UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad De Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales Y Del Ambiente

Carrera De Medicina Veterinaria

Tema:

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) FRENTE A *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus*

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

Autoras:

Nancy Yolanda Galeas Paredes

Alba Roxana Pilcolema Arteaga

Tutor:

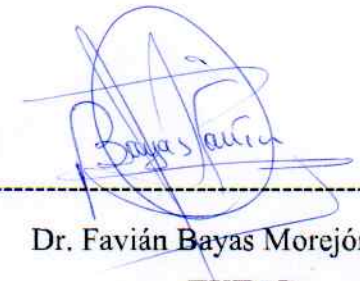
Dr. Favián Bayas Morejón PhD.

Guaranda – Ecuador

2024

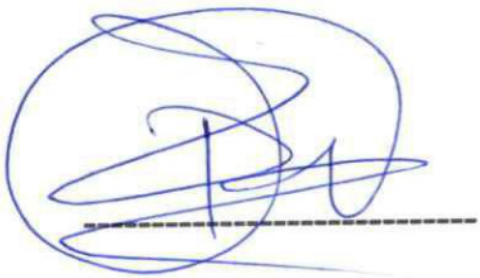
ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) FRENTE A *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus*

REVISADO Y APROBADO POR:



Dr. Favián Bayas Morejón PhD.

TUTOR



Dr. Edison Reveliño Ramón Curay M.Sc.

PAR LECTOR



Dra. Jenny Marcela Martínez Moreira M.Sc

PAR LECTORA

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Yo, Nancy Yolanda Galeas Paredes, con CI. 2300086721, y Alba Roxana Pilcolema Arteaga, con CI. 0202269429, declaro 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.

Nancy Yolanda Galeas Paredes

CI. 2300086721

AUTORA

Alba Roxana Pilcolema Arteaga

CI. 0202269429

AUTORA

Dr. Favián Bayas Morejón PhD.

TUTOR

ESCRITURA Nº 20240201004P01067

DECLARACIÓN JURAMENTADA
OTORGAN:
ALBA ROXANA PILCOLEMA ARTEAGA Y
NANCY YOLANDA GALEAS PAREDES.
CUANTÍA: INDETERMINADA
Di 2 COPIAS

P.A.

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy jueves a los veinticuatro días del mes de octubre del año dos mil veinticuatro, ante mi **DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRION, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA,** comparecen con plena capacidad, libertad y conocimiento, a la celebración de la presente escritura, las señoritas **ALBA ROXANA PILCOLEMA ARTEAGA,** de estado civil soltera y **NANCY YOLANDA GALEAS PAREDES,** de estado civil soltera, por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTES. Las comparecientes declaran ser de nacionalidad ecuatorianas, mayores de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación estudiantes ambas partes, domiciliada la primera en la parroquia San Miguel, cantón San Miguel y de paso por este cantón de Guaranda, Provincia Bolívar y, con celular número cero nueve tres nueve uno dos cuatro ocho cuatro cuatro; y, con correo electrónico **apilcolema@mailes.ueb.edu.ec;** y la segunda en la parroquia San Miguel, cantón San Miguel y de paso por este cantón de Guaranda, Provincia Bolívar, con celular número cero nueve tres nueve uno cuatro uno cuatro nueve uno; y, con correo electrónico **ngaleas@mailes.ueb.edu.ec**, hábiles en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quienes de conocerles doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación cuyas copias fotostáticas debidamente certificadas por mí, agrego a esta escritura como documentos habilitantes. Advertidas las comparecientes por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinados que fueron en forma aislada y separada de que comparecen al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruidas por mí de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud; y, advertidas sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio, me solicitan que recepte su declaración juramentada: Nosotras**: ALBA ROXANA PILCOLEMA ARTEAGA,** de estado civil soltera y **NANCY YOLANDA GALEAS PAREDES,** de estado civil soltera**,** declaramos bajo juramento que los criterios e ideas emitidos en el presente proyecto de investigación, es de nuestra absoluta autoría, titulado: **"ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL DIENTE DE LEÓN** (*Taraxacum officinale)* **FRENTE A Escherichia coli Y Staphylococcus aureus .** Autorizamos a la Universidad Estatal de Bolívar hacer uso de todos los contenidos que nos pertenecen o parte de lo que contiene la obra, con fines estrictamente académicos o de investigación expuestos en el mismo. En el proyecto de investigación previo a la obtención del título de Medicas Veterinarias, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente. Para su celebración y otorgamiento se observaron los preceptos de ley que el caso requiere; y, leída que les fue a las comparecientes íntegramente por mí la Notaria, aquellas se afirman y ratifican en la aceptación de todas sus partes y firman junto conmigo en unidad de acto, incorporándose al protocolo de esta Notaria, la presente declaración juramentada, de todo lo cual doy Fe. ----------

SRTA. ALBA ROXANA PILCOLEMA ARTEAGA.
C.C. 0202269429

SRTA.NANCY YOLANDA GALEAS PAREDES
C.C. 2300086721

DOCTORA MSc. GINA CLAVIJO CARRION.
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA.

NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

Tersis Nancy Yolanda Galeas Paredes y Alba Roxana Pilcolema Arteaga

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%	4%	2%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	dspace.ueb.edu.ec Fuente de Internet	3%
2	Submitted to ueb Trabajo del estudiante	2%
3	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	Carmelo Dueñas Castell, Loraine Quintana Pájaro, Iván Darío Quintero Marzola, Isaías Garcerant Campo et al. "Lectura interpretada de antibiograma: un enfoque basado en preguntas", Acta Colombiana de Cuidado Intensivo, 2020 Publicación	1%

Excluir citas	Activo	Excluir coincidencias	< 1%
Excluir bibliografía	Activo		

turnitin

Recibo digital

Este recibo confirma quesu trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega:	VÍCTOR ALEJANDRO BÓSQUEZ BARCENES
Título del ejercicio:	18
Título de la entrega:	Tersis Nancy Yolanda Galeas Paredes y Alba Roxana Pilcolem...
Nombre del archivo:	Tesis_NG_AP.docx
Tamaño del archivo:	459.48K
Total páginas:	48
Total de palabras:	11,141
Total de caracteres:	62,380
Fecha de entrega:	24-oct.-2024 02:04p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entre...	2496146050



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad De Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales Y Del Ambiente

Carrera De Medicina Veterinaria

Tema:

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) FRENTE A *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus*

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

Autoras:

Nancy Yolanda Galeas Paredes

Alba Roxana Pilcolemo Arteaga

Tutor:

Dr. Favián Bayas Morejón PhD

Guaranda – Ecuador

2024

Derechos de autor 2024 Turnitin. Todos los derechos reservados.

DEDICATORIA

Mi tesis se la dedico al forjador de mi camino con todo mi amor y cariño a Dios todo poderoso por permitirme llegar a culminar con esta meta por haberme brindado salud y sabiduría para lograr todos mis objetivos y metas que me he propuesto en el transcurso de mi vida.

En especial a mis queridos padres Arsube Galeas y Carmen Paredes quienes han sido faros de luz y pilares de apoyo inquebrantable durante mi formación académica su constante aliento me ha impulsado a superar todas las adversidades que se han presentado en mi camino.

A mis adorables niños Kerly y Mauricio por ser mi motor y motivo que me inspira a ser cada día una mejor persona, a mis hermanas/os, mis abuelitos, tias con los cuales he compartido mi vida y han estado junto a mí en momentos buenos y malos.

A todos mis docentes, por su dedicación y pasión por la enseñanza, por guiarme en el camino de la medicina veterinaria.

Nancy Yolanda Galeas Paredes

Esta tesis de grado realizada con todo el esmero, dedicación, y amor se la dedico primeramente a mi padre y a mi madre, a mis hermanos y a toda mi familia que supieron brindarme todo el apoyo moral en los momentos que más necesité y han desarrollado en mi un espíritu noble lleno de esperanzas y el dulce deseo de ser útil para la sociedad y para ser portadora de nuevos conocimientos a nuevas generaciones que se involucren en esta digna profesión como lo es ser medica veterinaria, también lo dedico a una persona muy especial allá en cielo Milton Pilcolema que fue mi ángel guardián durante todo el proceso de estudio y se que se sentirá orgulloso de mi desde el cielo eterno.

Alba Roxana Pilcolema Arteaga

AGRADECIMIENTO

A ti Dios padre celestial mi más profundo agradecimiento por ser mi guía y fortaleza durante todo este proceso dentro de mi formación académica, sin tu amor incondicional y sabiduría divina, no habría logrado superar todos los desafíos. Gracias por iluminar mi camino y darme la fuerza para seguir adelante.

Quiero expresar mi mas sincero agradecimiento a mis padres Arsube y Carmen quienes han sido mi guía y mi ejemplo para seguir esforzándome cada día para alcanzar mis sueños anhelados, mi corazón se llena de gratitud por el apoyo y su amor incondicional.

Agradezco a mi prestigiosa institución "UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR", la cual me abrió sus puertas para alcanzar mis objetivos propuestos a obtener el titulo de Medica Veterinaria, además agradecer a mi querida Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, por los conocimientos valiosos que he adquirido permitiéndome culminar una etapa tan importante en mi vida.

Agradezco la participación brindada a los miembros de mi tribunal de la unidad integración curricular mi eterna gratitud a mi director de tesis Dr. Favián Bayas por su dedicación y paciencia en guiarme hasta el final en este proceso tan importante en mi trabajo de investigación, Dr. Ribeliño Ramón , Dra Jenny Martinez , Dr Fernando Carrasco agradecer por su comprensión, conocimiento, enseñanzas y colaboración lo cual permitió la culminación de la realización de este proyecto de investigación.

Agradezco la colaboración técnica del personal que forma parte del laboratorio, a la Ing. Angélica Tigre, por la paciencia y comprensión, y por compartir sus afectuosos conocimientos y guiarnos en el trabajo de campo de esta tesis.

Nancy Yolanda Galeas Paredes

AGRADECIMIENTO

Por fin, los agradecimientos. La última página que se ha escrito pero la primera que verá el lector, más la felicidad y el alivio son estados de ánimo efímeros, y podrían arrojar dudas sobre la durabilidad del sentimiento de gratitud que generan.

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerte a ti Dios y al patrón San Miguel por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

Un especial agradecimiento a mi familia, en especial a mis padres Luis Pilcolema y María Arteaga, hermanos por su amor incondicional, comprensión y ánimo constante. Su fe en mis capacidades ha sido una fuente de motivación y fuerza durante todo mi recorrido académico.

Expreso mi más profundo agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Favián Bayas Morejón, por su invaluable orientación, paciencia y conocimiento. Su apoyo constante y consejos expertos fueron cruciales en cada etapa de esta investigación.

También me gustaría agradecer a mis docentes que durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado con un granito de arena a mi formación, y en especial a la Dra. Jenny Martínez por sus consejos, su enseñanza y más que todo por su amistad.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Alba Roxana Pilcolema Arteaga

TABLA DE CONTENIDO

CONTENIDO		PAG.
CAPÍTULO I		1
1.1.	INTRODUCCIÓN	1
1.2.	PROBLEMA	3
1.3.	OBJETIVOS	4
•	Objetivo General	4
•	Objetivos Específicos	4
1.4.	HIPÓTESIS	5
CÁPITULO II		6
2.	MARCO TEÓRICO	6
2.1.	Morfología del sistema mamario	6
2.2.	Producción de la leche	10
2.3.	Infecciones intramamarias	10
2.4.	Antibiograma	15
2.5.	Terapia con extractos vegetales	16
2.6.	Escala de sensibilidad de un fitofármaco	16
2.7.	*Taraxacum officinale*	16
2.8.	Extractos vegetales	20
2.9.	Métodos de obtención de los extractos	20
2.10.	Cromatografía	21
CAPÍTULO III		24
3.	MARCO METODOLOGÍCO	24
3.1.	Ubicación de la investigación	24
•	Localización de la investigación	24

- Situación geográfica y climática. 24
- Zona de vida. 24

3.2. Metodología 25

3.2.1. Material en estudio. 25

3.2.2. Factores en estudio 25

3.2.3. Tratamientos. 25

3.2.4. Tipo de diseño experimental 26

3.2.5. Manejo de la investigación. 26

3.2.6. Métodos de evaluación. 29

3.2.7. Análisis de datos. 30

CAPÍTULO IV 31

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 31

4.1. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS 31

4.1.1. Análisis inhibitorios del extracto etanólico del diente de león frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. 31

4.1.2. Estudio de la susceptibilidad de *Escherichia coli* frente al extracto etanólico del diente de león. 34

4.1.3. Estudio de la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico del diente de león. 35

4.1.4. Estudio del porcentaje inhibitorio de los tratamientos propuestos frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. 37

4.1.5. Determinación de compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*). 38

4.1.6. Comparación de los compuestos volátiles identificados del extracto etanólico del diente de león con referencias bibliográficas.. 42

4.2. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS 44

CAPÍTULO V 45

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 45

5.1. CONCLUSIONES 45

5.2. RECOMENDACIONES 46

BIBLIOGRAFÍA 47

ÍNDICE DE TABLAS

N⁰	DETALLE	PAG
1.	Escala de sensibilidad de un fitofármaco	16
2.	Taxonomía del diente de león.	17
3.	Tratamientos en estudio de la interacción de los factores A x B.	25
4.	Características numéricas del diseño.	26
5.	Fuentes de variación DBCA con la interacción de los factores.	26
6.	Análisis de varianza del efecto del extracto etanólico del diente de león frente a *E. coli* y *S. aureus*.	31
7.	Comparación múltiple con Tukey de las medias de los tratamientos propuestos en la investigación	32
8.	Estudio de la sensibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* frente al extracto etanólico del diente de león.	34
9.	Estudio de la sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico del diente de león.	35
10.	Porcentaje inhibitorio de los tratamientos propuestos frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.	37
11.	Determinación de compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*).	39

ÍNDICE DE FIGURAS

N⁰	DETALLE	PAG
1.	Diagrama de cajas y bigotes del antibiograma de los tratamientos propuestos en la investigación	33
2.	Resultados del antibiograma del extracto etanólico del diente de león frente a *Escherichia coli*.	34
3.	Resultados del antibiograma del extracto etanólico del diente de león frente a *Staphylococcus aureus*.	36
4.	Porcentaje inhibitorio de los tratamientos propuestos frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.	37
5.	Cromatograma de los compuestos volátiles encontrado por medio de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del extracto etanólico del diente de león.	38
6.	Compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas del extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*).	41

ÍNDICE DE ANEXOS

N^{0} **DETALLE**

1. Lugar de investigación

2. Resultados de los compuestos volátiles del extracto de diente de león.

3. Base de datos.

4. Fotografías de la investigación.

5. Glosario de términos.

RESUMEN

El aumento de la resistencia bacteriana es una preocupación a nivel mundial, por que a impulsado en buscar nuevas alternativas terapéuticas, de tal manera la presente investigación tiene como objetivo estudiar de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*) frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Metódicamente se establecieron evaluar el tiempo de maceración sobre dichos microorganismos mediante la técnica de antibiograma de difusión de disco, para lo cual se evaluó ocho tratamientos (T1: macerado de 1 día frente *E. coli*, T2: macerado de 2 día frente *E. coli*, T3: macerado de 4 día frente *E. coli*, T4: macerado de 6 día frente *E. coli*, T5: macerado de 1 día frente *S. aureus*, T6: macerado de 2 día frente *S. aureus*, T7: macerado de 4 día frente *S. aureus*, T8: macerado de 6 día frente *S. aureus*) además el macerado de mayor tiempo se sometió a un análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para determinar los compuestos volátiles presentes. Como parte de los resultados podemos mencionar que solo el T4 y T8 expresaron tener actividad antimicrobiana ya que obtuvieron halos de inhibición > 8 milímetros, mientras que los otros tratamientos obtuvieron halos menores a < 8 milímetros, el extracto etanólico de diente de león macera por 6 días posee en mayor cantidad ácidos grasos de cadena larga (ácidos linoleico, acido linoléico y acido palmítico) y alcoholes grasos, en menor medida se identificaron flavonoides, terpenos y lactonas, a los cuales se le otorga la actividad antimicrobiana. Se concluye que el extracto etanólico de diente de leon es una valiosa alternativa terapéutica para inhibir el crecimiento de bacterias con patrones de resistencia a los antibióticos.

