiciolol (CBL), cannabinol (CBN), cannabitriol (CBT) y varios tipos más (ElSohly et al., 2017).

2.11.4. Cannabidiol

El cannabidiol (CBD), es el componente principal no psicoactivo de la planta de cannabis, es un fitocannabinoides de molécula pequeña que está compuesto por un grupo aromático bisfenol sustituido con pentilo (pentilresorcinol) unido a un sistema de anillos de terpeno ciclohexeno sustituido con alquilo. Los estudios clínicos que se han realizado con cannabinoides han investigado su eficacia en la reducción de las náuseas y los vómitos causados por la quimioterapia, en el estímulo del apetito en pacientes con VIH/SIDA. Además, se ha observado que el CBD posee propiedades antiinflamatorias y neuroprotectoras (Blaskovich et al., 2021).

2.11.5. Extracción del cannabis

Existen varios métodos para extraer aceite concentrado en cannabinoides, desde técnicas avanzadas como la extracción con fluidos supercríticos (CO₂) hasta métodos tradicionales como el uso de etanol, que es considerado seguro para obtener productos derivados del cannabis. Antes de cualquier método de extracción, la planta de cannabis debe pasar por un proceso de secado a una temperatura específica y durante un período de tiempo determinado para reducir su humedad (Naranjo & Espinoza, 2022).

2.11.6. Extracción con fluidos supercríticos (SFE)

La extracción con solventes supercríticos es una técnica muy común para obtener aceites esenciales y diversos compuestos bioactivos de las plantas. Esta técnica permite aislar compuestos tanto de materiales sólidos como líquidos.

Los solventes supercríticos presentan varias ventajas respecto a los solventes líquidos convencionales. Entre estas ventajas se encuentra su capacidad para seleccionar los compuestos a extraer. Además, los solventes supercríticos tienen una baja densidad y viscosidad, lo que facilita la difusión de los solutos en ellos. Esto significa que las diluciones en solventes supercríticos pueden ser hasta 100 veces más altas que en solventes normales (Avendaño & Romero, 2023).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación y características de la investigación

- **Localización de la investigación**

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Estatal de Bolívar, Vicerrectorado de Investigación y Vinculación, ubicado en el Campus Laguacoto, Guaranda, kilómetro 1 1/2 Vía San Simón.

3.2. Metodología

3.2.1. Material en estudio

- Extracto supercrítico de cannabidiol (CBD)
- Cepa de *Streptococcus agalactiae* ATCC® 27956™
- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC® 12600™
- Cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 10145™
- Cepa de *Escherichia coli* ATCC® 11775™

3.2.2. Obtención del Cannabidiol

El extracto de CBD utilizado en este estudio fue producido en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Estatal de Bolívar mediante el método de fluidos supercríticos, utilizando CO₂ como solvente. El proceso de extracción se extendió hasta la etapa de cromatografía de columna, logrando una concentración aproximada del 70% de CBD.

3.2.3. Obtención del material biológico

Las cepas certificadas de *Streptococcus agalactiae* ATCC® 27956™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 12600™, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 10145™ y *Escherichia coli* ATCC® 11775™ fueron adquiridas de Laboratorios MEDIBAC INC S.A.

3.2.4. Factores en estudio

Factor A: antibióticos

- A1: CBD 3%
- A2: CBD 6%
- A3: CBD 9%
- A4: Amoxicilina
- A5: Enrofloxacina
- A6: Gentamicina

- A7: Oxitetraciclina

Factor B: cepas bacterianas

- B1: *Streptococcus agalactiae* ATCC® 27956™
- B2: *Staphylococcus aureus* ATCC® 12600™
- B3: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 10145™
- B4: *Escherichia coli* ATCC® 11775™

3.2.5. Tratamientos

Tabla 1

Número de tratamientos y repeticiones para las cuatro cepas bacterianas.

Trat. No.	Código	Antibiótico	Cepa Bacteriana
T1	A1B1	CBD 3%	<i>S. agalactiae</i> ATCC® 27956™
T2	A1B2	CBD 3%	<i>S. aureus</i> ATCC® 12600™
T3	A1B3	CBD 3%	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145™
T4	A1B4	CBD 3%	<i>E. coli</i> ATCC® 11775™
T5	A2B1	CBD 6%	<i>S. agalactiae</i> ATCC® 27956™
T6	A2B2	CBD 6%	<i>S. aureus</i> ATCC® 12600™

6T7	A2B3	CBD 6%	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145™
T8	A2B4	CBD 6%	<i>E. coli</i> ATCC® 11775™
T9	A3B1	CBD 9%	<i>S. agalactiae</i> ATCC® 27956™
T10	A3B2	CBD 9%	<i>S. aureus</i> ATCC® 12600™
T11	A3B3	CBD 9%	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145™
T12	A3B4	CBD 9%	<i>E. coli</i> ATCC® 11775™
T13	A4B1	Amoxicilina	<i>S. agalactiae</i> ATCC® 27956™
T14	A4B2	Amoxicilina	<i>S. aureus</i> ATCC® 12600™
T15	A4B3	Amoxicilina	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145™
T16	A4B4	Amoxicilina	<i>E. coli</i> ATCC® 11775™
T17	A5B1	Enrofloxacin	<i>S. agalactiae</i> ATCC® 27956™
T18	A5B2	Enrofloxacin	<i>S. aureus</i> ATCC® 12600™
T19	A5B3	Enrofloxacin	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145™
T20	A5B4	Enrofloxacin	<i>E. coli</i> ATCC® 11775™
T21	A6B1	Gentamicina	<i>S. agalactiae</i> ATCC® 27956™
T22	A6B2	Gentamicina	<i>S. aureus</i> ATCC® 12600™
T23	A6B3	Gentamicina	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145™
T24	A6B4	Gentamicina	<i>E. coli</i> ATCC® 11775™
T25	A7B1	Oxitetraciclina	<i>S. agalactiae</i> ATCC® 27956™
T26	A7B2	Oxitetraciclina	<i>S. aureus</i> ATCC® 12600™
T27	A7B3	Oxitetraciclina	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145™
T28	A7B4	Oxitetraciclina	<i>E. coli</i> ATCC® 11775™

3.2.6. Tipo de diseño experimental

Se implementó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial 7x4 con 3 repeticiones, generando un total de 84 unidades experimentales.

3.2.7. Manejo de la investigación

3.2.7.1. Elaboración de los medios de cultivo

Los medios de cultivo fueron preparados meticulosamente según las especificaciones proporcionadas por el proveedor comercial. Se siguieron estrictamente las recomendaciones para la esterilización, composición y almacenamiento de los medios, garantizando así condiciones óptimas para el crecimiento y estudio de los microorganismos de interés en la investigación.

3.2.7.2. Activación de las cepas bacterianas

El desarrollo de esta investigación implicó trabajar con microorganismos de KWIK – STIK™. A continuación, se describe el proceso de revitalización de las cepas, siguiendo la guía adjunta proporcionada por el fabricante (Anexo 2):

1. Esterilizar los medios de cultivo y materiales necesarios.
2. Encender y descontaminar la cabina de bioseguridad.
3. La bolsa de KWIK – STIK™ debe estar a temperatura ambiente y sin haber sido previamente rasgada, preferiblemente dentro de la cámara.
4. Retirar la lengüeta de la etiqueta y pegarlas en la placa de cultivo correspondiente.
5. Sujetar verticalmente y pellizcar la parte inferior de la unidad, aplastando el pellet con el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
6. Impregnar inmediatamente el líquido hidratante con el hisopo y luego, mediante estrías, asegurarnos de cubrir el agar.
7. Incubar las cajas Petri a 35°C durante un período de 24 horas.

3.2.7.3. Preparación de las diluciones del CBD

Se utilizó 30ml de un extracto de CBD con una concentración inicial del 70%. Para preparar las concentraciones necesarias, se diluyó el extracto en solución salina al 0.9%, garantizando una dilución final de 3 mL en todas las concentraciones. Estas diluciones se llevaron a cabo con una micropipeta para asegurar la precisión requerida.

Tabla 2

Concentraciones de CBD para antibiograma

		Concentraciones		
		3%	6%	9%
Sustancias	solución salina (0.9%)	2,87 µL	2,74 µL	2,61 µL
	Aceite de CBD	0,13 µL	0,26 µL	0,39 µL

Tabla 3

Concentraciones de CBD para la concentración mínima inhibitoria.

Sustancias	Concentraciones					
	0,0125%	0,025%	0,05%	0,10%	0,50%	1%
Solución						
salina	2,996 µL	2,99 µL	2,98 µL	2,97 µL	2,84 µL	2,68 µL
(0.9%)						
Aceite de CBD	0,004 µL	0,01 µL	0,02 µL	0,03 µL	0,16 µL	0,32 µL

3.2.7.4. Preparación de los discos de sensibilidad

Se utilizaron discos en blanco CT998, los cuales fueron conservados en refrigeración para evitar su deterioro. Posteriormente, se colocaron los discos en cajas Petri previamente esterilizadas en autoclave. Con la ayuda de una micropipeta, se añadieron 30 µL de extracto de cannabidiol a cada disco de sensibilidad, con las concentraciones respectivas.

3.2.7.5. Preparación medio líquido

El proceso comienza con la preparación de 25 ml de medio Soya Casein Digest y su esterilización, junto con los tubos de cultivo. Una vez que los materiales estén en la cabina de bioseguridad, se utiliza una pipeta para agregar 5 ml de este medio a cada uno de los tubos. Luego, se seleccionan de 4 a 5 colonias utilizando un asa de siembra y se depositan en el tubo correspondiente. Es importante haber rotulado previamente cada tubo con la cepa específica, además de la fecha y hora de la siembra. Posteriormente, se incuban los tubos a una temperatura de 35°C durante 18 horas (Jorgensen et al., 2015).

3.2.7.6. Preparación del inóculo bacteriano

Para la dilución de las bacterias, el Clinical and Laboratory Standards Institute, en su norma M07-A10, establece el método de suspensión directa de colonias, que consiste en realizar una dilución directa en un medio de cultivo líquido.

Para ajustar la densidad del inóculo en una prueba de sensibilidad, se requiere alcanzar una turbidez equivalente al estándar 0.5 de McFarland. Este ajuste se realizó utilizando un espectrofotómetro con una longitud de onda de 625 nm, para medir la absorbancia de cada una de las bacterias. Se establece que el rango aceptable se encuentra entre 0.09 como mínimo y 0.12 como máximo (Patel et al., 2015).

3.2.7.7. Antibiograma

Se utilizó los inóculos ya alcanzados su turbidez por absorbancia. Luego se sembraron con hisopos estériles en cajas Petri y en agar Mueller Hinton, simultáneamente, se colocaron 3 discos impregnados con las diferentes concentraciones de CBD y los controles positivos y negativos, en cada caja, con un espacio de 3cm entre cada uno.

A continuación, se detalla el protocolo de esta prueba de sensibilidad:

- Se autoclava el medio de cultivo a 121°C por un lapso de tiempo de 2 horas.
- Se deja enfriar el agar Mueller Hinton hasta una temperatura ambiente.
- Se vierte en condiciones asépticas y en cantidad suficiente el medio de cultivo en la placa Petri, hasta lograr una capa de 4 mm de espesor.
- Dejar solidificar y secar las cajas Petri durante 30 minutos dentro de la cámara de flujo laminar antes de proceder a su inoculación.
- Se inocula la placa con la ayuda de un hisopo estéril, cubriendo es su totalidad la placa.
- Se ubica los discos con las diferentes concentraciones diluidas de aceite de CBD sobre el agar totalmente condensado y frío, mediante el uso de una pinza.
- Luego presionar suavemente los discos con una pinza para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo. Los discos se colocan espaciados de manera

que su distancia a la pared de la placa sea de 15 mm, en cambio entre ellos a 3cm.

- Se incuba a 35°C durante aproximadamente 24 horas. Los resultados se leen y confirman habiendo transcurrido el tiempo incubación.
- Se toma como referencia para la medida del diámetro de la zona de inhibición desde el exterior de la placa, sin quitar la tapa, procedimiento que se realiza con el Calibrador de Vernier digital.

3.2.7.8. Método de microdilución en medio líquido.

La esterilización de los materiales es crucial. Se emplea medio líquido fresco cultivado durante al menos 24 horas previas al uso, para las cuatro cepas bacterianas. A continuación, se ajusta la turbidez al estándar 0.5 de McFarland mediante dilución con Soya Casein Digest, utilizando un espectrofotómetro para cada cepa. Finalmente, se combinan las concentraciones previamente preparadas de CBD con la suspensión bacteriana de la siguiente manera:

- En el tubo N°1 se colocó 10µL de dilución de la cepa en Soya Casein Digest más 990µL del extracto de CBD al 0,0125%.
- En el tubo N°2 se colocó 10µL de dilución de la cepa en Soya Casein Digest más 990µL del extracto de CBD al 0,025%.
- En el tubo N°3 se colocó 10µL de dilución de la cepa en Soya Casein Digest más 990µL del extracto de CBD al 0,05%.
- En el tubo N°4 se colocó 10µL de dilución de la cepa en Soya Casein Digest más 990µL del extracto de CBD al 0,10%.
- En el tubo N°5 se colocó 10µL de dilución de la cepa en Soya Casein Digest más 990µL del extracto de CBD al 0,50%.
- En el tubo N°6 se colocó 10µL de dilución de la cepa en Soya Casein Digest más 990µL del extracto de CBD al 1%.

Se debe mencionar que este procedimiento se realizó para las cepas de *Streptococcus agalactiae* ATCC® 27956™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 12600™, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 10145™ y *Escherichia coli* ATCC® 11775™

TM, respectivamente. Se utilizó un total de 24 tubos eppendorf, con 1mL de medio líquido.

3.2.7.9. Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (MBC)

Para determinar la Concentración Bactericida Mínima, los tubos que no mostraron crecimiento bacteriano ni turbidez fueron sembrados en placas Petri con agar Triptona de Soya y posteriormente incubados a 35°C durante 24 horas.

3.2.8. Métodos de evaluación

Se empleó una ficha técnica en la que se registró el número de placas, las diluciones del cannabidiol y la medida de la zona de inhibición, expresada en milímetros (mm).

3.2.8.1 Prueba de susceptibilidad bacteriana

Se llevó a cabo la medición del halo de inhibición de los discos impregnados con las diferentes diluciones de CBD, así como de los controles positivos (amoxicilina, enrofloxacina, gentamicina y oxitetraciclina) y controles negativos (discos en blanco sin impregnación) frente a las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

3.2.8.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC)

Se empleó el método de microdilución en caldo para preparar seis muestras de CBD, utilizando un factor de dilución. Posteriormente, se observó cuál de estas, en su concentración más baja, podía inhibir el crecimiento bacteriano de forma visible en los tubos Eppendorf.

3.2.8.3. Determinación de la concentración bactericida inhibitoria (MBC)

La determinación de la concentración mínima bactericida (MBC) se llevó a cabo siguiendo el método realizado por (Sadiki et al., 2014). Se efectuó después de determinar visualmente el valor de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) para cada bacteria en las seis diluciones de CBD. Posteriormente, cada muestra se sembrará en medio sólido y se incubará a 35°C durante 24 horas. Una vez completado este proceso, se procederá a la lectura de los resultados.

3.2.9.7. Análisis de datos

Se efectuó utilizando el software estadístico GraphPad Prism. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para los conjuntos de datos homogéneos, mientras que para los conjuntos no homogéneos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Las comparaciones múltiples se realizaron mediante la prueba de Dunn's, con un nivel de significancia establecido en $p=0.05$.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación de la actividad antibacteriana de los antibióticos

Tabla 4

Halo de inhibición de los antibióticos

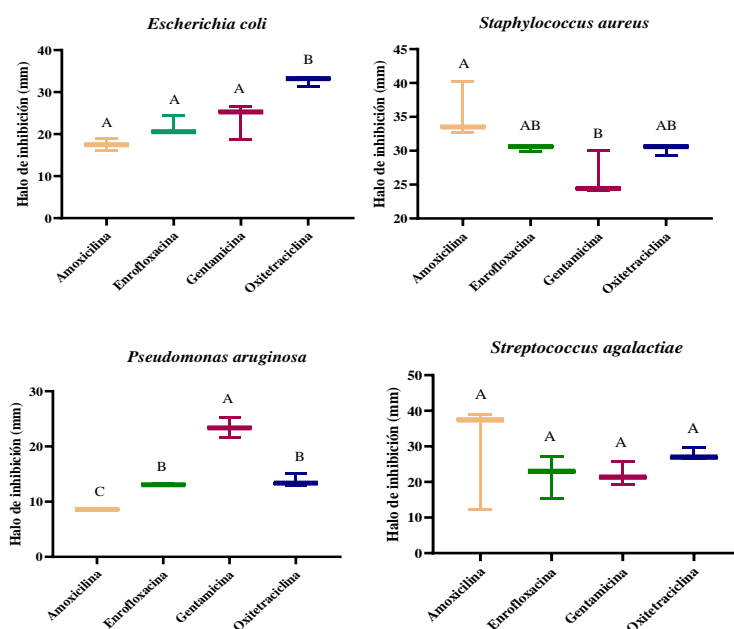
Cepas	Amoxicilina	Enrofloxacina	Gentamicina	Oxitetraciclina
Bacterianas				
Sag	29.4 ± 15.03 ^a	21.88 ± 6.00 ^a	22.13 ± 3.31 ^a	27.69 ± 1.68 ^a
Sau	35.5 ± 4.15 ^a	30.41 ± 0.41 ^{ab}	26.19 ± 4.15 ^b	30,17 ± 0,82 ^{ab}

Pae	8.64 ± 0.17 ^c	13.11 ± 0.21 ^b	23.42 ± 1.88 ^a	13.80 ± 1.09 ^b
Eco	17.59 ± 1.42 ^a	21.84 ± 2.22 ^a	23,53 ± 4.20 ^a	32.70 ± 1.20 ^b

Nota: Sag = *Streptococcus agalactiae*. Sau = *Staphylococcus aureus*. Pae = *Pseudomonas aeruginosa*. Eco = *Escherichia coli*. En las filas, los superíndices diferentes indican diferencias significativas entre los antibióticos (p=0.05).

Figura 1g

Gráfico del halo de inhibición de los antibióticos



Nota: Las letras muestran la diferencia que existe entre los antibióticos al compararlos con p= 0.05.

Análisis e interpretación

En relación con la Tabla 4, se destaca que *Streptococcus agalactiae* ATCC[®] 27956 es sensible a la amoxicilina (29.4 ± 15.03), seguido por la oxitetraciclina (27.69 ± 1.68). De manera similar, con *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 12600 TM, la amoxicilina (35.5 ± 4.15) mostró la mayor actividad antimicrobiana. Sin embargo, la gentamicina (26.19 ± 4.15) fue la menos eficaz contra esta cepa.

Así también, se observa que para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®] 10145 TM, la amoxicilina (8.64 ± 0.17) presentó el menor halo de inhibición al compararlo con la gentamicina (23.42 ± 1.88), que es el antimicrobiano que mayor sensibilidad produjo en la bacteria. En la Tabla 4, se muestra que *Escherichia coli* ATCC[®]

11775 TM fue sensible a la oxitetraciclina (32.70 ± 1.20), comparado con la amoxicilina (17.59 ± 1.42) que fue uno de los antibióticos con menor acción.

Estos resultados concuerdan a lo obtenido por Pangprasit et al. (2023), donde el tratamiento con amoxicilina para la mastitis clínica mostró una eficacia del 80.43% y una eficacia bacteriológica del 47.82%. Se observó que las bacterias estafilocócicas oportunistas y las bacterias estreptocócicas contagiosas, como *Streptococcus agalactiae*, fueron los microorganismos que presentaron mayor sensibilidad a la amoxicilina.