Palabras claves: Antibiograma, *E. coli, S. aureus*, GC-MS, compuestos volátiles.

SUMMARY

The increase in bacterial resistance is a worldwide concern, which has prompted the search for new therapeutic alternatives, so this research aims to study the antimicrobial activity of the ethanolic extract of dandelion (*Taraxacum officinale*) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Methodically, it was established to evaluate the maceration time on these microorganisms by means of the disc diffusion antibiogram technique, for which eight treatments were evaluated (T1: 1-day macerate against *E. coli*, T2: 2-day macerate against *E. coli*, T3: 4-day macerate against *E. coli*, T4: 6-day macerate against *E. coli*, T5: 1-day macerate against *S. aureus*, T6: 2-day macerate against *S. aureus*, T7: 4-day macerate against *S. aureus*, T8: 6-day macerate against *S. aureus*) and the longest macerate was subjected to gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) analysis to determine the volatile compounds present. As part of the results we can mention that only T4 and T8 expressed to have antimicrobial activity since they obtained inhibition halos > 8 millimeters, while the other treatments obtained halos smaller than < 8 millimeters, The ethanolic extract of dandelion macerated for 6 days has a greater amount of long-chain fatty acids (linoleic acid, linoleic acid and palmitic acid) and fatty alcohols, and to a lesser extent flavonoids, terpenes and lactones were identified, which were found to have antimicrobial activity. It is concluded that the ethanolic extract of dandelion is a valuable therapeutic alternative to inhibit the growth of bacteria with antibiotic resistance patterns.

Key words: Antibiogram, E. coli, S. aureus, GC-MS, volatile compounds.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es la presentación clínica de un cuadro inflamatorio de la ubre, cuyo origen es multifactorial, en donde los patógenos bacterianos contagiosos y los presentes en el medio ambiente, también llamados ambientales logran colonizar la glándula mamaria (Ajose *et al.,* 2022). La patología mamaria conduce a grandes pérdidas financieras en los hatos de producción lechera del todo el mundo, esto debido a una reducción en la cantidad de leche producida, además de alteraciones en su composición que altera la calidad de esta, una consecuencia de esto es el desecho de leche con residuos de antibióticos y altos recuentos bacterianos, descartes o sacrificio de animales con cuadros incurables y un alto costo en el tratamiento (Algammal *et al.,* 2020).

Reportes de casos a nivel mundial sugieren que los patógenos bacterianos que se encuentran con mayor prevalencia en una afección mastítica son; *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Klebsiella, Streptococcus uberis, , Streptococcus dysgalactiae, Escherichia coli, Serratia, Pseudomonas*, Etc. Los antimicrobianos se utilizan en la industria láctea para la terapia de secado de manera no selectiva, además de la prevención y control de las mastitis y otras enfermedades bacterianas que afecta a las vacas lecheras (Cheng *et al.*, 2019).

La dependencia de los antimicrobianos se ha convertido en un fenómeno generalizado en los hatos lecheros, contraproducentemente esto genera resistencia antimicrobiana, cuya presentación no pasa desapersibida y genera cuadros con curación incompleta y déficit terapéutico de los antimicrobianos antes catalogados como curativos, en Europa se considera como un potencial riesgo sanitario de tipo comunitario entre la sociedad mundial, comprometiendo el desarrollo productivo y calidad alimentaria (OMS, 2015).

Cuando un antibiótico pierde su eficacia en el tratamiento de la mastitis debido en parte a la resistencia de los microorganismos a las particularidades farmacológicas del medicamento utilizado frecuentemente, es en origen por la expresión de genes o plásmidos que propician circunstancias y eventos microbiológicos propios del microorganismo para no sucumbir ante la terapia instaurada (Saeed *et al.,* 2022).

Históricamente la utilización de agentes vegetales con enfoque medicinal ha sido un tema controversial, debido a razones bioquímicas y terapéuticas que puede ocurrir a nivel del organismo del animal, si embargo, actualmente se entiende como un recurso alterno con resultados prometedores en las interacciones de susceptibilidad bacteriana en diversos casos de tipo infeccioso, reportes de ensayos in vitro con compuestos bioquímicos aislados de extractos vegetales brindan sustentación de las diversas bioactividades encontradas en la fitoterapia (Moncayo *et al.,* 2022).

La caracterización de productos naturales permite categorizar los posibles riegos de toxicidad para terapias en animales, sin embargo, el impacto metabólico de estas sustancias suele ser mínimo o nulo, además, la instauración de esto in vivo deben garantizar la estabilidad sanitaria y el bienestar del paciente que la recibe, conjuntamente con un minimo impacto a nivel ambiental, satisfaciendo los índices y los objetivos terapéutico propuestos ante la posible aparición de cepas resistentes a los antimicrobianos (Buldain, 2019).

La destacable ventaja en el uso terapéutico de plantas medicinales es la seguridad que posee con su utilización, lo económico que resulta ser para adquirirla, y su comportamiento fitofarmacocinético y fitofarmacodinámico (Cerón *et al.,* 2019). La planta denominada *Taraxacum officinales* también conocido como diente de león se cataloga como una especie herbácea que se ha utilizado en muchos sistemas médicos de una diversidad de países asiáticos, europeos y del continente americano (Díaz *et al.,* 2020). Varias referencias científicas mencionan que la actividad antimicrobiana que posee el diente de león frente a infeccionas bacterianas se origina por compensación y actividad de metabolitos como terpenos, flavonoides y entre algunos compuestos fenólicos (Lazo *et al.,* 2018).

Sobre esta especie vegetal existe limitada información acerca de los resultados de las bioactividades e interacción de susceptibilidad antimicrobiana de varios géneros bacterianos, algunos estudios consideran de forma cualitativa el análisis químico del extracto de dicha planta, es decir indican la presencia o ausencia del principio bioactivo que le otorgué la capacidad de lisar a una bacteria en particular.

1.2. PROBLEMA

Por varias décadas los agentes farmacológicos antimicrobianos utilizados en la terapia de numerosas condiciones infectocontagiosas producidas por bacterias, estos agentes farmacológicos son capaces de erradicar o controlar el crecimiento exacerbado de microorganismos bacterianos de varios géneros, la farmacopea antibiótica ha logrado proteger vidas y asegurar el bienestar animal, sin embargo, uno de los mayores problemas mundialmente es el uso irracional de estos medicamentos y una errónea prescripción del mismo, considerando que los potenciales microorganismos causantes de enfermedades en animales de abate poseen capacidades adaptativas que los han vuelto resistentes a los tratamientos farmacológicos antimicrobianos.

La resistencia a los antimicrobianos es un problema emergente el cual tiene un potencial creciente en todo el mundo, que resulta en una condición conflictiva en la medicina humana y veterinaria, siendo el estado de sanidad de los animal se ve involucrada directamente como el principal vector en la aparición de microorganismos resistentes debido a que una inadecuada gerencia en los tratamientos con antibióticos propicia la aparición y diseminación de procesos biológicos de resistencia.

El problema de la creciente resistencia antimicrobiana de la diversidad de patógenos bacterianos es objeto de preocupación, siendo así, que la OMS postula como una potencial alternativa la terapéutica con plantas medicinales de interés primario en los tratamientos antimicrobianos con perspectivas crecientes, si embargo, hay que considerar a la fitoterapia una alternativa que debe aplicarse de forma sustentada en estudios y ensayos clínicos en modelos in vitro e in vivo, que no ponga en riesgo la salud a corto o largo plazo una determinado grupo social (OMS, 2023). Como añadidura es que un punto negativo de la fitofarmacología es que existe limitada información científica a nivel in vitro que pueda expresar resultados favorables en interacciones antimicrobianas de patogenos que ocacionan enfermedades que afectan de manera contraproducente a los animales de producción.

1.3. OBJETIVOS

- **Objetivo General**

Estudiar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*) frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

- **Objetivos Específicos**

Obtener y caracterizar el extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Estudiar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*) frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Comparar los compuestos volátiles del mejor tratamiento con perfiles bibliográficos.

1.4. HIPÓTESIS

- **Ho:** No existe actividad antimicrobiana del extracto etanólico del diente de león frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

- **Ha:** Existe actividad antimicrobiana del extracto etanólico del diente de león frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

CÁPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Morfología del sistema mamario

El sistema mamario de las vacas se origina a partir de una tetralogía glandular que derivan en principio de estructuras embrionarias iniciales (tubo dérmico). En términos fisiológicos, se identifica como una glándula sudorípara modificada. Esta estructura es externamente conformada de piel que muestra una notable inervación, especialmente concentrada en su región ventral y en los pezones. En el caso de vacas adultas, principalmente las multíparas, se manifiesta como un reservorio encargado de almacenar la leche (Acosta *et al*., 2017).

2.1.1. Cuarto de la ubre

La fisiología mamaria se comprende mejor al considerar que la ubre está compuesta glándulas con capacidad excretora cuya actividad se relaciona con componentes sanguíneos. Estas unidades, están formadas de diversas unidades funcionales a las que se relaciona su conformación general. Estas unidades fisiológicas proporcionan el entendimiento esencial para el estudio de la función de la ubre. Es sabido que la ubre posee dos divisiones, una anterior y una posterior, que a su vez se dividen lateralmente en izquierdo y derecho lo que establece su estructura anatómica básica (Filoppo *et al.,* 2021).

En la vaca la ubre se divide en 4 segmentos. La porción posterior, conocida como glándula mamaria caudal, destaca por su extensión y capacidad de producción láctea, albergando aproximadamente el 60% de la leche. El restante 40% se origina de la población y disposición de las células epiteliales mamarias de la porción anterior de la ubre. La separación entre estos segmentos se da por septos formados por tejido conectivo. Además, la ubre cuenta con ligamentos suspensorios medios y sus estructuras laterales, proporcionando soporte estructural a esta área anatómica (Boeris *et al.,* 2016).

2.1.2. Estructuras suspensorias de la ubre

Anatómicamente es soportada por diversos sistemas histológicos específicos. En exterior la piel ofrece protección y firmeza, mientras que internamente, la

histoarquitectura tiende a variar y dferenciar el tejido mamario del de la pared abdominal. Los ligamentos que suspenden y colocan a la ubre en su lugar, son determinados como tejido de tipo conjuntivo fibroso, y la mantienen suspendida con una estabilidad relativa, proporcionando sujeción a las porciones inferiores y anterior. Además, lateralmente las estructuras de suspende y sujetarla son dos ligamentos laterales y contribuyen al soporte envolviendo lateralmente la ubre. El tendón subpélvico desempeña un papel crucial al originar las principales estructuras encargadas de brindar el soporte necesario a la ubre (Macas, 2019).

Histológicamente las estructuras que suspenden la ubre son conformaciones de tejido elástico, responsable de asegurar una unión entre el sistema mamario y la región abdominal/inguinal de la vaca. Al observar el sistema mamario desde la porción posterior, principalmente se observa el ligamento medio, formando una división conocida como surco medial, siendo este una estructura crucial en mantener fija los cuartos a la pared del abdomen. Por otro lado, el soporte lateral del sistema mamario se debe al apoyo de los ligamentos laterales, cuyo origen radica en el tendón sub-pélvico. Estos son importantes para estabilizar el soporte de la ubre (Restrepo *et al.,* 2020).

La conformación mamaria está configurada por numerosas unidades funcionales que establecen una estructura utilitariamente diferenciada, que puede alcanzar hasta un peso 50 kg, dependiendo de las practicas de manejo, la edad de la lactancia y la nutrición del animal (Martínez, 2017).

2.1.3. Síntesis de la leche

El proceso de lactopoyesis se relaciona directamente con la capacidad de síntesis de componentes sanguíneo en leche, propiciado principalmente en las células epiteliales que, distribuidas proporcionalmente en los alvéolos intramamario (Carbellin, 2000). Otra estructura, denominada lóbulo, formado por alvéolos, almacena la mayoría (60-80%) de leche producida entre procesos de ordeño, principalmente entre los espacios alveolares y minoritariamente en los conductos. La cisterna retiene el 20-40% restante de la leche producida (Cortes *et al.*, 2021).

La secreción láctea inicia en el tejido secretor mamario, el cual es de tipo parenquimatoso, este se encuentra fragmentado en pequeños lóbulos gracias a la

presencia de septos ínterlobulares. Estos septos, derivados de las láminas suspensorias, están compuestos principalmente por tejido conjuntivo, caracterizado por su abundancia en colágeno y fibras elásticas (Aguirre, 2013).

2.1.3.1. Secreción de la leche

La secreción de leche ocurre de forma continua e implica numerosos estímulos e interacciones bioquímicas. A medida que aumenta la acumulación de leche en el alvéolo, aumenta la presión y esto, a su vez, reduce la síntesis de más leche. A pesar de que los carbohidratos principalmente provienien de la dieta que se fermenta y digiere en casi su totalidad en el rumen desde los diversos ácidos grasos volátiles (como ácido etanoico, propiónico y butírico), la glándula mamaria lactante requiere grandes cantidades de glucosa para sus funciones (Fonseca, 2017).

2.1.4. Morfología del pezón

El complejo del pezón engloba la cisterna, los canales galactóforos y la papila, conteniendo entre 6 y 10 pliegues longitudinales, conocidos como la roseta o rosácea de "Fürstenberg". Esta estructura secreta compuestos bactericidas. Cada porción mamaria termina en una teta, con una extensión promedio de 6.5 a 8.2 cm, siendo utilitario para alimentación del lactante (Chen *et al.,* 2018).