Resaltamos lo descrito por Plumb (2017), donde menciona que la gentamicina tiene un espectro de actividad sobre bacterias anaeróbicas Gram negativas como *Pseudomonas* y *E.coli*, mientras que la efectividad de la enrofloxacin presenta una actividad moderada frente a cepas *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Según Sumano y Ocampo (1997), la oxitetraciclina está indicada para el tratamiento de mastitis coliforme que afecta a los planteles porcinos. Donde se destaca que la concentración mínima inhibitoria (CMI) para *E. coli* es de 2,5 mg/ml, lo que resalta la eficacia de este antibiótico en el tratamiento de la mastitis causada por esta bacteria.

4.2. Actividad antibacteriana del CBD frente a *Streptococcus agalactiae*

Tabla 5

Halo de inhibición del CBD frente a Streptococcus agalactiae

Cepa	Tratamiento	Diámetro halo de inhibición
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC [®] 27956 TM	Amoxicilina	29.49 ± 15.03
	Enrofloxacin	21.88 ± 6.00
	Gentamicina	22.13 ± 3.31
	Oxitetraciclina	27.69 ± 1.68
	CBD 3 %	13.57 ± 2.36
	CBD 6 %	14,89 ± 3.36

CBD 9%

16.15 ± 7.49

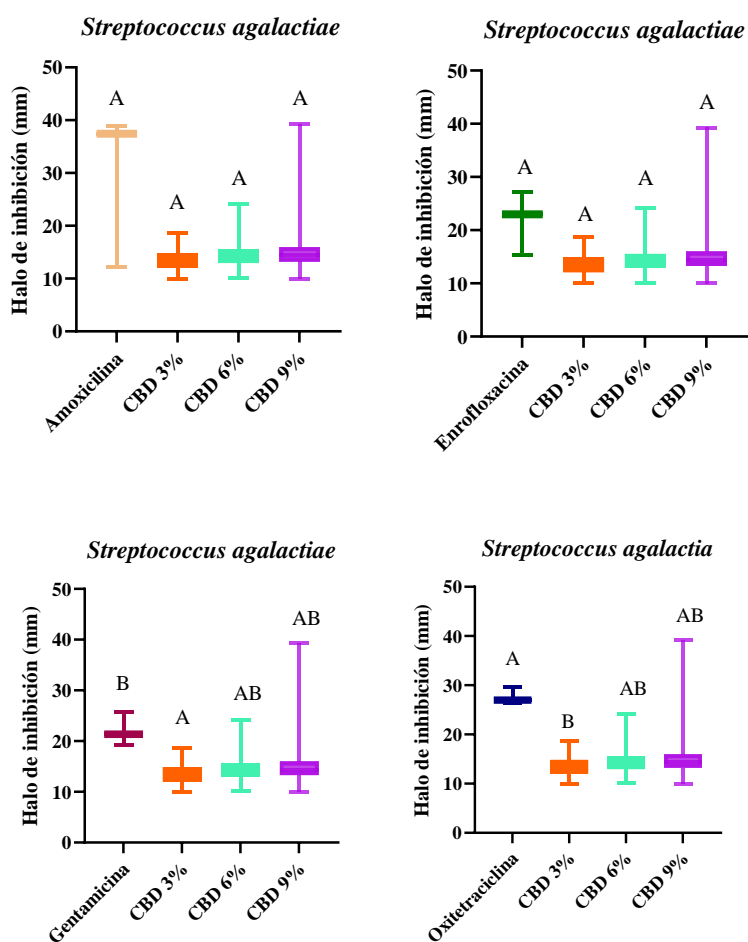
Tabla 6

Comparación del CBD frente a Streptococcus agalactiae

CBD 3%		CBD 6%		CBD 9%	
Antibiótico	p=	Antibiótico	p=	Antibiótico	p=
Amoxicilina	0,8101	Amoxicilina	0,9999	Amoxicilina	0,9999
Enrofloxacina	0,0610	Enrofloxacina	0,4202	Enrofloxacina	0,3088
Gentamicina	0,0250	Gentamicina	0,2112	Gentamicina	0,1498
Oxitetraciclina	0,0187	Oxitetraciclina	0,1588	Oxitetraciclina	0,1180

Figura 2.

Halo de inhibición del CBD frente a Streptococcus agalactiae ATCC 27956 TM.*



Nota: Las letras muestran la diferencia que existe entre los antibióticos y el CBD al compararlos con $p = 0.05$.

Análisis e interpretación

De acuerdo con la Figura 2, se destaca que *Streptococcus agalactiae* ATCC[®] 27956[™], presentó sensibilidad a diferentes concentraciones de cannabidiol (CBD); sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre estas diluciones. Los halos de inhibición fueron menores en comparación con la amoxicilina (29.49 ± 15.03), el CBD al 9% mostro un halo de inhibición de 16.15 ± 7.49 y un nivel de significancia de $p = 0,9999$.

Estos resultados concuerdan a lo realizado por Abichabki et al. (2022), donde se evaluó la actividad antibacteriana in vitro del CBD ultrapuro, observándose diferentes niveles de acción antibacteriana frente a *Streptococcus agalactiae*. Lo

que nos demuestra el potencial antimicrobiano que posee el CBD contra un grupo específico de bacterias.

Coincidiendo también con el estudio realizado por Schofs et al. (2021), donde se ha observado que los extractos de Cannabis Sativa e Índica obtenidos mediante el uso de diversos disolventes presentan actividad antibacteriana frente a un grupo de bacterias Gram positivas, destacando la acción sobre *Streptococcus alpha haemolyticus* y *Streptococcus beta haemolyticus*. Datos que nos demuestran la acción antibacteriana del CBD frente estreptococos.

4.3. Actividad antibacteriana del CBD *Staphylococcus aureus*

Tabla 7

Halo de inhibición del CBD frente a Staphylococcus aureus

Cepa	Tratamiento	Media / Desviación estándar
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 12600™	Amoxicilina	35.5 ± 4.15
	Enrofloxacina	30.41 ± 0.41
	Gentamicina	26.19 ± 4.15
	Oxitetraciclina	30,17 ± 0,82
	CBD 3 %	11.63 ± 1.47
	CBD 6 %	12.50 ± 1.96
	CBD 9%	12.66 ± 2.99

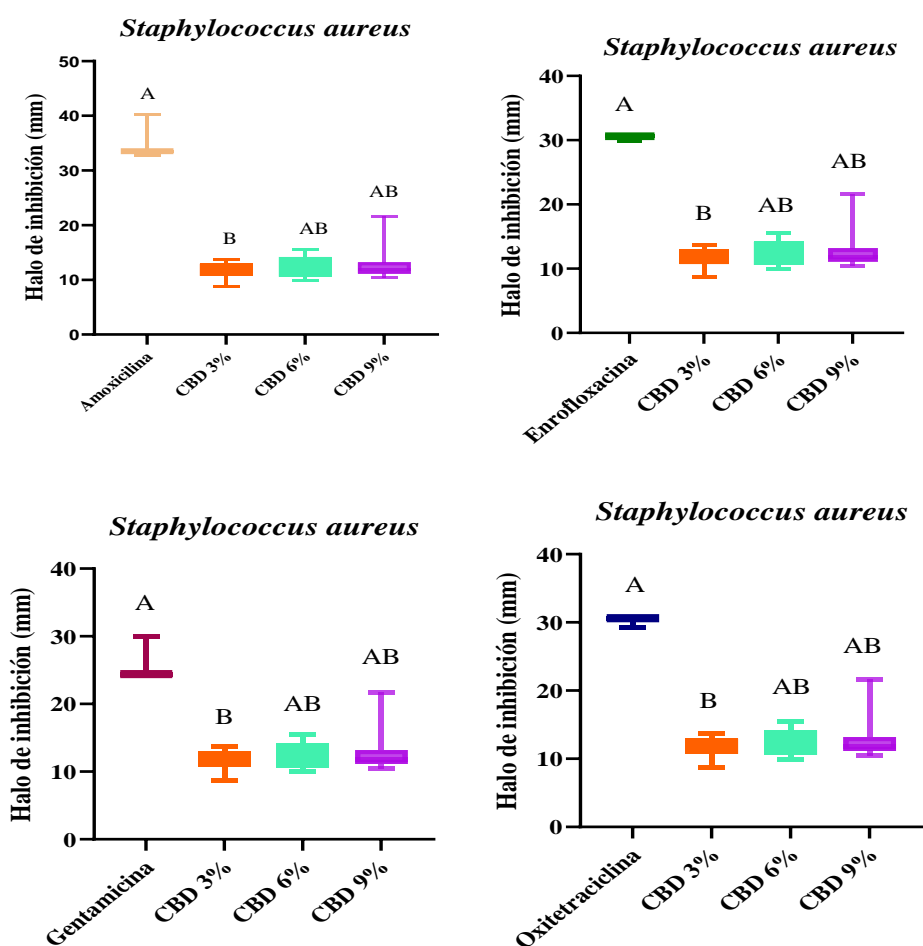
Tabla 8

Comparación del CBD frente a Staphylococcus aureus

CBD 3%		CBD 6%		CBD 9%	
Antibiótico	p=	Antibiótico	p=	Antibiótico	p=
Amoxicilina	0,0201	Amoxicilina	0,0787	Amoxicilina	0,0671
Enrofloxacina	0,0201	Enrofloxacina	0,0787	Enrofloxacina	0,0671
Gentamicina	0,0201	Gentamicina	0,0787	Gentamicina	0,0671
Oxitetraciclina	0,0201	Oxitetraciclina	0,0787	Oxitetraciclina	0,0671

Figura 3

Halo de inhibición del CBD frente a Staphylococcus aureus ATCC®12600™



Nota: Las letras muestran la diferencia que existe entre los antibióticos al compararlos con $p = 0.05$

Análisis e interpretación

De acuerdo con la Figura 3, se destaca que *Staphylococcus aureus* ATCC® 12600™, presentó sensibilidad a diferentes concentraciones de cannabidiol (CBD); sin

embargo, no se observaron diferencias significativas entre estas diluciones. Los halos de inhibición fueron significativamente menores en comparación con la amoxicilina (35.5 ± 4.15), el CBD al 9% mostro un halo de inhibición de 12.66 ± 2.99 y un nivel de significancia de $p = 0,0671$ para todas las diluciones.