El conducto del pezón está rodeado por una disposición de fibras musculares lisas en forma de red, conocida como el esfínter (Bianchi *et al.,* 2019), La estructura de los pezones consta de cuatro estratos que actúan como estructuras preventivas y modulan la intensidad de las infecciones intramamarias y la estimulación de la liberación de leche: epidermis, dermis, músculos y endotelio.

Antes de la salida de la leche, esta se acumula en la cisterna de la teta, la que es revestida por una bicapa celular de tipo cúbica que se encuentran fuertemente unidas, que pueden diferenciar y permitir la expoliación de los glóbulos blancos o leucocitos en respuesta a estímulos bacterianos (Guo *et al.,* 2021).

2.1.5. Aporte sanguíneo de la ubre

La provisión de sangre a la glándula mamaria se origina en el corazón, fluyendo desde la arteria aorta abdominal y continuando a través de las arterias ilíacas externas, para luego derivar en paquete arterial pudendo externo lateral derecho e

izquierdo. Estas arterias se distinguen desde la porción del abdomen, ingresando al sistema mamario por el canal de la ingle, concurriendo finalmente en los procesos arteriales mamarios craneales y caudales, extendiéndose lateral y ventralmente. Posteriormente, estas arterias se subdividen en arteriolas que proporcionan irrigación sanguínea a los alvéolos, tejido conectivo y pezones de la ubre (Chanaluisa, 2019).

La circulación venosa de drenaje sigue un curso paralelo al de las arterias que alimentan la zona, dando lugar a la formación de dos venas principales: la pudenda externa y la subcutánea abdominal, conocida como proceso venoso mamario, la cual claramente visible en el abdomen, específicamente hacia distal de la pared de este, sosteniéndose de forma particular por la piel abdominal y tejido subcutáneo (Carbellin, 2000). La vía primaria por la cual se da el retorno venoso desde la glándula mamaria hacia circulación venosa cardiaca sigue un trayecto cercano al descrito previamente. El flujo de sangre desde el tejido mamario hacia el ventrículo derecho sigue un sistema venoso que recorre desde lo más dorsal hasta lo más ventral de los cuartos mamarios.

El proceso venoso denominado vena epigástrica superficial caudal recibe el flujo sanguíneo de las glándulas inguinales y se dirige hacia la parte frontal de la ubre. Esta vena se hace visible debajo de la piel en el abdomen, conocida comúnmente como epigástrica superficial caudal, esta vena se conecta la que concurre finalmente en proceso venoso torácico interno (Amer, *et al.*, 2018).

2.1.6. Configuración linfática de la ubre

La configuración linfática presenta una función significativa de tipo inmunológica, donde la distribución de diversos vasos de menor calibre alcanzan de forma profunda el tejido secretor, y se conectan con los de mayor calibre ubicados debajo de la piel. Estos vasos más grandes se dirigen en dirección ascendente y posterior para finalmente desembocar en los ganglios de la glándula mamaria (Ewida *et al.*, 2020).

2.1.7. Inervación de la ubre

Las glándulas mamarias son provistas de fibras sensoriales que transmiten información hacia ellas y de fibras eferentes simpáticas que llevan señales desde

estas glándulas. Sin embargo, carecen de fibras parasimpáticas. Las fibras sensoriales tienen su origen en nervios de espina, de la L4 hasta L6 y de periné, loss cuales concurren por el canal inguinal y se convierten en los procesos nerviosos de las ingles (Bhakat *et al.,* 2020).

2.2. Producción de leche

El desarrollo fisiológico del sistema secretor y productor de leche se alcanzan mediante una interacción compleja de procesos hormonales y metabólicos. Estas hormonas desempeñan un papel crucial tanto en el crecimiento inicial y continuo del sistema mamario como en los estimulos primordiales para el inicio de lactancia, incluida la secreción de leche (Martins *et al.,* 2020).

2.2.1. Origen de la ubre

El crecimiento y la evolución de la glándula mamaria inician desde la etapa fetal y persisten a lo largo de la vida reproductiva del animal, marcados por fases alternas de crecimiento equilibrado y desigual en tamaño. Este proceso se describe en cuatro etapas según lo planteado por Tucker en 1987 (Sharun *et al.,* 2021).

El desarrollo mamario está controlado por hormonas tanto ováricas como hipofisarias. Los estrógenos, hormonas ováricas, fomentan el crecimiento de los conductos mamarios, mientras que la progesterona influye en el sistema lóbulo-alveolar. Además de estas hormonas, se requiere de la acción de hormonas provenientes de la hipófisis, donde la hormona del crecimiento (GH) y la prolactina son indispensables en el desarrollo mamario completo. Además, una variedad de factores locales actúa en el tejido glandular de manera parácrina y autócrina para complementar este proceso (Wente *et al*., 2019).

2.2.2. Actividad secretora de la ubre

La lactogénesis se refiere a una serie de procesos de cambio celular que transforman las células mamarias de un estado no secretor a uno secretor, lo que habilita el inicio de la generación de la leche (Ranasinghe *et al.,* 2021).

2.3. Infecciones intramamarias

La inflamación de las estructuras tisulares de la glándula mamaria, conduce cambios en la composición de la leche, lo que influyen en el aumento de las células

formes de la glándula, especialmente los leucocitos, y alteraciones patológicas en el tejido glandular. Este problema, causado por una infección dentro de la glándula mamaria, resulta en considerables pérdidas económicas (Pirola, 2017), La leche afectada muestra una disminución en lactosa, grasa y caseína, además ciertos componentes como el sodio, cloruros, proteínas y pH incrementan de forma significativa, ocasionados por pérdida en la integridad de la permeabilidad del epitelio vascular debido a la inflamación (Ruiz *et al.*, 2016).

Los signos de mastitis, como en cualquier inflamación, pueden incluir aumento de temperatura, enrojecimiento, hinchazón y dolor, con consecuencias negativas como fiebre, letargo, pérdida de apetito, deshidratación, pérdida de la función mamaria, etc. (Jun-Du *et al.*, 2018).

Esta patología bovina es determinada por cambios en leche y la ubre, evidenciados por síntomas como reducción en la producción láctea, aumento de leucocitos, variaciones en los sólidos y otros elementos conformantes y en el aspecto de la leche, junto a la inflamación en los cuartos mamarios. Se divide en Mastitis clínica y Mastitis subclínica, según el grado de inflamación y sus efectos sistémicos en las vacas (Aguilar *et al.*, 2019).

2.3.1. Presentación clínica

La mastitis clínica se define por presentar irregularidades fácilmente detectables en las tetas y glándula mamaria o la leche de la vaca, tales como inflamación, enrojecimiento y modificaciones en las propiedades de la leche. Puede manifestarse de manera aguda, con un inicio súbito, o de forma crónica, como una infección prolongada que afecta la apariencia de la leche y el tejido mamario (Hoque *et al.*, 2022).

2.3.2. Presentación subclínica

Se distingue por la coexistencia de un microorganismo junto con un incremento en el recuento de células lácteas e inmunes en una muestra de leche, dicha forma de mastitis puede generar inflamación sin manifestar cambios notables en la leche o la ubre, aunque puede reducir la producción láctea. La presencia de elementos inflamatorios, así como bacterias, y suele ser difícil de tratar u alteran las condiciones organolépticas en la leche (Mushtaq *et al.*, 2018).

Esta forma de la enfermedad es la más duradera en el ganado dedicado a la producción láctea, siendo común y capaz de generar considerables pérdidas económicas. No solo afecta la producción de leche, sino que también resulta en un compromiso de la calidad de la totalidad de leche del tanque, lo que contribuye a estas pérdidas económicas (Vezina *et al.,* 2021).

2.3.3. Microbiologia de las infecciones intramamarias

La colonización de patógenos bacterianos en el interior de la glándula mamaria tiene la capacidad de iniciar una nueva infección. Actualmente, existen más de 200 microorganismos distintos que pueden provocar mastitis bovina. Estos microorganismos se pueden dividir en dos categorías principales: patógenos contagiosos y ambientales. (Rojas *et al.,* 2022).

La mastitis puede transmitirse de una vaca a otra a través de la ubre, siendo esta el principal reservorio de microorganismos. Los patógenos se propagan mediante vectores mecánicos como las manos del ordeñador o herramientas de limpieza, lo que resulta en infecciones persistentes y formas crónicas o subclínicas de la enfermedad (Macas, 2019).

2.3.3.1. *E. coli*

La bacteria *E. coli* es el agente ambiental más frecuente asociado con la mastitis. Este microorganismo, Gram-negativo, facultativo, anaeróbico, con una particular forma de palillo, carente de esporas y se encuentra en mayor población en heces o material contaminado con estas. De tal modo, las mastitis colibacilares son mas prevalentes en las ubres que tienen contacto directo con camas húmedas y contaminadas (Liabin *et al.,* 2019). El tipo de por *E. coli* mastitis se categoriza como de tipo ambiental, e indican alto grado de contaminación y deficiente manejo sanitario durante el periodo de transición o en el postparto temprano (Javadmanesh *et al.,* 2018).

La gravedad de la infección depende factores virulentos con vinculo a la respuesta inmunitaria de la vaca más que de la virulencia del agente. Las endotoxinas liberadas por estas bacterias desencadenan respuestas inflamatorias y sistémicas al activar citocinas y mediadores, así como proteínas de fase aguda (Sharifi *et al.,* 2022).

2.3.3.2. *S. aureus.*

Se trata de una bacteria de naturaleza Gram positiva que ocasiona diversas manifestaciones de mastitis, abarcando desde formas hiperagudas hasta subclínicas, siendo esta última la más comúnmente encontrada. Esta bacteria exhibe una alta capacidad invasiva al secretar enzimas y toxinas, mostrando resistencia a la fagocitosis mediante la presencia de proteína A en su superficie y evitando la respuesta inmune gracias al ácido teicoico. Además, como patógeno intracelular facultativo, tiene la capacidad de residir dentro de células fagocíticas y desencadenar la formación de tejido fibroso (Rojas *et al.,* 2022).

Es un agente patógeno altamente contagioso, es responsable del desarrollo de mastitis. Su origen principal se encuentra en la glándula mamaria, con fuentes secundarias presentes en la piel de la ubre y las tetillas, así como en múltiples compartimentos del entorno. Se presume que la transmisión dentro del ganado ocurre predominantemente a través del ordeño (Aguilar & Alvares, 2019).

Para lograr un tratamiento exitoso de la mastitis, se necesitan períodos extendidos de 7 a 10 días, empleando antibióticos con afinidad por los lípidos que puedan distribuirse de manera efectiva en el tejido mamario. A pesar de los resultados insatisfactorios asociados con la oxitetraciclina en tratamientos de corta duración, se ha observado que las cefalosporinas y los macrólidos demuestran efectos favorables en la terapia, seleccionándose el fármaco más adecuado en base a la sensibilidad bacteriana (Sharun *et al.,* 2021).

2.3.4. Valoración de las infecciones intramamarias

El diagnóstico metódico es importante para delimitar las implicaciones del proceso infeccioso, definir el compromiso de la calidad sanitaria de la leche y las repercusiones económicas subyacentes, la mayoría de métodos utilizados para la determinación se enfocan en la determinación e identificación del patógeno involucrado, ya que de este dependerá las opciones de terapia antimicrobiana elegibles (Klibi *et al.,* 2018).

2.3.4.1. Diagnóstico de los causales de las infecciones intramamarias

El aislamiento e identificación de patógenos en la mastitis es crucial para elegir tratamientos y medidas preventivas. Se analiza la leche de vacas afectadas mediante cultivos bacterianos para detectar los microorganismos causantes. Este proceso, aunque esencial en el diagnóstico, demanda tiempo y condiciones asépticas estrictas para evitar la contaminación (Aguilar & Alvares, 2019).

2.3.5. Papel de los medicamentos en las infecciones intramamarias

Las condiciones profilácticas en una unidad productiva son la mejor opción, ya que resulta recursivo en comparación a los enfoques terapéuticos utilizados actualmente, aunque la aplicación de antibióticos se utiliza activamente tanto en los casos clínicos como subclínicos, y su protocolaridad dependerá del patógeno causante (Sharun *et al.,* 2021; Sharif *et al.,* 2022).

2.3.6. Resistencia de las bacterias causante de infecciones intramamarias

La variabilidad en relación a la resistencia farmacológica con diferencias moleculares en sus estructuras genéticas, estas diferencias pueden involucrar mutaciones en los genes responsables de los mecanismos de resistencia, como cambios en los lugares donde se unen los antibióticos, alteraciones en enzimas encargadas de desactivar los fármacos o modificaciones en los sistemas de transporte que regulan la entrada o salida de los antibióticos en las células bacterianas, además, la diversidad genética entre cepas bacterianas contribuye a la variabilidad en la susceptibilidad a los tratamientos antibacterianos en distintas regiones geográficas (Dueñas *et al*., 2021).

La resistencia se describe como la capacidad reducida de una bacteria para ser afectada por un tratamiento específico, siendo evaluada a través de la evaluación y los criterios de CMI. La ausente susceptibilidad da como resultado muchos cambios en la composición genética bacteriana, los cuales pueden implicar modificaciones puntuales en el ADN, eliminación, inversión o inserción de secciones genómicas. Además, esta resistencia puede surgir por la incorporación de nuevas secuencias de genes y material genético (Dueñas *et al*., 2021).

A pesar de que la resistencia antimicrobiana es un fenómeno natural en la biología de los microorganismos, varios factores contribuyen al surgimiento de este fenómeno, estos incluyen el uso excesivo y sin discriminación de antibacterianos, la administración de dosis subóptimas, la formulación de estos fármacos con propósitos de estimulación del crecimiento, la presencia residual de antimicrobianos en productos derivados de animales, la aplicación por parte de individuos no autorizados, la formulación sin diagnóstico confirmado y la interrupción temprana de tratamientos, entre otros aspectos, por lo tanto, al elegir un antibacteriano (Dueñas *et al*., 2021).

2.4. Antibiograma

Se emplean técnicas como la difusión con discos en placa, para evaluar la magnitud que un patógeno resiste a los diversos agentes farmacológicos. Esta metodología cuantifica de forma cuantitativa la capacidad de un disco impregnado con un agente antimicrobiano, colocado sobre un sustrato de cultivo, mostrando la capacidad del agente para detener el crecimiento bacteriano (CLSI, 2023).

La prueba de susceptibilidad o técnica de Kirby-Bauer implica colocar un papel circular con antibiótico sobre un medio de bacterias (agar) que, tras la incubación, forma halos alrededor. El tamaño del halo señala la sensibilidad o resistencia de las bacterias al antibiótico; un diámetro grande indica sensibilidad, mientras que uno pequeño indica resistencia al fármaco (Dueñas *et al*., 2021).

2.4.1. Criterios de interpretación de un antibiograma

Desde la implementación de los antibiogramas, se ha generado confusión al clasificar los microorganismos aislados en informes de sensibilidad. Por esta razón, CLSI ha definido criterios y establecido categorías clínicas:

- Sensible: indica la inhibición in vitro de una cepa por la dosis habitual recomendada de un antimicrobiano, sugiriendo alta probabilidad de éxito en el tratamiento (Dueñas *et al*., 2021).
- Intermedio: denota la inhibición in vitro de una cepa por la dosis habitualmente recomendada de un antimicrobiano, pero con un efecto incierto (Dueñas *et al*., 2021).

- Resistente: indica la inhibición in vitro de una cepa por la dosis habitualmente recomendada de un antimicrobiano, sugiriendo una alta probabilidad de fracaso en el tratamiento (Dueñas *et al*., 2021).

2.5. Terapia con extractos vegetales

El procesamiento de especies vegetativas para obtención de aceites esenciales, es ampliamente empleados para prácticas tradicionales, están siendo investigados por sus posibles propiedades antimicrobianas. Estos elementos se extraen de múltiples secciones de plantas específicas, tales como hojas, raíces, flores y frutos (Yu *et al.*, 2020).

2.6. Categorización interpretativa de un compuesto fitofármacológico

Los resultados del antibiograma, es decir la medida del área de inhibición, son categorizados en base a los criterios de la escala descrita por Duraffourd *et al*. (1997), la cual nos permite determinar si posee efecto antimicrobiano dicho extracto.

Tabla 1.

Escala de sensibilidad de un fitofármaco

Punto de corte	**Zona de inhibición (mm)**
Sin actividad (-)	≤ 8 mm
Sensibilidad (+)	> 8 mm ≤ 14 mm
Bastante sensible (++)	> 14 mm ≤ 20 mm
Fuertemente sensible (+++)	> 20 mm

Fuente: (Duraffourd *et al*., 1997).

2.7. Taraxacum officinale

El *Taraxacum officinale*, fue reconocido con el nombre de Diente de león, la mism que se define medicinal por historiadores árabes, llamándolo "serral al-himar", traducido como "cerraja de asno", un término utilizado en ciertas regiones europeas para referirse a esta planta con fines medicinales. (Yapias, 2022).

2.7.1. Descripción

Esta planta se cree que proviene de Europa y que ha logrado una distribución mundial, siendo considerada en algunos lugares como una maleza que crece de forma abundante en condiciones propicias, además, posee adaptabilidad para desarrollarse en climas templados con suelos de tipo subpáramo (Rodríguez *et al.*, 2017).

Si tipología es perenne, no cuenta con un tallo definido, sin embargo, posee estabilidad para alcanzar hasta 30 centímetros de altura, su raíz de tipo pivotante es gruesa con longitudes variables que van hasta los 32 centímetros de profundidad, su distribución foliar es característica con hojas dentadas de tipo lobular, cuya agrupación es de forma rosetal muy próximas al suelo, las flores son amarillas características de esta especie,sus frutos tienen una estructura vilano que les permite dispersarse gracias al viento (Tolentino *et al.*, 2023).

2.7.2. Taxonomía

Tabla 2.

Taxonomía del diente de león.

Reino	Plantae
Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	*Taraxacum*
Especie	*officinale*
Nombre científico	*Taraxacum officinale*

Fuente: (Organización Tropicos, 2021).

2.7.3. Usos tradicionales

Se ha usado desde la antigüedad como planta medicinal en los países asiáticos, donde se ha documentado su utilidad en casos de inflamación hepática, cáncer hepático, agente depurador, antiestreñimiento, broncodilatador, etc., además cuando esta se infusiona puede generar actividad diurética, espasmos estomacales e instetinales, esta planta también produce una sustancia de consistencia similar, la cual ha sido útil en procesos de cicatrización, aislamiento de verrugas, etc, ventajosamente debido a estas particularidades en ciertos lugar se las incluye como alimento en ensaladas (Murillo & Gualán, 2022)

2.7.4. Composición química del extracto del diente de león

Químicamente los compuestos presentes en el diente de león son los responsables de su diversidad de bioactividades, dentro de los más reconocidos se encuentran las lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, alcaloides, fitoesteroides y polifenoles, estsos componenes han sido relacionados con propiedades antiinflamatorias, antivirales, antitumorales, antioxidantes, siendo las raíces y hojas los lugares donde mayor capitación de estos metabolitos se ha identificado, desde tiempos ancestrales se ha usado empíricamente las infusiones y extractos de esta planta, aunque, mayormente los polifenoles son los compuestos bioquímicos más abundantes identificados, por lo que se atribuye sus usos y enfoques terapéuticos a estos. Entre la amplia gama de compuestos los ácidos fenólicos, flavonoides y cumarinas son de gran importancia fitofarmacológica (Huamán & Trauco, 2021).

2.7.5. Propiedades farmacológicas

2.7.5.1. Actividad antiflamatoria

Los reportes clínicos enuncian que gran parte de los procesos neoplásico inician con un proceso inflamatorio crónico no modulado, cuyo daño tisular enfrenta condiciones reparativas alteradas, donde las células se reorganizan fuera del patrón de reparación adecuador, generando neoplasias o lesiones persistentes que no desaparecen con el tiempo, la gravedad de estas alteraciones dependerá del estrato celular comprometido, donde generalmente ciquinas y sustancias proinflamatorias compromenten aún mas la severidad del cuadro, de tal modo, el Instituto Nacional del Cancer en USA, menciona que la utilidad de sustancias antiinflamatorias son

una alternativa mitigante antes el posible desarrollo de circuntancias neoplásicas a nivel celular. Por esto el fundamento investigativo de Hu *et al.* (2017), es de suma importancia para entender que determinadas plantas como el *Taraxacum officinale* poseen efectos antiinflamatorios importantes, ya que se identificó que los extractos acuosos de la raíz de esta planta promovia la inhibición inflamatoria de las células endoteliales en cultivos celulares, presumiendo que dicho enfecto se debe a un compuesto de tipo polifenol, el cual se identificó como ácido cafeínico, además, reportó que su actividad se basaba en diversas modalidades, siendo una la inhibición de la activación de los macrófagos ante una invasión antigénica (Saratale, 2018).

2.7.5.2. Actividad citotóxica

La repercusión de algunos componentes tóxicos a nivel de las células es una las principales causas atribuidas al origen de los diversos procesos neoplásicos y otras alteraciones patológicas, sin embargo, el interés de algunas alternativas teraputicas para la mitigación del impacto de este proceso degenerativo ha sido creciento, siendo que en algunos reportes de importancia clínica como el experimento hecho por Ovadje *et al*. (2012), mencionan que a nivel celular los extractos del Diente de león permite inducir y programar la apoptosis de las células con divisiones alteradas, en ciertos tipos de cáncer como la leucemia y células cancerígenas del melanoma.

2.7.5.3. Actividad antimicrobiana

La susceptibilidad de algunos agentes bacterianos es muy variable y dependerá de la manera en que este sea asimilado por la cepa, investigaciones han propuesto que los extractos vegetales del *Taraxacum* spp., contiene sustancias como flavonas, quinonas, terpenos, compuestos fenólicos, alcaloides, etc., que actúan como antimicrobianos con diversos mecanismos de acción, pudiendo ser bactericidas o bacteriostáticos, comprometiendo la integridad de las células bacterianas y actuando de forma múltiple sobre estructuras importantes de la bacteria, logrando así inhibir su multiplicación y controlando los procesos infecciosos (Ivanov *et al.*, 2018).

2.8. Extractos vegetales

Son el resultado de procedimientos de obtención físico y quimico de compuestos biológicamente funcionantes cuya estructuración dependerá de las moléculas químicas que lo conformen y su organización, estos se encuentran principalmente en las estructuras anatómicas de la planta como las hojas, ramas, tallo, raíces, etc., la manera de vehiculizar estas sustancias se encuentra asociada al solvente se transporta en los procesos de extracción, químicamente estas sustancias son reconocidas como aldehídos, polialcoholes, ácidos, fenoles, terpenos, flavonoides, etc., entre más amplio sea su contenido de estas sustancias, mayor es su bioactividad (Fernández *et al.,* 2019).

2.8.1. Tipo de extractos

Mundialmente se reconocen diversos tipos de extractos, sin embargo, como consenso se reconoce que la fitofarmacología estadounidense los determina como extracto liquido, solido o semisólido (anmat, 2003; USP 30 - NF 25, 2007). Aunque también se los conoce por la naturaleza del solvente en donde se suspende, siendo estos acuosos heterogéneos y homogéneo, esteáricos, hidroalcohólicos etc, (ANMAT, 2003).

2.9. Métodos de obtención de los extractos

La obtención de los extractos se realiza de diversas formas, tanto físicas como químicas, a partir de hojas, frutos, ramas, tallos, pulpas o subproductos de estas, la separación desde su el lugar donde es contenido debe garantizar la viabilidad de los componentes activos (Ruiz, 2020).

En los procedientos de extracción es fundamental tener conocimiento de los solventes, la forma de extraer, el tiempo de extracción, ajustes de temperatura, presión o adision de reactivos químicos, de forma particular o en conjunto estos garantizarán la pureza y viabilidad de los principios activos de interés (Palacios, 2013).

- Extracción física/mecánica.
- Destilación con fases térmicas con vapor.
- Extracción química (Román *et al.,* 2016).

2.10. Cromatografía

Se conoce como un proceso de determinación físico donde los compuestos (solutos/analitos) de una mezcla de muestra se separan como resultado de la distribución diferencial entre las fases estacionarias y móviles, los solutos con mayor analogía por las fases, entre estas la estacionaria, con capacidad de migrar más lentamente que aquellos con menos afinidad, aquellos con menos afinidad residen principalmente en la fase móvil y migran más rápido, así, los solutos de menor afinidad se separan de los solutos que tienen mayores afinidades por la fase estacionaria, posteriormente, los solutos fuertemente unidos son desplazados de la fase estacionaria cambiando la naturaleza física o química (Burtis & Bruns, 2015).

En la cromatografía de gases (GC) y cromatografía liquida (LC) analítica, la fase móvil, o eluyente, sale de la columna y pasa a través de un detector que produce una señal electrónica que se traza como función de tiempo, distancia o volumen. La visualización gráfica resultante es un cromatograma (Burtis & Bruns, 2015).

2.10.1. Cromatografía de gases (GC)

En GC, involucra un período gaseoso (movil), para transportar una mezcla de solutos volátiles por medio de una columna que determinar el periodo estacionario, que principalmente es fluido no volátil recubierto con partículas a la superficie interna de un capilar (Burtis & Bruns, 2015).

Con menos frecuencia, la cromatografía de gases se realiza utilizando una fase estacionaria sólida, que adsorbe directamente los analitos en su superficie. El periodo determinado como móvil, fundamenta su principio en ser un gas inerte, entre los que se destaca el nitrógeno, helio o argón. En general, los componentes más volátiles tienen una presión de vapor más alta y pasan más tiempo residentes en la fase gaseosa (Burtis & Bruns, 2015).

Los analitos se identifican cualitativamente por sus tiempos de retención o por espectros de masas

2.10.1.1. Gas portador para la cromatografía de gases

El flujo debe ser constante del gas portador para la eficacia y reproducibilidad de la columna. El uso de gradientes de temperatura requiere un control sofisticado del

caudal y la presión del gas portador durante una ejecución cromatográfica. La presión requerida para mantener un flujo constante varía conforme al aumento de densidad del gas portador cambia con la temperatura. El caudal del gas portador depende del diámetro de la columna. Las columnas capilares utilizan caudales de 1 a 2 ml/min (Burtis & Bruns, 2015).

El gas portador utilizado depende del tipo de columna y detector. El hidrógeno y el helio son los gases más específicos para la detección en la columna capilare. Solo se utilizan hidrógeno y helio de alta pureza como gas portador. Las impurezas dañan la columna, disminuyen el rendimiento de algunos detectores y afectan negativamente a la cuantificación (Burtis & Bruns, 2015).

2.10.1.2. Inyección de la muestra para la cromatografía de gases

Las muestras se inyectan mediante una jeringa manual o un inyector automático, para introducir una alícuota de muestra en la columna, una aguja de inyección pasa a través de un tabique hasta un puerto de inyección en la trayectoria del flujo del gas portador, algunos componentes volátiles, como los alcoholes, se inyectan en fase gaseosa mediante muestreo en el espacio de cabeza de viales de muestras cerrados, sin embargo, para la mayoría de los métodos, las muestras se disuelven en un disolvente volátil, con columnas capilares, se inyectan volúmenes de muestra de aproximadamente 1 a 10 µL (Burtis & Bruns, 2015).

2.10.1.3. Columna capilar de la cromatografía de gases (GC)

Las columnas para cromatografía son dos clases una es las empaquetadas y las otras son las capilares, utilizadas en GC. Las columnas empaquetadas se llenan con partículas de soporte no recubiertas, estas partículas varían de 1 a 4 mm de diámetro interno, de 1 mm o más de longitud y están fabricadas de vidrio o acero inoxidable (Burtis & Bruns, 2015).

2.10.1.4. Temperatura del horno de la cromatografía de gases (GC).

La GC requiere un control cuidadoso de las temperaturas de columna, inyector y detector.

La temperatura de la columna se controla colocando la columna en un horno o directamente proporcionando calentamiento resistivo. Las temperaturas del

inyector y del detector generalmente están controladas por calentadores resistivos (Burtis & Bruns, 2015).

La temperatura de la columna se mantiene constante (operación isotérmica) durante el proceso cromatográfico o varía en función del tiempo (operación con temperatura programada o con gradiente de temperatura), la programación de temperatura, los analitos más volátiles eluyen primero, seguidos por aquellos con puntos de ebullición altos (Burtis & Bruns, 2015).

2.10.1.5. Detectores para la cromatografía de gases (GC)

Algunos Detectores se han utilizado una variedad de detectores para GC; uno de ellos es la espectrometría de masas (MS).

2.10.2. Espectrometría de masa (MS)

Es una poderosa técnica analítica cualitativa y cuantitativa que se utiliza para medir una amplia variedad de analitos clínicamente relevantes, cuando la MS se combina con cromatógrafos de gases o líquidos, los analizadores resultantes tienen capacidades analíticas ampliadas y aplicaciones clínicas,(Burtis & Bruns, 2015).

Un espectrómetro de masas es un instrumento analítico que primero ioniza una molécula objetivo y luego separa y mide la relación masa-carga (m/z) de la molécula. El es el proceso mediante el cual se identifica una mezcla de especies iónicas de acuerdo con las relaciones m/z de los iones (Burtis & Bruns, 2015).

2.11. Cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS)

Cuando se interactúa con un cromatógrafo de gases con el espectrómetro de masas proporciona información estructural y/o detección altamente específica de analitos individuales a medida que eluyen de una columna de cromatografía (Burtis & Bruns, 2015).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLOGÍCO

3.1. Ubicación de la investigación

- **Localización de la investigación**

La investigación fue realizada en el área de microbiología del Laboratorio General de Ciencias Agropecuaria, Recursos Naturales y del Ambiente, perteneciente a la Universidad Estatal de Bolívar, ubicado en la provincia de Bolívar, cantón Guaranda, en la vía a San Simón km $1^{1/2}$.