Datos que concuerdan con la investigación de Blaskovich et al. (2021), donde se destaca que el CBD es efectivo contra las biopelículas de *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y sensible a la meticilina (MSSA). Además, se demuestra la actividad antibacteriana del CBD frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Clostridioides difficile* altamente resistentes. También se resalta que el CBD tiene una baja probabilidad a inducir resistencia y una eficacia tópica in vivo.

Así también Wassmann et al. (2020), resalta que el CBD incrementa la sensibilidad de la bacitracina (BAC) frente a bacterias Gram positivas, en el caso de *Staphylococcus aureus* provocó cambios morfológicos como la formación de múltiples septos durante la división celular y alteraciones en su membrana. También presento actividad contra *Listeria monocytogenes* y *Enterococcus faecalis*.

4.4. Actividad antibacteriana del CBD frente a *Pseudomonas aeruginosa*

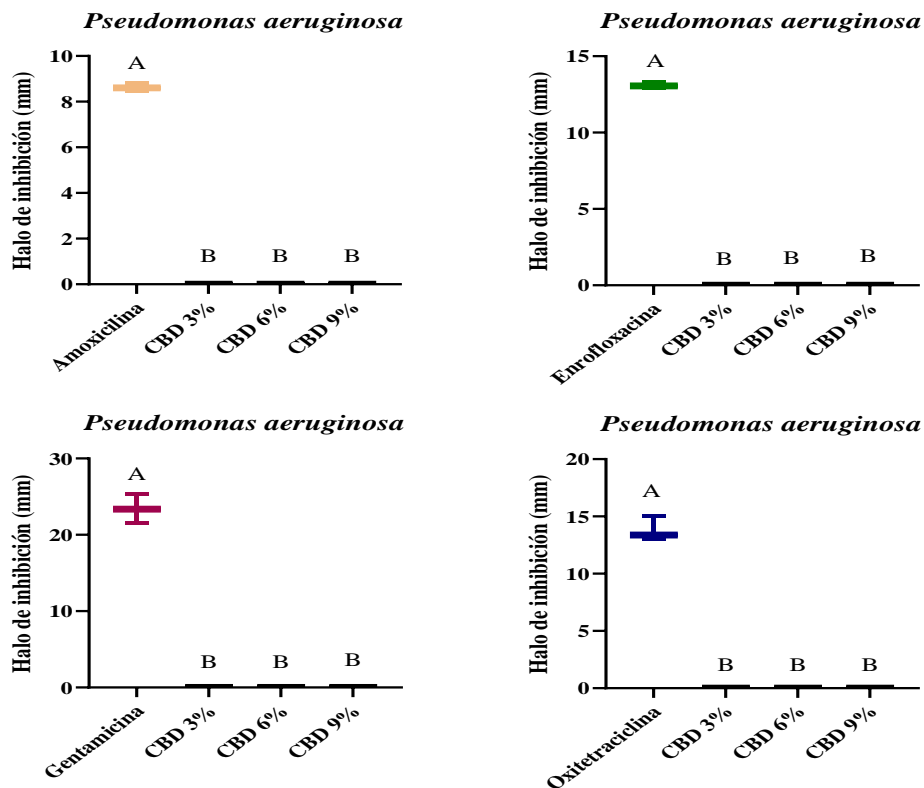
Tabla 9

Halo de inhibición del CBD frente a Pseudomonas aeruginosa

Cepa	Tratamiento	Media / Desviación estándar
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC [®] 10145 [™]	Amoxicilina	8.64 ± 0.17
	Enrofloxacina	13.11 ± 0.21
	Gentamicina	23.42 ± 1.88
	Oxitetraciclina	13.80 ± 1.09
	CBD 3 %	0.00
	CBD 6 %	0.00
	CBD 9%	0.00

Figura 4

Halo de inhibición del CBD frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC[®]10145[™]



Nota: Las letras muestran la diferencia que existe entre el CBD al compararlo con $p=0.05$

Análisis e interpretación

Como se muestra en la Tabla 9, con respecto al halo de inhibición del CBD frente *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 10145™ en comparación con los antibióticos, se observó la ausencia de actividad antibiótica de las tres concentraciones de CBD.

Datos que son coinciden a lo obtenido por Schofs et al. (2021), en donde los extractos de tallos y hojas de *Cannabis sativa* L. fueron evaluados utilizando el método de difusión en disco contra las cepas de *P. aeruginosa* ATCC 9721 y *E. coli* ATCC 8677, pero no se observó actividad antibacteriana en ninguna de ellas. En contraste, el mismo extracto mostró actividad contra *S. aureus* ATCC 12600, cepa que se utilizó en esta investigación.

En su investigación, Blaskovich et al. (2021), señala que el CBD no demostró eficacia contra 20 especies de bacterias gramnegativas entre las se destaca *P. aeruginosa* y *E.coli*. Sin embargo, cabe mencionar que el cannabidiol sí presentó actividad frente a un grupo de patógenos gramnegativos altamente peligrosos, como la *Neisseria gonorrhoeae* y *Legionella pneumophila*, en el mismo estudio.

4.5. Actividad antibacteriana del CBD contra *Escherichia coli* ATCC®11775™

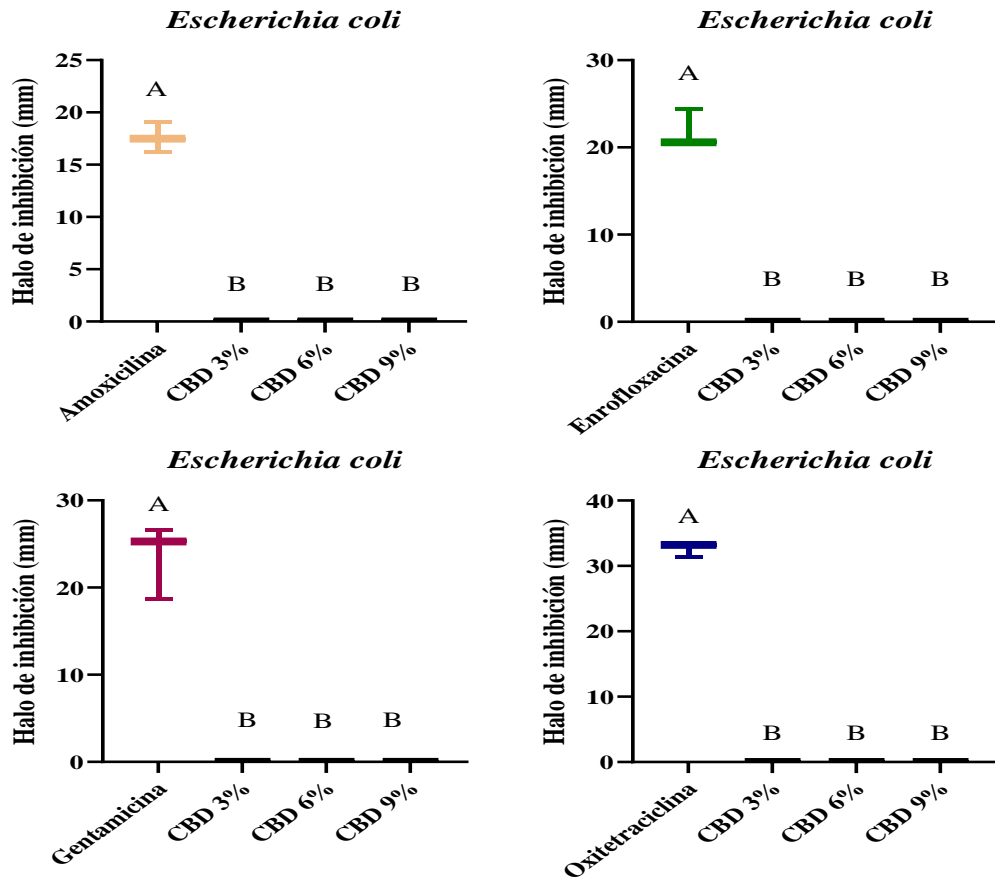
Tabla 10

Halo de inhibición del CBD frente a Escherichia coli

Cepa	Control + / Cannabidiol	Media / Desviación estándar
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 11775™	Amoxicilina	17.59 ± 1.42
	Enrofloxacina	21.84 ± 2.22
	Gentamicina	23,53 ± 4.20
	Oxitetraciclina	32.70 ± 1.20
	CBD 3 %	0.00
	CBD 6 %	0.00
	CBD 9%	0.00

Figura 5.

Halo de inhibición del CBD frente a *Escherichia coli* ATCC[®] 11775[™]



Nota: Las letras muestran la diferencia que existe entre los tratamientos al compararlos con $p=0.05$

Análisis e interpretación

Con respecto al halo de inhibición del CBD frente *Escherichia coli* ATCC[®] 11775[™] en comparación con los antibióticos, se nota la ausencia de actividad antimicrobiana de las tres concentraciones de CBD.

De acuerdo con el estudio de Karas et al. (2020), que investigó la actividad antimicrobiana de dos emulsiones que contenían tanto aceite refinado como no refinado de CBD, se observó que estas emulsiones mostraban un efecto bactericida discreto en general contra las bacterias Gram positivas, mientras que su eficacia era menor contra las bacterias Gram negativas. Específicamente, se registró una actividad prácticamente nula contra *Escherichia coli* CCM 3954.

En otra investigación Abichabki et al. (2022), indican que la combinación de cannabidiol, polimixina B y fenil-arginina beta-naftilamida (CBD + PB + PAβN) mostró una mayor actividad antibacteriana contra bacterias gram negativas, destacando su sensibilidad sobre cepas de *E. coli* y *P. aeruginosa* resistentes a la colistina. Esta combinación resultó en una reducción más significativa en el número de unidades formadoras de colonias por mililitro en comparación con el uso individual de CBD y PB cuando se administraron juntos en la misma concentración. Además, se observó un efecto sinérgico de la combinación de CBD + PB en los parámetros evaluados.