- **Situación geográfica y edafoclimática**

Parámetro	**Localidad**
Altitud	2608.00 m
Latitud	-1.614378°
Longitud	-78.998339°
T° máxima	19 º C
T° mínima	10 º C
Precipitación media anual	1619 mm^3
Humedad relativa (%)	72%

Fuente: (INAMHI, 2023).

- **Zona de vida.**

Leslie Holdridge sistematizó al cantón Guaranda como formación Bosque Húmedo Montano Bajo (B.h.m.b) (Holdridge, 1967).

3.2. Metodología

3.2.1. Material en estudio

- Extracto etanólico del diente de león
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*

3.2.2. Factores en estudio

Factor A: tiempo de maceración del extracto etanólico

- A1: macerado por 1 día.
- A2: macerado por 2 días.
- A3: macerado por 4 días.
- A4: macerado por 6 días.

Factor B: aislados bacterianos

- B1*: Escherichia coli*
- B2*: Stahylococcus aureus*

3.2.3. Tratamientos

Tabla 3.

Tratamientos en estudio de la interacción de los factores A x B.

Trata.	Descripción
T0	Discos de antibiótico + aislados bacterianos
T1	Extracto etanólico del diente de león macerado por 1 día + *E. coli*
T2	Extracto etanólico del diente de león macerado por 2 días + *E. coli*
T3	Extracto etanólico del diente de león macerado por 4 días + *E. coli*
T4	Extracto etanólico del diente de león macerado por 6 días + *E. coli*
T5	Extracto etanólico del diente de león macerado por 1 día + *S. aureus*
T6	Extracto etanólico del diente de león macerado por 2 días + *S. aureus*
T7	Extracto etanólico del diente de león macerado por 4 días + *S. aureus*
T8	Extracto etanólico del diente de león macerado por 6 días + *S. aureus*

Tabla 4.

Características numéricas del diseño.

# de tratamientos	9
# de repeticiones	6
Tamaño de la unidad experimental	100 µL
# de aislados totales (2 Cepas)	2
# total de análisis	108

3.2.4. Tipo de diseño experimental

- Se desarrolló el análisis de los resultados mediante un diseño de bloques completamente al azar (DBCA).
- Análisis de Tukey al 5%, como comparación múltiple de los promedios de los tratamientos planteados.

Tabla 5.

Fuentes de variación DBCA.

Fue. Var.	**G. L (For)**	**G. L**
Tra.	t-1	8
Bloque	r-1	11
Error	(t-1) (r-1)	88
Total	rt (-1)	107

3.2.5. Manejo de la investigación

Preparación del Diente de león: El proceso experimental inició con la obtención del material vegetal, el cual se lavó y se secó al ambiente por 24 horas, posteriormente transcurrido dicho tiempo, se procedió al picado de la porción foliar y flores del *Taraxacum officinale*, en partículas con 1 cm, una vez obtenido este material se pesó y registró.

Obtención del extracto etanólico: Se pesaron 300 gramos de material vegetal, y se sumergieron en 300 mL de etanol al 96% por un periodo de 1, 2, 4 y 6 días respectivamente para su proceso de macerado, esta preparación se agitó dos veces por día, una vez trascurrido este tiempo designado de maceración, se sometió a filtración por vacío, con la ayuda de papel filtro Whatman # 4 y se envasó con una concentración del 100%.

Habilitación de las cepas bacterianas: Se realizó mediante la preparación y utilización de agares selectivos, los cuales permitieron determinar con mayor certeza la especie bacteriana requerida para el estudio, para reanimar *Escherichia coli* se utilizó el Agar MacConkey, y para *Staphylococcus aureus* se utilizó el agar Salt Manitol.

Depuración de las bacterias en estudio: Las bacterias en estudio fueron purificadas mediante la técnica de agotamiento de gota y por triple estría, logrando separar por arrastre las bacterias contaminante u oportunistas, este procedimiento permitió conseguir cultivos puros de *E. coli* y *S. aureus*.

Siembra bacteriana pre-antibiograma: A partir de los cultivos purificados de las bacterias en estudio se hicieron resiembras en el Agar Base Sangre (Difco, Lot. 0237250), esta técnica se realizó con el fin evitar interferencias en el alcance de la escala MacFarland al 0.5% por cepas coloreadas o pigmentadas producto de la coloración adquirida en los cultivos específicos.

Ajuste de la población bacteriana: Se colocó 1 ml de solución salina estéril, donde se suspendieron algunas colonias de las cepas bacterianas estudiadas de forma individual, mediante movimientos vorticales se logró la homogenización entre el agua y las colonias bacterianas, la misma que fue comparada con el tubo de muestra de MacFarland 0.5 para determinar una población de $1x10^8$ ufc/mL requerido para el fitoantibiograma.

Preparación de los discos de antibiograma: Los extractos etanólicos del diente de león con tiempos de macerado de 1, 2, 4 y 6 días, donde se empacaron en microtubos Eppendorf de 1.0 mL, donde se sumergieron los discos de papel en blanco, con la finalidad de concentrar la cantidad de los extractos requeridas para el estudio de inhibición.

Actividad antibacteriana: Se ejecutó mediante el técnica de Kirby Bauer, para es procediciemto es importante la suspensión bacteriana realizada previamente, ya que se sumergió en esta un hisopo estéril el mismo que permitió inocular sobre la superficie del Agar Müeller Hinton, para la prueba de susceptibilidad, una vez inoculada la caja, se procedió a colocar los discos impregnados de la concentración del extracto vegetal correspondiente, con una distancia de 20-30 mm entre disco, finalmente se aseguró la caja e incubó a 37° C/24 horas.

Medida de inhibición: Transcurrido el periodo de incubación se midió con un pie de rey y se estimó la medida del limite al extremo de la zona de inhibición, cubriendo su diámetro total, de este valor se restaron 6 mm correspondientes a la medida del tamaño del disco utilizado, este valor permitió categorizar la actividad antibacteriana.

Medición de los agregados volátiles: El macerado de mayor tiempo (6 días) fue sometido al análisis de cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masa (GC-MS), permitió identificar los agregados volátiles en el extracto, para las cual se siguió las siguientes pautas;

- Se utilizó un cromatógrafo GC (agilent technologies 7890A) con un detector MSD (agilent technologies 5977A), con una columna capilar HP-5MS (30 m * 0.25mm * 0.25µm), se estableció el siguiente método cromatográfico;
- Temperatura del inyector: 250°C
- Gas portador: Helio a un flujo de 1 mL/min.
- Tipo de inyección: Splitless.
- Configuración térmica: Temperatura de horno 60°C/3 min., se subió de 60 °C a 110 °C con base de 2°C/min, posteriormente la temperatura se incrementó de 110°C a 150°C a razón de 10°C/min, a continuación, la temperatura se incrementó de 150°C a 200°C a razón de 2°C/min por 3 min.
- T° del detector: 280°C.
- Tiempo total de corrida: 60 min.
- La identificación de compuestos se hizo comparando con NIST14. L.

3.2.6. Métodos de evaluación

Análisis inhibitorio: Se evaluó las medidas de las zonas de inhibición obtenidas por interacción tratamiento designado y la cepa bacteriana en estudio, a las medidas que se obtuvieron se le aplicó el diseño estadístico para observar la significancia entre los tratamientos y repeticiones.

Susceptibilidad bacteriana: se medió los halos de inhibición, cuyas medidas fueron tomadas como dato para la categorización de la susceptibilidad que posee la cepa bacteriana en estudio, considerando que para su efecto se tomó en cuenta la escala de susceptibilidad y se consideraron sensible, las medidas de halos > 8 mm de diámetro (S) y resistentes halos ≤ 8 mm de diámetro (R).

Porcentaje inhibitorio: se midió la capacidad de cada tratamiento en experimentación de inhibir a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, se realizó la estimación matemática con la siguiente fórmula postulada por Pabón *et al.* (2013), y los criterios interpretativos de Ramírez & Días (2007) que manifiestan que un efecto antibacteriano es con evidencias de porcentajes de inhibición > 70%, intermediamente desde los 50% - 70% y una actividad antibacteriana baja cuando es < 50%.

$$\% \textbf{ de inhibición} = \frac{\textbf{DT - DC-}}{\textbf{DC+}} * 100$$

Donde:

DT: Diámetro de la zona de inhibición

DC-: Diámetro de la zona de inhibición del testigo

DC+: Diámetro del halo de inhibición del tratamiento positivo

Compuestos volátiles: se efectuará mediante el registro de los compuestos volátiles encontrados en el extracto etanólico del diente de león del macerado, metodológicamente se realizó con la técnica de cromatografía de gases con espectrometría de masa (GS-MS).

Comparación bibliografía de los compuestos volátiles: Los compuestos volátiles de la GC-MS fueron comparados con investigación donde utilizaron al diente de

león como experimentación *in vitro*, evaluando la composición fitoquímica como la actividad antibacteriana que posee dicha planta.

3.2.7. Análisis de datos

Los resultados del antibiograma fueron analizados mediante el paquete estadísticos SAS ver. 9.4, en donde se midió la interacción del extracto etanólico macerados por 1, 2, 4 y 6 días frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.1. Análisis inhibitorios del macerado del diente de león contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Tabla 6.

Análisis de varianza del efecto del extracto etanólico del macerado de diente de león contra E. coli y S. aureus.

F. Var.	Gra. Lib.	S. C.	C. M	Valor F.	Pro. F
Tratamientos	8	2744.81	343.10	262.43	<.0001
Repetición	5	6.370	1.27	0.97	0.4451
Error	40	52.29	1.30	**Coeficiente de variación:**	
Total	53	2803.48		15.28%	**R^2:** 0.98

El análisis de la varianza del DBCA determinó diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos, estipulando que el tiempo de maceración del extracto etanólico del diente de león posee actividad antibacteriana, propiciándole la inhibiendo de *E. coli* y *S. aureus*, a nivel de las repeticiones se evidencio que no presento diferencias estadísticas (NS), es decir que el comportamiento de las bacterias frentes los diferentes macerados es el mismo.

El efecto de los tratamientos sobre las bacterias en estudio consiguió una variación aceptable con un 15.28%, demostrándonos mínima variabilidad o dispersión entre los datos obtenidos del antibiograma del extracto etanólico de diferentes tiempos de maceración frente a los patógenas en estudio.

El R^2, nos proporciona que el tiempo de maceración influye en un 98% sobre las medias de los halos de inhibición, es decir que en el estudio del antibiograma los resultados de la zona de inhibición estuvieron bajo influencia de los componentes antimicrobianos del extracto etanólico en estudio.

Tabla 7.

Comparación múltiple con Tukey de las medias de los tratamientos

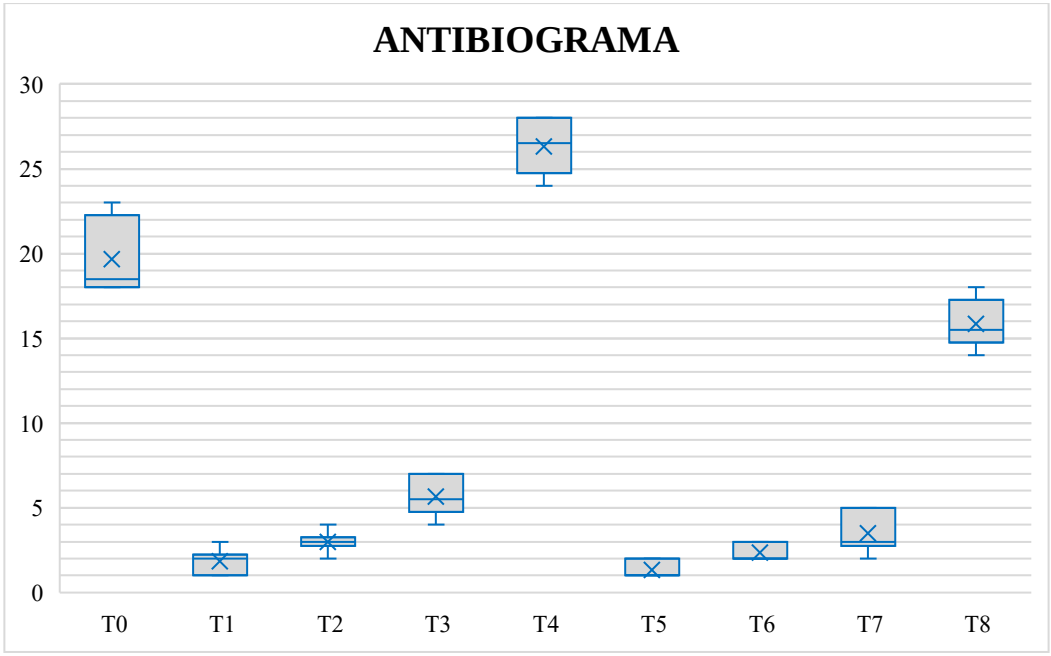
Tratamientos	**Media**	**Rango**		
T4 (Macerado de 6 días + *E. coli*)	20.50	A		
T0 (Testigo)	19.67	A		
T8 (Macerado de 6 días + *S. aureus*)	9.50		B	
T3 (Macerado de 4 días + *E. coli*)	5.67		C	
T7 (Macerado de 4 días + *S. aureus*)	3.50		D	
T2 (Macerado de 2días + *E. coli*)	3.00		D	E
T6 (Macerado de 2 días + *S. aureus*)	2.33		D	E
T1(Macerado de 1 días + *E. coli*)	1.83		D	E
T5 (Macerado de 1 días + *S. aureus*)	1.33		D	E

La comparación múltiple de Tukey nos manifiesta que el T4 (macerado de 6 días versus *E. coli*) y T0 (disco de antibiótico) son estadísticamente iguales, sin embargo, numéricamente el T4 ostentó la mayor área de inhibición con un promedio de 20.50 mm, siguiéndole el T0 con un promedio de 19.67 milímetros. Sin embargo, el T8 (macerado de 6 días frente a *S. aureus*) y el T3 (macerado de 4 días frente *E. coli*) se manifestaron como diferentes estadísticamente, respecto a los otros tratamientos propuestos, con un área de 9.50 milímetros y 5.67 milímetros en la zona de inhibición respectivamente.

Los T7 (macerado de 4 días frente a *S. aureus*), T1 (macerado de 1 día frente *E. coli*), T2 (macerado de 2 días frente *E. coli*), T5 (macerado de 1 día frente a *S. aureus*) y T6 (macerado de 2 días frente a *S. aureus*) en estudio expresaron igualdades estadísticas, con valores promedios mas bajos en el área de inhibición del halo, con un promedio de 3.50 milímetros, 1.83 milímetros, 3.00 milímetros, 1.33 milímetros y 2.33 milímetros respectivamente. Estos resultados demuestran que el extracto etanólico del diente de león macerado por 6 días supera el efecto inhibitorio del tratamiento testigo positivos (T0; oxitetraciclina) frente a *E. coli*, de igual formar posee actividad antimicrobiana para impedir el crecimiento de *S. aureus*.

Figura 1.