4.6. Concentración mínima inhibitoria (MIC)

Tabla 11

Concentración mínima inhibitoria de las diluciones del CBD

Cepas	Tubos eppendorf con diluciones de CBD y bacterias						
	0,0125%	0,025%	0,05%	0,10%	0,50%	1%	C -
Sag	+	+	-	-	-	-	+
Sau	+	+	-	-	-	-	+
Pae	+	+	+	+	+	+	+
Eco	+	+	+	+	+	+	+

Nota: Sag = Streptococcus agalactiae. Sau = Staphylococcus aureus. Pae = Pseudomonas aeruginosa. Eco = Escherichia coli. C- = control negativo.

Análisis e interpretación

En relación con la Tabla 11, que presenta las concentraciones de CBD y su impacto en el crecimiento de las cepas bacterianas, se observa que las cepas *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* exhiben turbidez a niveles de 0,0125% y 0,025%, indicando una proliferación bacteriana. Sin embargo, a concentraciones de 0,05%, 0,10%, 0,50% y 1%, el medio de cultivo no presenta turbidez, sugiriendo ausencia de crecimiento bacteriano.

En contraste, las cepas *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* demostraron resistencia en todas las diluciones, como se evidenció en el antibiograma.

4.7. Concentración bactericida mínima (MBC)

Tabla 12

Concentración bactericida mínima de las diluciones del CBD

Cepas	Placas de cultivo de los Tubos eppendorf						
	1	2	3	4	5	6	C-
Sag	+	+	-	-	-	-	+
Sau	+	+	-	-	-	-	+
Pae	+	+	+	+	+	+	+
Eco	+	+	+	+	+	+	+

Nota: Sag = *Streptococcus agalactiae*. Sau = *Staphylococcus aureus*. Pae = *Pseudomonas aeruginosa*. Eco = *Escherichia coli*. C- = control negativo.

Análisis e interpretación

En relación con la Concentración Bactericida Mínima (CBM) reflejada en la Tabla 9, se observa que las cepas de *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, presentaron desarrollo de colonias bacterianas en las placas 1 y 2. Mientras que en las placas 3, 4, 5 y 6, las bacterias inoculadas no lograron su proliferación. Esto indica que, para ambas cepas, las concentraciones de 0,05 %, 0,10%, 0,50% y 1% inhibieron el crecimiento bacteriano.

Por otro lado, para las bacterias Gram negativos se evidencio el crecimiento en todas las placas de cultivo, evidenciándose la nula actividad del CBD.

4.8. Comprobación de la hipótesis

Habiendo realizado la investigación, se encontró que el extracto de Cannabidiol a concentraciones de 3%, 6% y 9% presenta actividad antibacteriana in vitro contra *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, no se observó actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho), y se acepta la hipótesis alterna (Ha), concluyendo que el extracto de Cannabidiol tiene un efecto antibacteriano significativo in vitro sobre *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* en comparación con los cuatro controles positivos utilizados en el estudio.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se logró activar con éxito las cepas de *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. El uso del organismo Kwik-Stik facilitó el proceso de cultivo de estas bacterias, ya que proporciona una plataforma de cultivo conveniente y confiable. Esto permitió una activación rápida y eficiente de las cepas bacterianas, lo que a su vez posibilitó la realización de los ensayos de sensibilidad a los antimicrobianos y al extracto de CBD.
- Se evidenció que la amoxicilina exhibió una elevada eficacia contra las bacterias Gram positivas, mientras que la oxitetraciclina y la gentamicina demostraron una mayor actividad frente a las bacterias Gram negativas. Estos hallazgos sugieren que la elección del agente antimicrobiano debe basarse en los resultados de los aislamientos y pruebas de sensibilidad, como parte fundamental del tratamiento de las patologías infecciosas.
- Se identificó que la cepa clínica de *Pseudomonas aeruginosa*, presentó la mayor tolerancia a los antibióticos evaluados, en comparación con las otras bacterias y sus halos de inhibición, resaltando la importancia de tener en cuenta la resistencia bacteriana al seleccionar el tratamiento apropiado.
- Se determinó que el extracto de Cannabidiol (CBD) exhibe una sensibilidad moderada contra *Streptococcus agalactiae* en concentraciones del 3%, 6% y 9%, con diámetros de halo de inhibición inferiores a los observados con los antibióticos convencionales. Sin embargo, su efectividad contra *Staphylococcus aureus* fue limitada, y no se observó inhibición en *Pseudomonas aeruginosa* ni en *Escherichia coli*. Estos resultados sugieren un potencial antimicrobiano limitado del CBD en comparación con los antibióticos estándar.

5.2. Recomendaciones

- Además de su reconocida actividad antimicrobiana, se sugiere profundizar en la investigación de otras propiedades del Cannabidiol (CBD), tales como sus efectos antiinflamatorios y analgésicos, que podrían tener un impacto complementario en el manejo de infecciones bacterianas.
- Se recomienda realizar estudios comparativos exhaustivos entre el CBD y otros compuestos bioactivos de origen vegetal con actividad antimicrobiana, con el fin de establecer su eficacia relativa y explorar posibles efectos sinérgicos.
- Es esencial considerar la realización de estudios in vivo que permitan evaluar la eficacia del CBD en modelos animales de infección bacteriana, lo que proporcionaría datos más robustos y extrapolables a su potencial uso en el ámbito clínico.
- Es pertinente investigar si los diferentes métodos de extracción del CBD influyen en su actividad antimicrobiana, incluyendo la evaluación de su versión sintética, con el objetivo de optimizar su formulación para aplicaciones terapéuticas.

BIBLIOGRAFÍA.

- Abichabki, N., Zacharias, L. V., Moreira, N. C., Bellissimo-Rodrigues, F., Moreira, F. L., Benzi, J. R. L., Ogasawara, T. M. C., Ferreira, J. C., Ribeiro, C. M., Pavan, F. R., Pereira, L. R. L., Brancini, G. T. P., Braga, G. Ú. L., Zuardi, A. W., Hallak, J. E. C., Crippa, J. A. S., Lanchote, V. L., Cantón, R., Darini, A. L. C., & Andrade, L. N. (2022). Potential cannabidiol (CBD) repurposing as antibacterial and promising therapy of CBD plus polymyxin B (PB) against PB-resistant gram-negative bacilli. *Scientific Reports*, *12*(1), 6454. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10393-8>
- Alba Naranjo, M. N., & Minchala Espinoza, L. A. (2022). “*Extracción de aceite esencial de Cannabis sativa L. utilizando dos técnicas de laboratorio, determinando el método más eficiente*”. Universidad Politécnica Salesiana.
- ARCSA. (2021, febrero 12). *Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria* » *Arcsa emite normativa para regular productos que contengan cannabis no psicoactivo en Ecuador*. Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria. <https://www.controlsanitario.gob.ec/normativa-cannabis/>
- Avendaño Tandazo, L. E., & Romero Ochoa, N. J. (2023). “*Comparación del porcentaje de CBD en el aceite de cannabis (Cannabis sativa L.) obtenido por dos solventes orgánicos, determinando el solvente con mejor rendimiento*” [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/25724/1/UPS-CT010787.pdf>
- Barrios-Arpi, M., Morales C, S., & Villacaqui-Ayllon, E. (2016). Susceptibilidad Antibiótica de Cepas de Escherichia coli en Crías de Alpaca con y sin Diarrea. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *27*(2), 381-387. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11651>
- Blaskovich, M. A. T., Kavanagh, A. M., Elliott, A. G., Zhang, B., Ramu, S., Amado, M., Lowe, G. J., Hinton, A. O., Pham, D. M. T., Zuegg, J., Beare, N., Quach, D., Sharp, M. D., Pogliano, J., Rogers, A. P., Lyras, D., Tan, L., West, N. P., Crawford, D. W., ... Thurn, M. (2021). The antimicrobial potential of

- cannabidiol. *Communications Biology*, 4(1), Article 1.
<https://doi.org/10.1038/s42003-020-01530-y>
- Camacho Silvas, L. A. (2023). Resistencia bacteriana, una crisis actual. *Revista Española de salud pública*, 97, e202302013.
- Caycedo Lozano, L., Ramírez, L. C. C., Suárez, D. M. T., Caycedo Lozano, L., Ramírez, L. C. C., & Suárez, D. M. T. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: Una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49-94.
<https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Dupuy, A. (2015). *Farmacocinética de oxitetraciclina en dosificación oral múltiple en cerdos. Análisis PK-PD*. Universidad Complutense de Madrid.
- ElSohly, M. A., Radwan, M. M., Gul, W., Chandra, S., & Galal, A. (2017). Phytochemistry of Cannabis sativa L. En *Phytocannabinoids* (Vol. 103, pp. 1-36). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_1
- Espinosa Castaño, I., Báez Arias, M., Hernández Fillor, R. E., López Dorta, Y., Lobo Rivero, E., & Corona-González, B. (2019). Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: Desafíos para su contención desde el laboratorio. *Revista de Salud Animal*, 41(3).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0253-570X2019000300008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Fernández, D. T. F. (2013). Uso y abuso de los antibióticos. *Archivo Médico de Camagüey*, 17(5), 525-527.
- Fuentes, F. (2023, enero 18). *Alarma en América Latina por la elevada resistencia bacteriana*. Oceano Medicina.
<https://ec.oceanomedicina.com/nota/actualidad-ec/alarma-en-america-latina-por-la-elevada-resistencia-bacteriana/>
- Galarza Galarza, M. I., & Yarzabal Rodríguez, L. A. (2021). Staphylococcus aureus Resistentes a meticilina en animales de granja en Suramérica: Una revisión sistemática. *Revista Vive*, 4(11), 358-377.
<https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i11.99>
- García-Cabrera, M. C., Guerron-Morales, O. T., Astaiza-Martínez, J. M., Benavides-Melo, C. J., García-Cabrera, M. C., Guerron-Morales, O. T., Astaiza-Martínez, J. M., & Benavides-Melo, C. J. (2021). Sistema