Diagrama de cajas y bigotes del antibiograma de los tratamientos propuestos en la investigación



Babirye & Sheu (2024) en la investigación del estudio *in vitro* de la actividad antimicrobiana de la raíz de *Taraxacum officinale* macerado por un tiempo de 6 días versus *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina, obtuvieron un promedio 20.54 milímetros en el halo inhibitorio.

Narkey *et al*. (2022) probaron la actividad antibacteriana *in vitro* de las hojas de *Taraxacum officinale*, donde realizaron un macerado etanólico por un tiempo de maceración de 8 días, en el antibiograma de *E. coli* mediante la técnica de difusión de disco obtuvieron un promedio de 15 milímetros en el área de inhibición.

Comparativamente los resultados de la investigación son disímiles a los obtenidos por las investigaciones antes citadas, ya que cuyos valores en las áreas de inhibición encontrados tanto con *S. aureus* como con *E. coli*, son mayores respecto a las medidas de las zonas de inhibición encontradas, ya que en la presente investigación el mayor promedio encontrado fue en la inhibición de *E. coli,* utilizando macerado de 6 días y con *S. aureus* el área de inhibición fue menor a la encontrada por el autor citado.

4.1.2. Estudio de la susceptibilidad de *Escherichia coli* versus al extracto etanólico del diente de león.

Tabla 8.

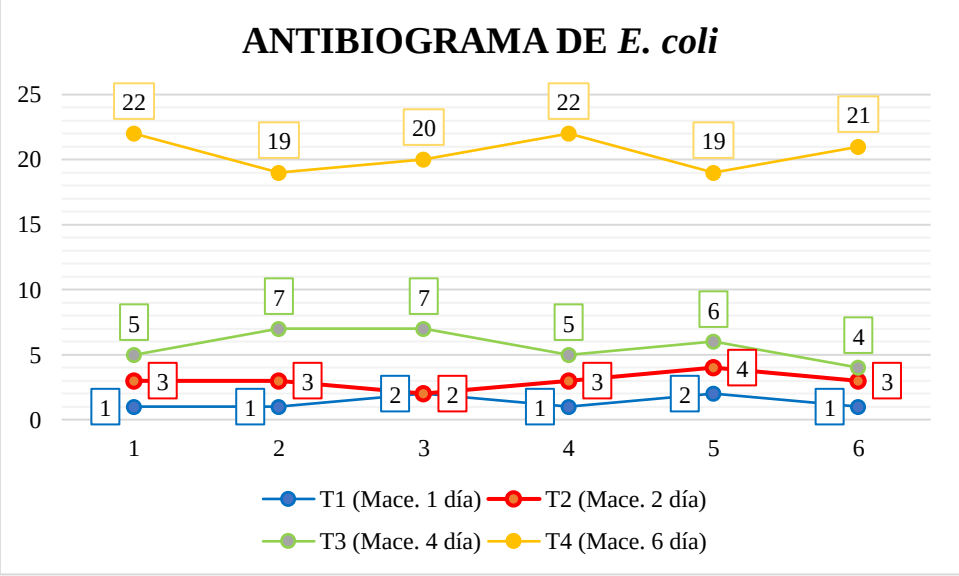
Estudio de la suscetibilidad de Escherichia coli versus al extracto etanólico del diente de león.

T1 (Mace. 1 día)		T2 (Mace. 2 día)		T3 (Mace. 4 día)		T4 (Mace. 6 día)	
2	R	3	R	5	R	22	S
1	R	3	R	7	R	19	S
3	R	2	R	7	R	20	S
2	R	3	R	5	R	22	S
1	R	4	R	6	R	19	S
2	R	3	R	4	R	21	S

El extracto etanólico del diente de león, macerado por diferentes tiempos exhibió diversas medidas en la zona de inhibición, donde los T1, T2 y T3 presentaron halos < 8 milímetros, evidenciando que *E. coli* es resistente a los tiempos de maceración de 1, 2 y 4 días, sin embargo, en el T4 obtuvo los halos de inhibición superaron los 20 milímetros de halo inhibitorio.

Figura 2.

Resultados del antibiograma del extracto etanólico del diente de león contra Escherichia coli.



Yousif *et al*. (2020) probaron la actividad antibacteriana de *Taraxacum officinale*, donde aplicaron la técnica Kirby Bauer e implementaron la concentraciones de 1000, 500, 250 y 125 µg/mL de extracto versus *Escherichia coli*, en este ensayo obtuvieron áreas de 20, 12, 8 y 11 milímetros respectivamente. Estos resultados son atribuibles a la gran cantidad de terpenos y alcaloides de las hojas y raíces del diente de león, por lo que puede ser considerado como una alternativa para amenorar la resistencia antimicrobiana de la bacteria en estudio.

Comparativamente son resultados iguales a los obtenidos en la presente investigación, no obstante, el tiempo de maceración influyó en las medidas inhibitorias y en cantidad de componentes bioactivos presentes en cada extracto utilizado.

4.1.3. Estudio de la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* versus al extracto etanólico del diente de león.

Tabla 9.

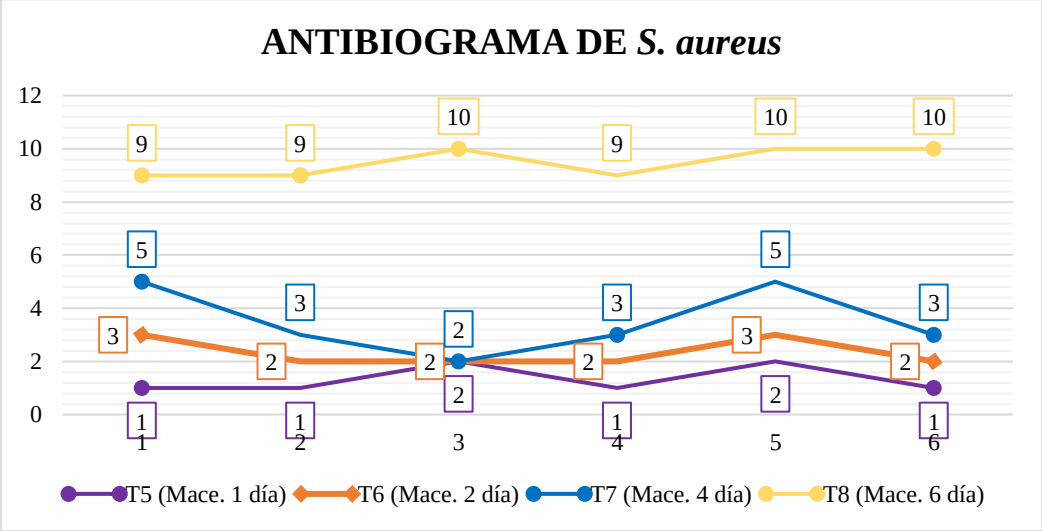
Estudio de la susceptibilidad de S. aureus frente al extracto etanólico del diente de león.

T5 (Mace. 1 día)		T6 (Mace. 2 día)		T7 (Mace. 4 día)		T8 (Mace. 6 día)	
1	R	3	R	5	R	9	S
1	R	2	R	3	R	9	S
2	R	2	R	2	R	10	S
1	R	2	R	3	R	9	S
2	R	3	R	5	R	10	S
1	R	2	R	3	R	10	S

El extracto etanólico de *Taraxacum officinale* de diferentes tiempos de maceración exhibió diversas medidas en la zona de inhibición de *S. aureus*, donde los T5, T6 y T7 presentaron halos < 8 milímetros, ostentando resistencia a los periodos de maceración de 1, 2 y 4 días en el antibiograma, sin embargo, el T8 determinó halos de inhibición superior a los 8 milímetros, justificado por las medidas de la zona de inhibición de dicho macerado se postula que posee actividad antibacteriana ya que inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

Figura 3.

Resultados del antibiograma del extracto etanólico del diente de león frente a Staphylococcus aureus.



Yousif *et al*. (2020) probaron la actividad antimicrobiana de *Taraxacum officinale*, donde aplicaron la técnica de Kirby Bauer e implementaron la inhibición con concentraciones de 1000, 500, 250 y 125 µg/mL de extracto versus *Staphylococcus aureus*, en este ensayo obtuvieron áreas de 23, 12, 12 y 4 milímetros respectivamente. Estos resultados son atribuibles a la gran cantidad de terpenos y alcaloides en las raíces y hojas del diente de león, por lo que puede ser considerado como una alternativa para amenorar la resistencia antimicrobiana de la bacteria en estudio.

Comparativamente los valores postulados por Yousif *et al*. (2020), son superiores a los encontrados en la presente investigación, presumiblemente estas diferencias se atribuye a las concentraciones de compuestos volátiles con propiedades antimicrobianas de investigación a investigación, otro factor influyente sobre dicha expresión podrían ser las condiciones agroecológicas de la especie vegetal.

El extracto etanólico del diente de león macerado por un periodo de 6 días ostentó actividad inhibitoria del desarrollo de *E. coli* y *S. aureus*, microorganismos que en investigaciones realizadas en los laboratorios de FCARNA mostraron poseer mecanismos o patrones de resistencia a los antibióticos usados en medicina veterinaria para el tratamiento de las mastitis.

4.1.4. Estudio del porcentaje inhibitorio de los tratamientos versus *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Tabla 10.

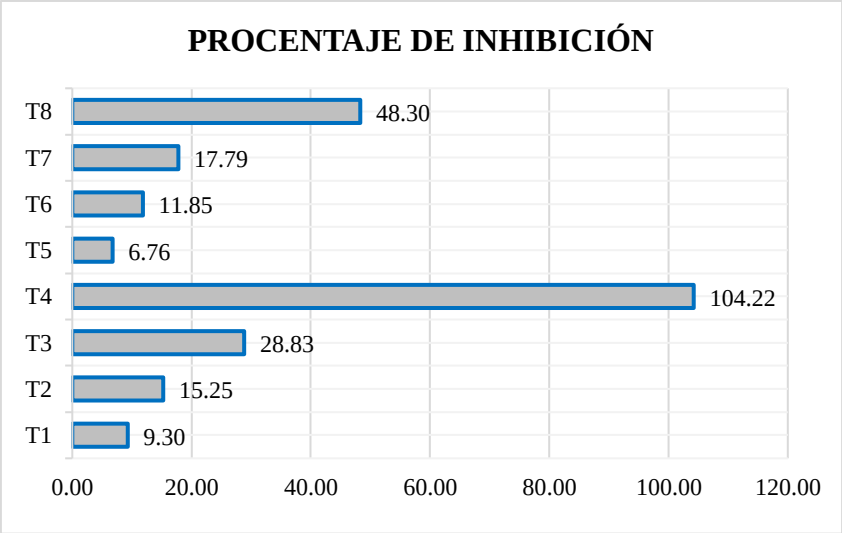
Porcentaje inhibitorio de los tratamientos propuestos versus Escherichia coli y Staphylococcus aureus.

Tratamientos	% inhibitorio
T1: macerado por 1 día + *E. coli*	9.30
T2: macerado por 2 días + *E. coli*	15.25
T3: macerado por 4 días + *E. coli*	28.83
T4: macerado por 6 días + *E. coli*	104.22
T5: macerado por 1 día + *S. aureus*	6.76
T6: macerado por 2 días + *S. aureus*	11.85
T7: macerado por 4 días + *S. aureus*	17.79
T8: macerado por 6 días + *S. aureus*	48.30

De acuerdo con los criterios de interpretación establecidos podemos demostrar que solo el T4 obtuvo un 104.22% de inhibición, considerando como una alta actividad antibacteriana, mientras que los tratamientos demostraron tener una baja actividad antibacteriana contras las bacterias en estudio.

Figura 4.

Porcentaje inhibitorio de los tratamientos propuestos frente a Escherichia coli y Staphylococcus aureus.

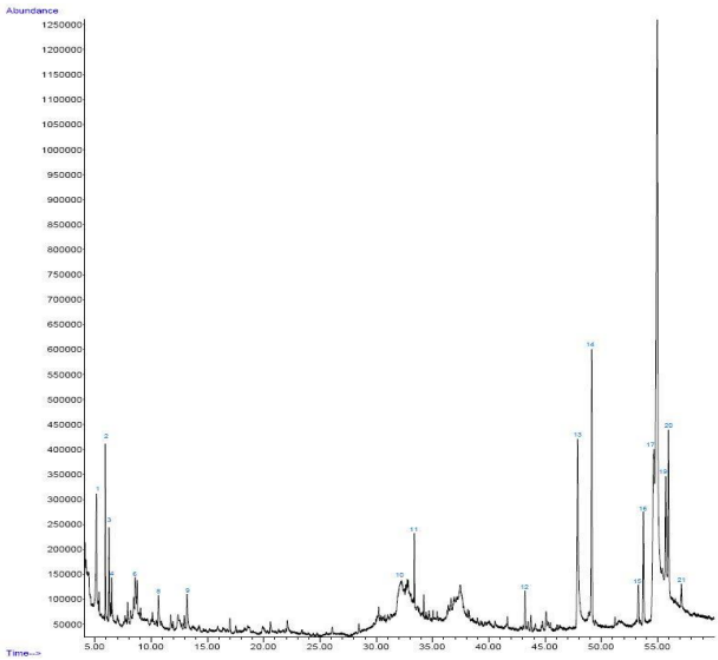


Ayala (2019) su investigación sobre la efectividad antimicrobiana del extracto etanólico del *Taraxacum officinale* (diente de león) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, a la concentración del 100% obtuvo un 73.86% de inhibición contra dicha bacteria, considerando que tiene una alta actividad antibacteriana. Comparativamente son resultados diferentes a los reportados en la presente investigación debido a la fuente de aislamiento patológico de cada investigación, considerando además sus características intrínsecas.

4.1.5. Determinación de compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del extracto etanólico del diente de león (*Taraxacum officinale*).

Figura 5.

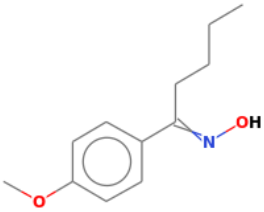
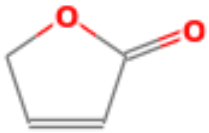
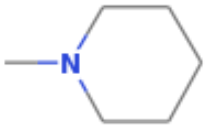
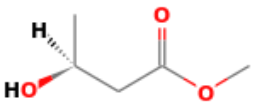
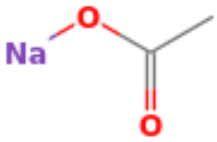
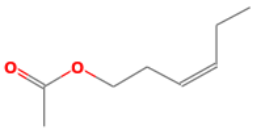
Cromatograma de los compuestos volátiles encontrado por medio de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del extracto etanólico del diente de león.

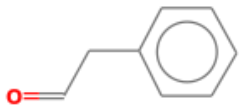
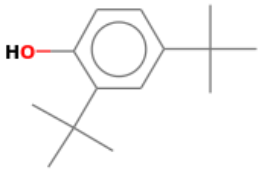
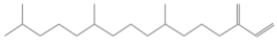
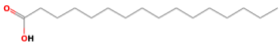
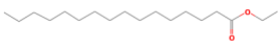
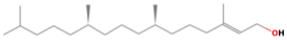
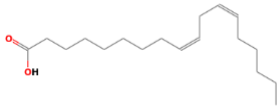
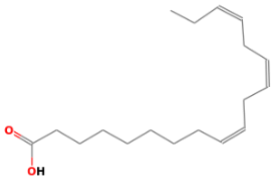
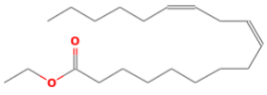
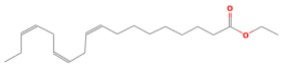
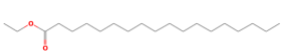


Por medio de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se logró identificar un total de 21 compuestos volátiles en 60 minutos de identificación, a partir del diente de león macerado por 6 días cuyas matrices vegetales utilizadas fueron las hojas, flores y raíces de plantas silvestres, cosechadas en la provincia Bolívar.

Tabla 11.

Determinación de compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del extracto etanólico del diente de león (Taraxacum officinale).

N⁰	Compuesto	Fórmula	T. ret (min)	Área (%)
1	3-Hexeno		5.151	3.77
2	Etanona		5.930	2.27
3	Furanone		6.261	2.24
4	N-metilpiperidina		6.484	0.96
5	Ácido butanóico		8.438	0.55
6	Ácido acético		8.581	1.42
7	Acetato de cis-3-hexenilo		8.752	0.77

8	Bencenoacetaldehído		10.643	1.02
9	Pentanal		13.189	1.30
10	1-Tetradecanamina		32.240	2.35
11	2,4-Di-terc-butilfenol		33.374	1.31
12	Neofitadieno		43.217	0.97
13	Ácido palmítico		47.897	9.26
14	Palmitato de etilo		49.113	8.94
15	Heneicosano		53.281	1.44
16	Fitol		53.723	3.61
17	Ácido linoleico		54.664	10.61
18	Ácido linolénico		54.953	37.46
19	Éster etílico del ácido linoleico		55.706	3.90
20	Octadecatrienoato de etilo		55.958	5.06
21	Éster etílico del ácido octadecanoico		57.110	0.78

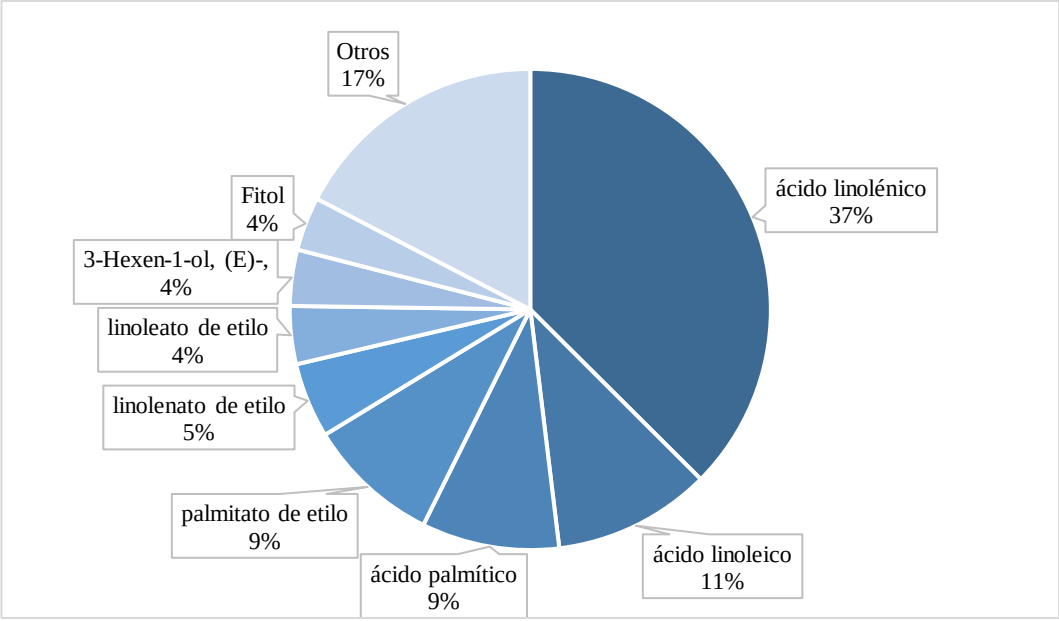
Nota. Las formular de los compuestos volátiles identificados con en la librería NIST.

El compuesto que se identificó con mayor área fue el ácido linolénico con una proporcionalidad de 37.46%, siguiéndole el ácido linoleico el que se encontró en un 10.61%, continuando el ácido palmítico, el cual se encontró en un 9.26%, posteriormente se identificó al palmitato de etilo encontrado en un 8.94% y finalmente se evidenció al linolenato de etilo determinado en un 5.06%.

Los compuestos identificados en menor proporción fueron; linoleato de etilo en un 3.90%, siguiéndole el 3-Hexeno, en un 3.77%, también se identificó al Fitol en un 3.61%, finalmente los otros compuestos representan el 17.38%.

Figura 6.

Compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del extracto etanólico del diente de león (Taraxacum officinale).



Sasikala *et al*. (2019) estudiaron el perfil fitoquímico mediante el análisis GC-MS de los compuestos presentes en las de hojas de *Taraxacum officinale*, y lograron identificar 10 compuestos volátiles, revelando la presencia de feno, flavonoides alcaloides, glucósidos cardíacos y antraquinonas.

Fan *et al*. (2023) en su investigación sobre las propiedades medicinales del diente de león menciona que los efectos farmacológicos, podría ejercer potentes actividades antibacterianas, antioxidantes, anticancerígenas y antirreumáticas de los extractos de diferentes partes de la planta, lo que proporcionó una fuerte

evidencia con respecto al uso medicinal de la planta en cuestión como agente antibacteriano, adicionalmente mencionan que las nuevas tecnologías de fármacos se pueden combinar con plantas medicinales, como el diente de león, para lograr mejores resultados en el tratamiento.

En base a nuestros resultados sugerimos que el extractos del diente de león, con maceración de al menos 6 días posee propiedades antibacterianas en las pruebas in vitro de susceptibilidad fitofarmacológica de dos géneros de importancia clínica en las mastitis bovina, además, mencionamos que en base al perfil fitoquímico este puede expresar otras bioactividades a nivel celular ya que es rico en ácidos grasos poliinsaturados que pueden propiciar efectos beneficiosos para el organismo.

4.1.6. Comparación bibliográfica de los compuestos volátiles identificados del extracto etanólico del diente de león.

Ivanov *et al*. (2024) identificaron los compuestos fitoquímico de las flores del diente de león, y encontraron que los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga se encontraban en mayor medida proporcional superando un 50% más que otros compuestos de otra naturaleza química, siendo el ácido linolénico, ácido linoleico, ácido palmítico y el ácido araquídico los predominantes, además, informaron que el diente de león es rico en alcoholes grasos como el fitol y linolenato de etilo.

Díaz *et al*. (2018) investigaron el aislamiento e identificación de compuestos a partir de extractos vegetales del Diente de león (*Taraxacum officinale)* como fuente potencial de agentes antibacterianos, en su ensayo aislaron diversos compuestos químicos de las hojas, donde predominaban principalmente compuestos fenólicos, terpenos, taninos, flavonoides, alcaloides y/o proteínas. Además, el extracto de las hojas inhibió notablemente bacterias Grampositivas con una CMI de 200 g/mL, asociando que dichos compuestos tienen un efecto activo sobre la membrana de las células bacterianas, lo que sugiere que el diente de león tenía un potencial antibacteriano prometedor.

Fan *et al*. (2023) en su revisión de los componentes químicos y los efectos farmacológicos de los extractos de *T. officinale,* concluyeron que con la creciente resistencia a los antimicrobianos en los patógenos de la mastitis de vacas, los extractos vegetales son una alternativa segura para potencializar los tratamientos

medicamentosos, ya que muestra tener efectos antibacterianos sobre los principales patógenos asociados a esta patología como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus agalactiae*. Considerando que la actividad antibacteriana de los extractos acuosos y etanólicos de la planta en cuestión contra *E. coli* fue mayor que contra otras bacterias.

Como parte comparativa mencionamos que la mayor parte de los compuestos identificados en el macerado del diente de león macerado por 6 días en la presente investigación son ácidos grasos de cadena larga y alcoholes grasos, además, se identificó compuestos fenólicos, terpenos, lactonas (furanone), lo que nos hace considerar al diente de león (*Taraxacum officinale*) una alternativa terapéutica rica en compuestos fitofarmacológicos con actividad antibacteriana y antioxidantes, lo que podría ayudar a reducir el uso indiscriminado de antibióticos.

Las bacterias estudiadas en la presente investigación fueron aisladas de vacas con mastitis clínica, estos microorganismos poseen estudios previos donde se ha demostrado que poseen mecanismos resistencias mediados por la producción de enzimas evidenciados a partir de la identificación de patrones fenotípicos de interacción y antagonismo antibiótico, como es el caso de *E. coli* productoras betalactamasas y de *S. aureus* resistente a la meticilina, por lo cual, podemos considerar al diente de león como una alternativa terapéutica para mitigar los fallos terapéuticos en animales de producción.

4.2. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

Por medio de los resultados obtenidos de los análisis del diseño estadístico, postulamos que existió diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos, manifiesta que el tiempo de maceración influyó sobre las zonas de la zona de inhibición, además, como evidencia sólida sustentada en las pruebas de susceptibilidad, titulamos que el extracto etanólico del diente de león macerado por 6 días propició halos > 8 milímetros en las pruebas de susceptibilidad, de tal modo, refutamos la hipótesis nula y admitimos como aceptable la hipótesis alterna, la misma que nos menciona que; Existe actividad antimicrobiana del extracto etanólico del diente de león frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus.*

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Mediante la caracterización del extracto etanólico de diente de león (*Taraxacum officinale*) con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), se identificó que el extracto con un periodo de macerado de 6 días contenía una elevada cantidad de ácidos grasos de cadena larga, alcoholes grasos y una cantidad menor de terpenos, lactonas y flavonoides.

Mediante le técnica de Kirby Bauer se comprobó que el T4 (macerado etanólico de 6 días versus *Escherichia coli*) y T8 (macerado etanólico de 6 días versus *Staphylococcus aureus*) mostraron halos de inhibición > 8 milímetros, con evidencia que el T4 superó el diámetro de la zona de inhibición en relación con el T0 (oxitetraciclina), adicionalmente, los otros tratamientos con tiempos de maceración de 1, 2 y 4 días versus los microorganismos en estudio exhibieron halos <8 milímetros, considerando una actividad antibacteriana nula.

En concordancia con las comparaciones bibliográficas en relación a los compuestos volátiles presentes en el macerado etanólico del diente de león de 6 días, se concluyó que dicho extracto es una valiosa alternativa terapéutica para inhibir el crecimiento de bacterias con mecanismos resistencia a los antibióticos.

5.2. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas *in vitro* de la interacción sinérgica entre el macerado etanólico del *Taraxacum officinale* y los antibióticos más usados en medicina veterinaria mediante la técnica de antibiograma, en bacterias resistentes a los antimicrobianos.

Usar del macerado etanólico de diente de león de 6 días para inhibir el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*.

Realizar pruebas de antibiograma mediante difusión de disco del macerado etanólico del diente de león de 6 días con otros géneros bacterianos.

Estudiar los efectos in vivo de un liofilizado de *Taraxacum officinale,* sobre parámetros productivos e interacción citotóxica en animales de laboratorio y modelos murinos.

Estudiar la actividad del macerado etanólico de diente de león mediante otras técnicas cromatográficas más específicas con fines investigativos.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, A. M., Juliana Mira, H., & Silvia, P. A. (2017). Tópicos en mastitis bovina: desde la etiología hasta algunas terapias alternativas. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 6(1), pag. 42.

Aguilar, G., & Alvares, D. (2019). *Mastitis bovina*. Editorial UTMACH. ISBN: 978-9942-24-131-3.

Aguirre, L. R. (2013). Características a seleccionar en bovinos tipo leche para las ganaderías de la Region Sur del Ecuador. *Centro de biotecnología*, 2(1), pag. 59-67.

Ajose, D., Opeyemi, B., Olatunde, T., Fri, J., Peter, K., Esther, O., Njie, C. (2022). Combating Bovine Mastitis in the Dairy Sector in an Era of Antimicrobial Resistance: Ethno-veterinary Medicinal Option as a Viable Alternative Approach. *Front. Vet. Sci*., 9, pag. 800322. Doi: https://doi.org/10.3389/fvets.2022.800322.

Algammal, A., Enany, M., Tarabili, R., Ghobashy, M., & Helmy, Y. (2020). Prevalence, Antimicrobial resistance profiles, Virulance and enterotoxins-determinant genes of MRSA Isolated From Subclinical Bovine Mastitis in Egypt. *Pathogens*, 9(5), pag. 362. Doi: https://doi.org/10.3390/pathogens9050362.

Amer, S., Gálvez, F., Fukuda, Y., Tada, C., Jimenez, L., Valle, W., & Nakai, Y. (2018). Prevalence and etiology of mastitis in dairy cattle in el Oro Province, Ecuador. *Journal of Veterinary Medical Sciences*, 80(6), pag. 861-868. Doi: 10.1292/jvms.17-0504.

Anmat. (2003). *Farmacopea Argentina* (7 Ed.) Anmat-Iname, 1(7), pag. 447-450.

Asadpour, R., Zangiband, P., Nofouz, K., & Saberivand, A. (2021). Differential expression of antioxidant genes during clinical mastitis of cow caused by Staphylococcus aureus and *Escherichia coli*. *Veterinarski arhiv*, 9(5), pag. 451-458. Doi: https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.1000.

Ayala, Jennifer. (2019). Efectividad antimicrobiana del extracto etanólico del *Taraxacum officinale* (diente de león) al 50% y 100% sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Tesis de pregrado. Universidad Central del Ecuador.

Babirye, A., & Sheu, R. (2024). In vitro study of the antibacterial activity of Taraxacum officinale root extracts against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteria. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 13(3), 97-102. Doi: https://doi.org/10.22271/phyto.2024.v13.i3b.14949.

Bhakat, C., Mahammad, A., Mandal, D., Mandal, A., Rai, A., Chatterjee, A., Dutta, T. (2020). Readily usable strategies to control mastitis for production augmentation in dairy cattle: A review. *Veterinary World*, 13(11), pag. 2364–2370. Doi: 10.14202/vetworld.2020.2364-2370.

Bianchi, R., Schwertz, C., Cecco, B., Panziera, W., Lorenzo, C., Heck, L., Lopes, B. (2019). Pathological and microbiological characterization of mastitis in dairy cows. *Tropical Animal Health and production*, 51, pag. 2057-2066. Doi: https://doi.org/10.1007/s11250-019-01907-0.