- endocannabinoide y cannabidiol en el manejo del dolor en perros: Revisión narrativa. *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*, 50(3), 791-811. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v50n3.92935>
- Giacoboni, G. I., Moredo, F. A., & Pantozzi, F. L. (2023). *Detección de la resistencia antimicrobiana: Normas y herramientas de laboratorio en medicina veterinaria*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). <https://doi.org/10.35537/10915/161995>
- Gómez-García, D. M., & García-Perdomo, H. A. (2022). Cannabis medicinal: Puntos críticos para su uso clínico. *Biomédica*, 42(3), 450-459. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6468>
- González, P. (2023, septiembre 1). Cannabis: Un negocio que ya mueve USD 7 millones al año en Ecuador. *Primicias*. <https://www.primicias.ec/noticias/economia/cbd-cannabis-canamo-ecuador/>
- Jaramillo-Jaramillo, A. S., Cobo-Ángel, C. G., Moreno-Tolosa, Y., & Ceballos-Márquez, A. (2018). Resistencia antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae* de origen humano y bovino. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.13.1.5>
- Jorgensen, J. H., Carroll, K. C., Funke, G., Pfaller, M. A., Landry, M. L., Richter, S. S., & Warnock, D. W. (Eds.). (2015). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817381>
- Karas, J. A., Wong, L. J. M., Paulin, O. K. A., Mazeh, A. C., Hussein, M. H., Li, J., & Velkov, T. (2020). The Antimicrobial Activity of Cannabinoids. *Antibiotics*, 9(7), 406. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070406>
- López Márquez, C. G., Castillo Valerio, A. J., Cordero, A. M., & Ramírez Corona, Juan A. (2022). *Herida por Streptococcus agalactiae grupo B tratada mediante energía de luz fluorescente en canino: Reporte de Caso*. Vanguardia Vet. <https://www.vanguardiaveterinaria.com.mx/herida-por-streptococcus-agalactiae-grupo-b-tratada-mediante-energia-de-luz-fluorescente-en-can>

- Luján, D. A., Saavedra, I., & Luján, L. M. (2020). Susceptibilidad a antibióticos en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de canes con otitis externa. *Revista Veterinaria*, 31(1), 82. <https://doi.org/10.30972/vet.3114644>
- Miranda-Hevia, R., Mencia-Ares, Ó., Gómez-García, M., Carvajal-Urueña, A., & Rubio-Nistal, P. (2018). *Etiología y control de la colibacilosis porcina* | *PortalVeterinaria*. Portal Veterinario. <https://www.portalveterinaria.com/porcino/articulos/13974/etiologia-y-control-de-la-colibacilosis-porcina.html>
- Morales, J. (2019). *Amoxicilina, valioso antibiótico para las mascotas*. Grupo Lovet. <https://www.grupolovet.com/blogs/noticias/amoxicilina-valioso-antibiotico-para-las-mascotas>
- Morales, S., Siu, E., Ramírez, P., & Navarro, A. (2017). Determination of *Escherichia coli* serotypes isolated from baby alpacas (*Vicugna pacos*) with and without diarrhea in Huancavelica. *Revista Electronica de Veterinaria*, 18.
- Otero, J. L., Mestorino, O. N., & Errecalde, J. O. (2001). *Enrofloxacin una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria parte II: Farmacocinética y toxicidad*. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/230580033>
- Pangprasit, N., Srithanasuwan, A., Intanon, M., Suriyasathaporn, W., & Chaisri, W. (2023). Clinical field trial of parenteral amoxicillin for the treatment of clinical and subclinical mastitis in smallholder dairy farms in the upper region of Northern Thailand. *Veterinary World*, 16(4), 792-798. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.792-798>
- Patel, J. B., Cockerill III, F. R., Bradford, P. A., Eliopoulos, G. M., Hindler, J. A., Jenkin, S. G., Lewis II, J. S., Limbago, B., Miller, L. A., Nicolau, D. P., Powell, M., Swenson, J. M., Traczewski, M. M., Turnidge, J. D., Weinstein, M. P., & Zimmer, B. L. (2015). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard* (Tenth Edition, Vol. 32). CLSI. <https://dokumen.pub/m07-a10-methods-for-dilution-antimicrobial-susceptibility-tests-for-bacteria-that-grow-aerobically-35-10nbsped-1562389874-1562389882.html>

- Paz-Zarza, V. M., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S. G., & Vázquez-López, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: Patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista chilena de infectología*, 36(2), 180-189. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182019000200180>
- Peña Maldonado, J. A. (2020). *Pseudomoniasis en aves de engorde línea Ross Ap en la Granja Granada*. <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/796>
- Pereyra, L. del V., Gorordo Ipiña, R. C., Berruezo, F. A., Amieva, C. A., García, M. E., & Bottiglieri, M. T. (2017). Sensibilidad a los antimicrobianos de aislamientos de *Helicobacter pylori* aislados de lesiones gástricas. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(2), 153-157. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.11.001>
- Pila Rosero, G. G., & Segarra Jiménez, D. A. (2022). *Efecto antibiótico del aceite de cannabidiol frente a propionibacterium acnes y nivel de toxicidad frente artemia salina*. [bachelorThesis]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/21996>
- Plumb, D. C. (2017). *PLUMB MANUAL DE FARMACOLOGIA VETERINARIA*. (8ª EDICIÓN). Inter- Médica.
- Pulido-Colina, A., Soto Pastrana, J., Valencia-Bazalar, E., & Zavaleta Apestegui, M. (2021). Caracterización molecular de genes de virulencia (lmb, bca y rib) y de resistencia a macrólidos (ermB, ermTR y mefA) en aislamientos clínicos de *Streptococcus agalactiae*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(4), 615-620. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.384.8726>
- Ríos Boeta, A., Baquero Artigao, M. R., Ortiz Díez, G., Ayllón Santiago, T., Smit, L., Rodríguez Domínguez, M., & Sánchez Díaz, A. (2015). Staphylococcus multirresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. *Clínica veterinaria de pequeños animales: revista oficial de AVEPA, Asociación Veterinaria Española de Especialistas en Pequeños Animales*, 35(3), 149-161.

- Rodríguez Carranza, R. (2013). *Gentamicina: Antimicrobianos*. McGraw Hill Medical.
<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90370876>
- Rodríguez, P. A. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2).
- Rodríguez-Venegas, E. de la C., Fontaine-Ortiz, J. E., Rodríguez-Venegas, E. de la C., & Fontaine-Ortiz, J. E. (2020). Situación actual de Cannabis sativa, beneficios terapéuticos y reacciones adversas. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 19(6).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1729-519X2020000700008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Sadiki, M., Balouiri, M., Barkai, H., Maataoui, H., Saad, I., & EL ABED, S. (2014). Synergistic antibacterial effect of Myrtus communis and Thymus vulgaris essential oils fractional inhibitory concentration index. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1.
- Schofs, L., Sparo, M. D., & Bruni, S. F. S. (2021). The antimicrobial effect behind Cannabis sativa. *Pharmacology Research & Perspectives*, 9(2), e00761.
<https://doi.org/10.1002/prp2.761>
- Vargas, L. (2024, febrero 23). Multirresistencia en aislados patógenos de Escherichia coli de infecciones del tracto urinario en perros, España. *Axon Comunicacion. Expertos en soluciones integrales*.
<https://axoncomunicacion.net/multirresistencia-en-aislados-patogenos-de-escherichia-coli-de-infecciones-del-tracto-urinario-en-perros-espana/>
- Varon, M., Ocampo, M., Gallego, J., Ángel, L., Sánchez, S., González, Y., & Becerra, L. (2023). *Manual de laboratorio en microbiología general* (Primera Edición, Vol. 1). Sello Editorial Universidad del Tolima.
- Vazquez Pertejo, Maria T. (2022). *Pruebas de sensibilidad o antibiogramas— Enfermedades infecciosas*. Manual MSD versión para profesionales.
<https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas>

- Wassmann, C. S., Højrup, P., & Klitgaard, J. K. (2020). Cannabidiol is an effective helper compound in combination with bacitracin to kill Gram-positive bacteria. *Scientific Reports*, *10*(1), 4112. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60952-0>
- Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H., & Soto-Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades,. *Staphylococcus aureus*, *25*(3).

ANEXOS

Anexo 1.

Mapa de ubicación de la investigación



Parroquia: Gabriel Ignacio de Veintimilla.

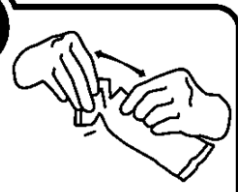
Sector: Laguacoto II vía Guaranda Km. 1 1/2 vía San Simón


Anexo 2

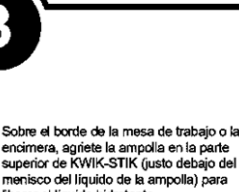
Instrucciones para la activación de las cepas bacterianas





INSTRUCCIONES CON ILUSTRACIONES


- 


Deje que la bolsa de KWIK-STIK sin abrir se adapte a la temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK.
- 

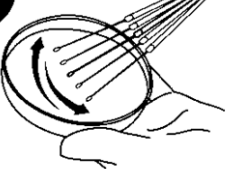
Retire la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colóquese a la placa de cultivo principal o al registro de CC. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- 


Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido de la ampolla) para liberar el líquido hidratante.
- 

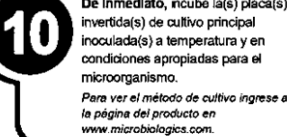
Manténgalo vertical y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.
- 

Apriete la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
- 

De inmediato, sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transféralo al medio con agar correspondiente o utilícelo según el procedimiento operativo estándar del laboratorio.
- 

Inocule la placa de cultivo principal girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa.
- 

Por medio de un asa esterilizada, haga estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.
- 

Descarte el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.
- 

De inmediato, incube la(s) placa(s) invertida(s) de cultivo principal inoculada(s) a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo.
Para ver el método de cultivo ingrese a la página del producto en www.micrbiologica.com.

Base de datos

Bacteria	Antibiótico	Diámetro (mm)	Bacteria	Antibiótico	Diámetro (mm)
S.agalactiae	Amoxi	12,15	S.agalactiae	Oxi	26,96
S.agalactiae	3A	11,92	S.agalactiae	3°	13,41
S.agalactiae	6A	12,68	S.agalactiae	6°	14,69
S.agalactiae	9A	14,75	S.agalactiae	9°	13,51
S.agalactiae	Amoxi	37,42	S.agalactiae	Oxi	29,61
S.agalactiae	3A	10,29	S.agalactiae	3°	12,41
S.agalactiae	6A	14,32	S.agalactiae	6°	13,68
S.agalactiae	9A	12,92	S.agalactiae	9°	13,24
S.agalactiae	Amoxi	38,89	S.agalactiae	Oxi	26,49
S.agalactiae	3A	13,86	S.agalactiae	3°	13,88
S.agalactiae	6A	14,88	S.agalactiae	6°	15,81
S.agalactiae	9A	16,29	S.agalactiae	9°	14,33
S.agalactiae	Enr	15,4	S.agalactiae	Gn	21,34
S.agalactiae	3E	13,23	S.agalactiae	3G	14,53
S.agalactiae	6E	15,73	S.agalactiae	6G	15,04
S.agalactiae	9E	14,5	S.agalactiae	9G	14,91
S.agalactiae	Enr	22,99	S.agalactiae	Gn	19,28
S.agalactiae	3E	15,67	S.agalactiae	3G	10,04
S.agalactiae	6E	12,42	S.agalactiae	6G	10,12
S.agalactiae	9E	10	S.agalactiae	9G	13,28
S.agalactiae	Enr	27,25	S.agalactiae	Gn	25,77
S.agalactiae	3E	18,7	S.agalactiae	3G	14,95
S.agalactiae	6E	24,2	S.agalactiae	6G	15,05
S.agalactiae	9E	39,29	S.agalactiae	9G	16,75
S. aureus	Amoxi	33,52	S. aureus	Oxi	30,68
S. aureus	3A	10,93	S. aureus	3°	10,83
S. aureus	6A	13,64	S. aureus	6°	10,57
S. aureus	9A	13,61	S. aureus	9°	11,83
S. aureus	Amoxi	32,71	S. aureus	Oxi	29,23
S. aureus	3A	12,65	S. aureus	3°	8,69
S. aureus	6A	14,38	S. aureus	6°	9,95
S. aureus	9A	13,67	S. aureus	9°	11,03
S. aureus	Amoxi	40,27	S. aureus	Oxi	30,61
S. aureus	3A	10,7	S. aureus	3°	13,09
S. aureus	6A	10,35	S. aureus	6°	13,56
S. aureus	9A	11,77	S. aureus	9°	11,86
S. aureus	Enr	29,93	S. aureus	Gn	29,97
S. aureus	3E	10,33	S. aureus	3G	12,65

S. aureus	6E	10,81	S. aureus	6G	14,63
S. aureus	9E	11,52	S. aureus	9G	10,4
S. aureus	Enr	30,68	S. aureus	Gn	24,42
S. aureus	3E	10,83	S. aureus	3G	12,05
S. aureus	6E	10,57	S. aureus	6G	12,42
S. aureus	9E	11,83	S. aureus	9G	10,86
S. aureus	Enr	30,61	S. aureus	Gn	24,18
S. aureus	3E	13,04	S. aureus	3G	13,73
S. aureus	6E	13,56	S. aureus	6G	15,53
S. aureus	9E	11,86	S. aureus	9G	21,65
P.aeruginosa	Amoxi	8,83	P.aeruginosa	Oxi	12,99
P.aeruginosa	3A	0	P.aeruginosa	3°	0
P.aeruginosa	3A	0	P.aeruginosa	6°	0
P.aeruginosa	9A	0	P.aeruginosa	9°	0
P.aeruginosa	Amoxi	8,48	P.aeruginosa	Oxi	13,37
P.aeruginosa	3A	0	P.aeruginosa	3°	0
P.aeruginosa	6A	0	P.aeruginosa	6°	0
P.aeruginosa	9A	0	P.aeruginosa	9°	0
P.aeruginosa	Amoxi	8,6	P.aeruginosa	Oxi	15,03
P.aeruginosa	3A	0	P.aeruginosa	3°	0
P.aeruginosa	6A	0	P.aeruginosa	6°	0
P.aeruginosa	9A	0	P.aeruginosa	9°	0
P.aeruginosa	Enr	12,93	P.aeruginosa	Gn	23,37
P.aeruginosa	3E	0	P.aeruginosa	3G	0
P.aeruginosa	6E	0	P.aeruginosa	6G	0
P.aeruginosa	9E	0	P.aeruginosa	9G	0
P.aeruginosa	Enr	13,34	P.aeruginosa	Gn	25,32
P.aeruginosa	3E	0	P.aeruginosa	3G	0
P.aeruginosa	6E	0	P.aeruginosa	6G	0
P.aeruginosa	9E	0	P.aeruginosa	9G	0
P.aeruginosa	Enr	13,06	P.aeruginosa	Gn	21,56
P.aeruginosa	3E	0	P.aeruginosa	3G	0
P.aeruginosa	6E	0	P.aeruginosa	6G	0
P.aeruginosa	9E	0	P.aeruginosa	9G	0
E.coli	Amoxi	19,05	E.coli	Oxi	33,54
E.coli	3 ^a	0	E.coli	3°	0
E.coli	3 ^a	0	E.coli	6°	0
E.coli	9 ^a	0	E.coli	9°	0
E.coli	Amoxi	16,22	E.coli	Oxi	33,23
E.coli	3 ^a	0	E.coli	3°	0
E.coli	6 ^a	0	E.coli	6°	0

E.coli	9 ^a	0	E.coli	9 ^o	0
E.coli	Amoxi	17,49	E.coli	Oxi	31,32
E.coli	3 ^a	0	E.coli	3 ^o	0
E.coli	6 ^a	0	E.coli	6 ^o	0
E.coli	9 ^a	0	E.coli	9 ^o	0
E.coli	Enr	24,4	E.coli	Gn	18,73
E.coli	3E	0	E.coli	3G	0
E.coli	6E	0	E.coli	6G	0
E.coli	9E	0	E.coli	9G	0
E.coli	Enr	20,58	E.coli	Gn	26,56
E.coli	3E	0	E.coli	3G	0
E.coli	6E	0	E.coli	6G	0
E.coli	9E	0	E.coli	9G	0
E.coli	Enr	20,53	E.coli	Gn	25,29
E.coli	3E	0	E.coli	3G	0
E.coli	6E	0	E.coli	6G	0
E.coli	9E	0	E.coli	9G	0

Anexo 4.

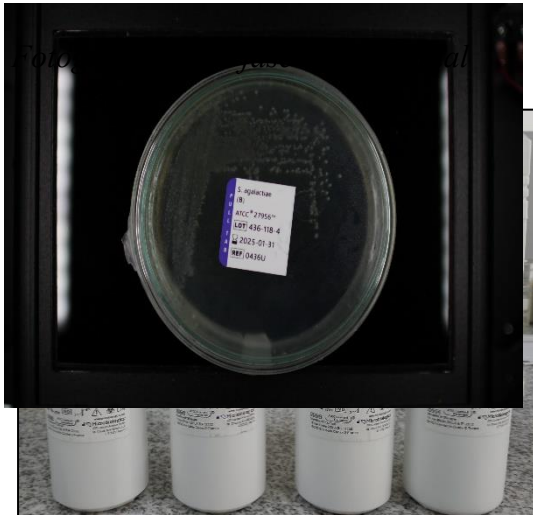


Foto 1. Preparación de las cepas bacterianas Kwik Stik para su activación.

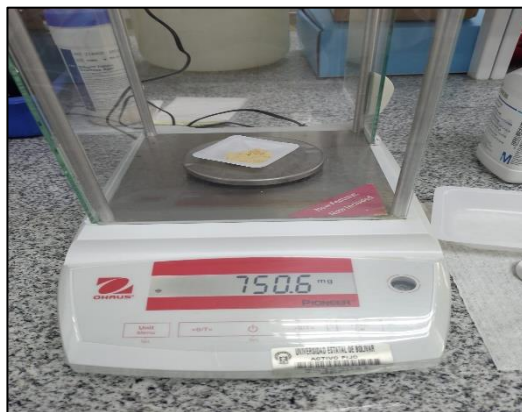
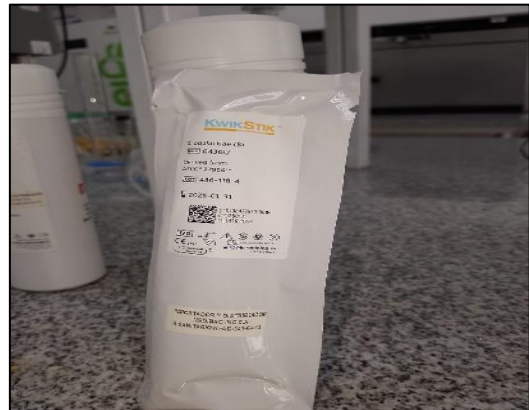


Foto 2. Medición del ATS.



Foto 3. Disolución del ATS.



Foto 4. Esterilización de los materiales.

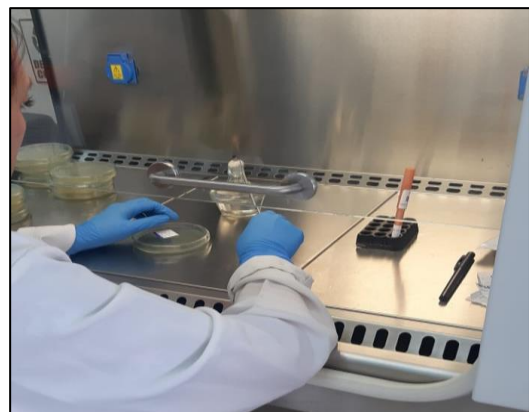


Foto 5. Siembra de las cepas bacterianas

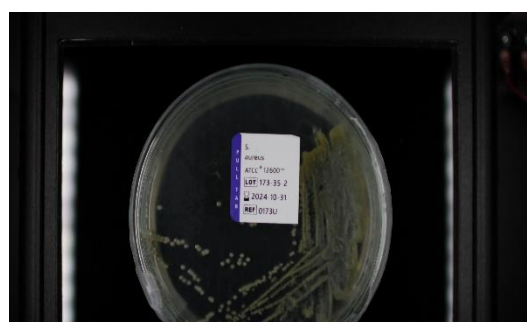


Foto 6. *S. agalactiae* ATCC* 27956™

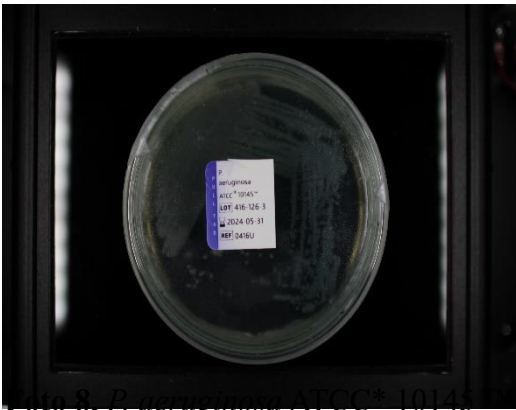


Foto 7. *S. aureus* ATCC* 12600™



Foto 8. *P. aeruginosa* ATCC* 10145

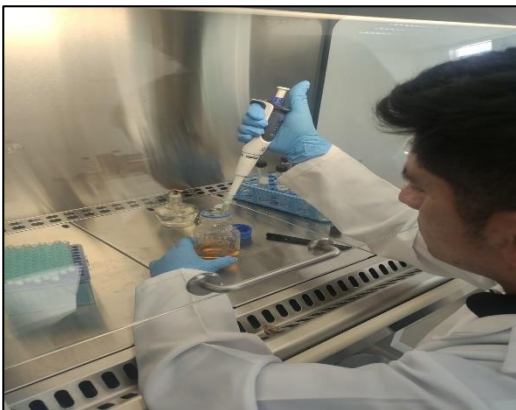


Foto 9. *E. coli* ATCC* 11775™

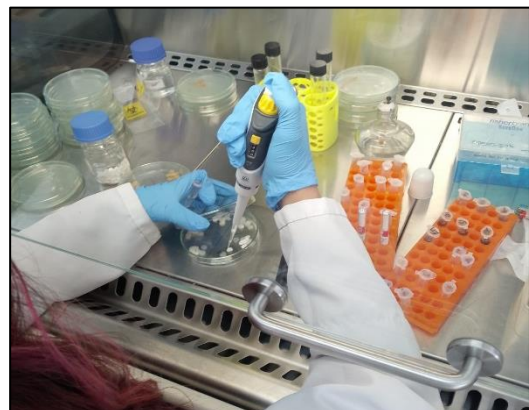


Foto 10. Preparación de medio líquido

Foto 11. Prep. discos de sensibilidad



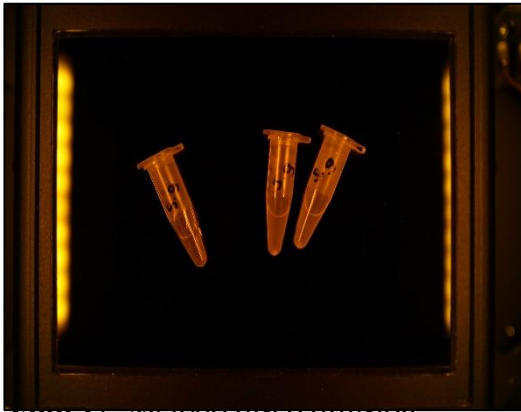


Foto 12. Método disco difusión

Foto 13. Lectura del halo de inhibición



Foto 14. *S. aureus* – Extracto de CBD



Foto 16. *P. aeruginosa* – Extracto de CBD Foto 17. *E. coli* – Extracto de CBD



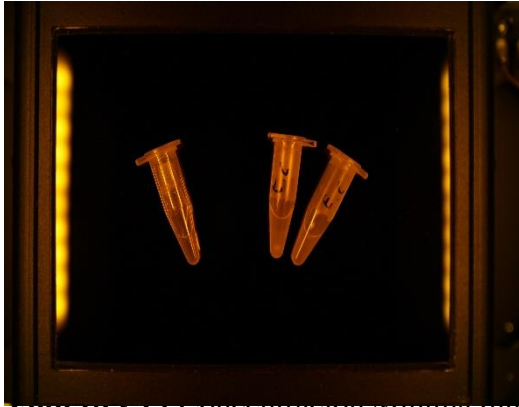


Foto 18 y 19. Concentración Mínima Inhibitoria de *S. agalactiae* – Extracto de CBD

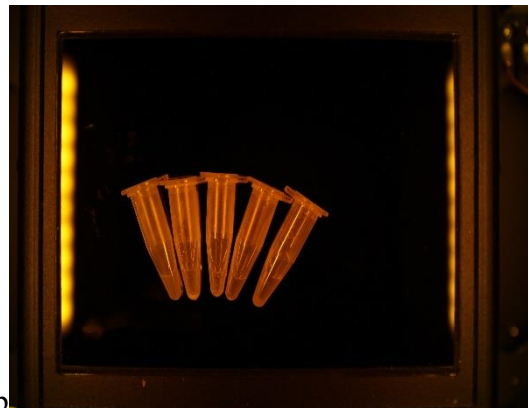


Foto 20 y 21. Concentración Mínima Inhibitoria de

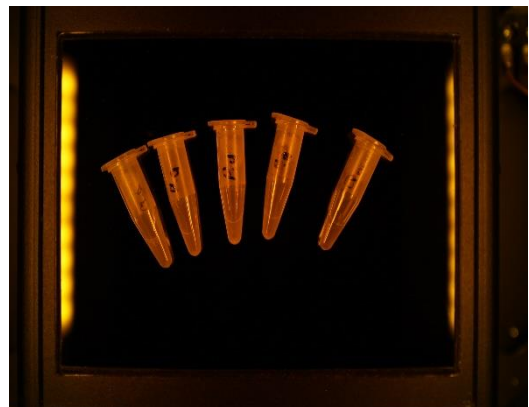
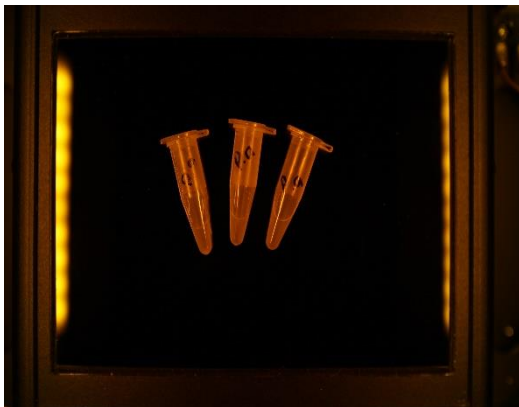


Foto 22 y 23. Concentración Mínima Inhibitoria de *P. aeruginosa* – Extracto de CBD



Foto 24 y 25. Concentración Mínima Inhibitoria de *E. coli* – Extracto de CBD



Foto 27. Pares lectores visita de campo



Foto 28. Explicación de la metodología utilizada.

Anexo 5

Glosario de términos

ATCC: Siglas en inglés de "American Type Culture Collection", traducido como "Colección Americana de Tipos de Cultivo". Es una organización sin fines de lucro que se especializa en la recopilación, autenticación y distribución de cultivos celulares, microorganismos y otros materiales biológicos, utilizados en la investigación científica, diagnóstico y desarrollo de productos a nivel global.

Cáñamo: A diferencia de otras variedades de cannabis, el cáñamo tiene concentraciones muy bajas de tetrahidrocannabinol (THC), el compuesto responsable de los efectos psicoactivos. Se usa en la producción de textiles, papel, bioplásticos, alimentos y suplementos nutricionales, y es una planta altamente sostenible debido a su rápido crecimiento y bajo requerimiento de pesticidas o fertilizantes.

Cannabis: Género de plantas perteneciente a la familia Cannabaceae, que incluye tres especies principales: Cannabis sativa, Cannabis indica y Cannabis ruderalis. Estas especies son conocidas tanto por sus usos recreativos como terapéuticos.

Cepas certificadas: Se refiere a microorganismos cuyos cultivos han sido correctamente identificados, caracterizados y mantenidos por instituciones especializadas, como ATCC u otras colecciones reconocidas de cultivos.

Dilución: Procedimiento mediante el cual se disminuye la concentración de una sustancia en una solución, añadiendo solvente (normalmente agua), sin alterar el volumen total de la solución.

Espectrofotometría: Técnica empleada para medir la cantidad de luz absorbida por una sustancia en función de su longitud de onda. La intensidad de la luz absorbida está directamente relacionada con la concentración de la sustancia, lo que permite determinar su cantidad en la muestra.

Genes de resistencia: Son segmentos de ADN que codifican para proteínas que protegen a los organismos frente a agentes externos, como antibióticos, pesticidas u otros factores ambientales.

Kwik-Stik™: Son dispositivos diseñados para proporcionar resultados rápidos y precisos en pruebas microbiológicas, como la identificación de bacterias y la determinación de sensibilidad a antimicrobianos.

Mariguana: Término históricamente asociado con el cannabis, posiblemente promovido en la década de 1930 en Estados Unidos para vincular la planta con la inmigración mexicana, generando rechazo social hacia su consumo.

Progenie: Hace referencia a los descendientes de un organismo específico.

Sensibilidad bacteriana: Prueba utilizada para identificar qué antibióticos son eficaces contra una determinada bacteria.

Sinergia: En microbiología y farmacología, se refiere a la interacción entre dos o más agentes antimicrobianos, generando un efecto combinado mayor que la suma de sus efectos individuales.