Bochniarz, M., Kocki, T., Dąbrowki, R., Szczubial, M., & Wladyslaw, W. (2018). Tryptophan, kynurenine, kynurenic acid concentrations and indoleamine 2,3-dioxygenase activity in serum and milk of dairy cows with subclinical mastitis caused by coagulase-negative *Staphylococci*. *Reproduction in domestic animals*, 53(6), pag. 1491-1497. Doi: https://doi.org/10.1111/rda.13299.

Boeris, M., Meglia, G., & Genero, A. (2016). Glándula mamaria y lactación. *A secreção do leite e sua composição*. 5, pag. 50.

Buldain, D. (2019). Alternativas Fitoterapéuticas para el tratamiento de infecciones mamarias. *Investigación en mastitis y salud mamaria*, 22-24. URL: http://hdl.handle.net/11336/180586.

Burtis, C., & Bruns, D. (2015). *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and molecular diagnostics.* Editorial Elsevier Saunders.

Carbellin, C. (2000). Fisiopatología de la lactancias y calidad de leche. En Anatomo-fisiología de la glándula mamaria. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de la Plata.

Cerón, T., Flores, P., & Gómez, V. (2019). Uso de las plantas medicinales del distrito de Quero, Jauja, Junin Región, Perú. *Ecologia Aplicada*, 18(1), pag. 11-20. Doi: http://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i1.1301.

Chanaluisa, U. J. (2019). Estandarización de la Rutina de Ordeño de Bovinos en las Unidades Productivas del Cantón Salcedo. Tesis de pregrado Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).

Chen, M., Zheng, S., Zeng, B., Huang, S., Zhao, J., Zhang, Y., Zhang, H. (2019). Cow-to-mouse fecal transplantations suggest intestinal microbiome as one cause of mastitis. *Microbiome*, 6, pag. 1-17. Doi: https://doi.org/10.1186/s40168-018-0578.

Cheng, J., Qu, W., Barkema, H., Nobrega, D., Gao, J., Liu, G., Han, B. (2019). Chinese dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 102(3), pag. 2416-2426. Doi: https://doi.org/10.3168/jds.2018-15135.

Cortes, H., Ruíz, L., & García, R. (2021). Características de conformación asociadas a producción y composición de la leche de vacas Holstein. *Abanico Veterinario*, 11, pag. 1-14. Doi: https://doi.org/10.21929/abavet2021.40.

Díaz, K., Espinoza, L., Madrid, A., Pizarro, L., & Chamy, R. (2018). Isolation and Identification of Compounds from Bioactive Extracts of *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg. (Dandelion) as a Potential Source of Antibacterial Agents. *Evidence -based complementary and alternative medicine*, 2018(1), pag. 2706417. Doi: https://doi.org/10.1155/2018/2706417.

Díaz, L., Gonzáles, A., Guzmán, M., Núñez, G, & Moreno, S. (2022). El orégano d elos géneros *Lippia* (vervenacea) y *Poliomintha* (Lamiaceae) en el estado de Nuevo León, México. *Polibotánica*, 1(50), 209-243. Doi: https://doi.org/10.18387/polibotanica.50.1.

Du., J., Wang, X., Luo, H., Wang, Y., Liu, X., & Zhou, X. (2018). Epidemiological investigation of non-albicans Candida species recovered from mycotic mastitis of cows in Yinchuan, Ningxia of China. *BMC Veterinary Research*, 14, pag. 251. Doi: https://doi.org/10.1186/s12917-018-1564-3.

Dueñas, C., Quintana, L., Quintero, I., Garcerant, I., Ramos, Y., Ramírez, A., Henao, L. (2021). Lectura interpretada de antibiograma: un enforque basado en preguntas. *Acta Colombiana de cuidado intensivo*, 21(3), pag. 252-262. Doi: https://doi.org/10.1016/j.acci.2020.09.006.

Duque, P., Velasco, J., Ceballos, A., Catalina, L., & Carmona, J. (2021). Intramammary treatment using allogeneic pure platelet-rich plasma in cows with subclinical mastitis caused by Gram-positive bacteria. Nature, 11 (23737), pag. 1.14. Doi: https://doi.org/10.1038/s41598-021-03067-4.

Duraffourd., D`hervicourt, L., & Lapraz, J. (1997). *Cuadernos de fitoterapia clínica*. Editorial Masson.

Ewida, R., & Hosary, A. (2020). Prevalence of enterotoxins and other virulence genes of *Staphylococcus aureus* caused subclinical mastitis in dairy cows. *Veterinary World*, 13(6), pag. 1193-1198. Doi: 10.14202/vetworld.2020.1193-1198.

Fan, M., Zhang, X., Song, H., & Zhang, Y. (2023). Dandelion (Taraxacum Genus): A Review of Chemical Constituents and Pharmacological Effects. Molecules, 28(13), 5022. Doi: https://doi.org/10.3390/molecules28135022.

Fernández, M. S. (2019). Evaluación del poder inhibitorio de extractos obtenidos de plantas medicinales sobre enterobacterias patógenas de importancia en Salud Pública. *Analecta Veterinaria*, 39(2), pag. 36-40. URL: https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/index.

Filoppo, F., G., M., Mancini, S., Pisseri, F., & Najar, B. (2021). Evaluation of the in vitro antibacterial activity of some essential oils and their blends against Staphylococcus spp. isolated from episodes of sheep mastitis. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali* 2021(32), pag. 407-416. Doi: https://doi.org/10.1007/s12210-021-00991-5.

Guo, M., Gao, Y., Xue, Y., Lui, Y., Zeng, X., Cheng, Y., Yan, Y. (2021). Bacteriophage Cocktails Protect Dairy Cows Against Mastitis Caused By Drug Resistant *Escherichia coli* Infection. *Front cell. Infec. Microbiol*, 11(690377), pag. 1-11. Doi: https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.690377.

Hoque, N., Rahman, S., Islam, T., Sultana, M., Crandall, K., & Hossain, A. (2022). Induction of mastitis by cow-to-mouse fecal and milk microbiota transplantation causes microbiome dysbiosis and genomic functional perturbation in mice. *Animal Microbiome*, 4(43), pag. 1- 23. Doi: https://doi.org/10.1186/s42523-022-00193-w.

Hu, G. W. (2017). Effects of aqueous extracts of Taraxacum Officinale on expression of tumor necrosis factor-alpha and intracellular adhesion molecule 1 in LPS-stimulated RMMVECs. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(38), pag. 1-9. Doi: 10.1186/s12906-016-1520-3.

Huamán, F., & Trauco, M. (2021). Efecto del extracto de plantas medicinales sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Sthaphylococcus aureus*. *Revista Cientifica UNTRM: Ciencias Naturales e ingeniería*, 3(3), pag. 31-35. Doi: http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v3i3.633.

Ivanov, I., Petkova, N., Tumbarskii, J., Dincheva, I., Badjakov, I., Denev, P., & Pavlov, A. (2018). GC-MS characterization of n-hexane soluble fraction from dandelion (*Taraxacum officinale* Weber ex FH Wigg.) aerial parts and its antioxidant and antimicrobial properties. *Zeitschrift Naturforshung C*, 73(2), pag. 41.47. Doi: https://doi.org/10.1515/znc-2017-0107.

Ivanov, I., Todorova, M., Petkova, N., & Dincheva, I. (2024). Non-polar phytochemical compounds from dandelion (*Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg.) flowers. *Bulgarian Chemical Communications*, 56(4), pag, 1-4. Doi: 10.34049/bcc.56.D.S2P49.

Kalińska, A., Wójcik, A., Slósarz, J., Kruziñska, B., Michalczuk, M., Jaworski, S., Golebiewski, M. (2018). Occurrence and aetiology of Staphylococcal mastitis a review. *Animal Science Papers and Reports*, 36(3), pag. 263-273.

Klibi, A., Maaroufi, A., Torres, C., & Jouini, A. (2018). Detection and characterization of methicillin-resistant and susceptible coagulase-negative staphylococci in milk from cows with clinical mastitis in Tunisia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(6), pag. 930. Doi: https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.07.026.

Lazo, V., Hernández, G., & Méndez, R. (2019). Systemic candidiasis in critical patients: risk predictors. *Horiz Med*, 18(1), pag. 75-85. URL: https://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/710.

Liabin, L., Xiuli, C., & Zeshi, C. (2019). Identification of Key Candidate Genes in Dairy Cow in Response to *Escherichia coli* Mastitis by Bioinformatical Analysis. *Front. Genet,* 10 (1251), pag. 1-9. Doi: https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01251.

Macas, M. (2019). Relación Del Volumen Aparente De La Ubre, Frente A La Cantidad De Leche Producida Por Vacas Holstein Mestizas, En La Provincia De Chimborazo. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo.

Martínez, G. A. (2017). Determinación del efecto de la suplementación con Se, Cu, Zn, y Cr, en el alimento balanceado suministrado en vacas lecheras, para reducir el número de células somáticas en la leche. Tesis de pregrado. Universidad de Guayaquil.

Martins, L., Barcelos, M., Roger, C., Anderson, K., Santos, M., & Gonçalves, L. (2020). Chronic subclinical mastitis reduces milk and components yield at the cow level. *Journal of dairy research*, 87(3), pag. 298-305. Doi: https://doi.org/10.1017/S0022029920000321.

Moncayo, C., Garzón, G., Bernal, J., González, J., & Gómez, D. (2022). Caracterización fitoquímica y actividad antimicrobiana del aceite esencial de diente de león (*Taraxacum officinale*) frente a microorganismos patógenos. *Conciencia Digital*, 5(2.1), pag. 69-79. Doi: https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v5i2.1.2155.

Murillo, N., & Gualán, Y. (2022). Actividad antimicrobiana de Taraxacum officinale sobre cepas bacterianas causantes de mastitis bovina. *Revista multidisciplinaria de posgrado,* 2(2), pag. 9-20. Doi: 10.26871/rmp.v2i2.1084.

Mushtaq, S., Manzoor, A., Shah, A., Ahmad, S., Hussain, A., Hassan, P., & Ali, M. (2018). Bovine mastitis: An appraisal of its alternative herbal cure. *Microbial Pathogenesis*, 114(1), pag. 357. Doi: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.024.

Narkey, L., Nyarko, E., Nyarko, G., Selorm, B., & Kumi, J. (2022). In vitro Antibacterial Activity of Taraxacum officinale Leaves Extract. *Herbal Medicines Journal*, 7(4), pag. 166-9. Doi: 10.22087/hmj.v7i4.980.

Nawel, Z. (2022). An overview on mastitis-associated *Escherichia coli*: pathogenicity, host immunity and the use of alternative therapies. Microbiological Research, 256, pag. 126960.

OMS, O. M. (2023). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Biblioteca de la OMS, pag. 15-17. ISBN 9789243506098.

Ovadje, P., Hamm, C., & Pandey, S. (2012). Efficient induction of extrinsic cell death by dandelion root extract in human chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) cells. *PloS One*, 7(2), pag. 1-10. Doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030604.

Pabón, L. C., Vanegas J, Rendón M R, R, S., & P., H. (2013). Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*., 18(1), pag. 57-70.

Palacios, M. (2013). *Texto digital de Farmacognosia y Fitoquímica*. In Escuela de Farmacia y Bioquímica, pag. 1, 4.

Pirola, S. (2017). Evaluación de la capacidad de persistencia en células epiteliales mamarias bovinas de cepas de *S. aureus* aislados de infecciones intramamarias transitorias y persistentes. *Ecuentro de Jovenes Investigadores*, pag. 1-4.

Ranasinghe, K., Deshapriya, C., Abeygunawardana, D., Rahularaj, R., & Dematawewa, B. (2021). Subclinical mastitis in dairy cows in major milk-producing areas of Sri Lanka: Prevalence, associated risk factors, and effects on reproduction. *Journal Of Dairy Science* 104(12), pag. 12900-12911. Doi: https://doi.org/10.3168/jds.2021-20223.

Restrepo, M., & Vargas, C. (2020). Relación entre forma del pezón y el recuento de células somáticas en una lechería en Viterbo, Caldas. Tesis de pregrado. Universidad Tecnológica de Pereira.

Rodríguez, P., Zarate, S., & Sánchez, L. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *Nova*, 15(27), pag. 119-129.

Rojas, P., Tello, F. L., Arias, M., & López, F. (2022). Evaluación de las características de producción y tipo en vacas Holstein. *Polo del conocimeinto*, 7(5), pag. 1722-1738. ISSN-e 2550-682X.

Roman, M., Rivera, C., Cardona, L., Gomez, D., Passaro, C., & Quiceno, J. (2020). Guia de extracción por fluidos super criticos: Fundamentos y aplicaciones. *SENNOVA*, 48.

Ruiz, G., Peña, R., & Remón, D. (2016). Mastitis bovina en cuba. *Revista de producción animal*, 28(2-3), pag. 39-50. ISSN 2224-7920.

Ruiz, M. (2020). Métodos físicos de separación, obtención de extractos e hidrodestilación. *Chemical Engineering Science*, 1(9), pag. 3.5.

Saeed, S., Yazid, K., Hashimy, H., Khadijah, S., Nordin, F., Nik, A., Kamaruzzaman, N. (2022). Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Subclinical Bovine Mastitis in East Coast Malaysia. *Animals*, 12(13), pag. 1680. Doi: https://doi.org/10.3390/ani12131680.

Saratale, R. G. (2018). Bio-fabrication of silver nanoparticles using the leaf extract of an ancient herbal medicine, dandelion (*Taraxacum officinale*), evaluation of their antioxidant, anticancer potential, and antimicrobial activity against phytopathogens. *Environmental Science and pollution Research*, 25, pag. 10392-10406. Doi: https://doi.org./10.1007/s11356-017-9581-5

Sasikala, P., Ganesan, S., Jayaseelan, T., Azhagumadhavan, S., Padma, M., Senthilkumar, S., & Mani, P. (2019). Phytochemicals and GC–MS analysis of bioactive compounds present in ethanolic leaves extract of *Taraxacum officinale* (L). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1), pag. 90-94. Doi: https://doi.org/10.22270/jddt.v9i1.2175.

Sharifi, S., Shahreza, M., Pakdel, A., Reecy, J., Ghadiri, N., Atashi, H., Ebrahimie, E. (2022). Systems Biology–Derived Genetic Signatures of Mastitis in Dairy Cattle: A New Avenue for Drug Repurposing. *Animals*, 12(1), pag. 29. Doi: https://doi.org/10.3390/ani12010029.

Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Gugjoo, M., Yato, M., Kumar, P. P., Chaicumpa, W. (2021). Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1), pag. 107-136. Doi: https://doi.org/10.1080/01652176.2021.1882713.

Tolentino, J., Salmerón, B., Gálvez, M., & Ramos, G. (2023). Actividad antioxidante y antimicrobiana del nurite (*Satureja macrostema*). Ciencia Latina revista cientifica multidisciplinar, 7(1), 425-44. Doi: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.4402.

Vezina, B., Harbi, H., Ramay, H., Soust, M., Moore, R., Olchowy, J., & Alawneh. (2021). Sequence characterisation and novel insights into bovine mastitis-associated *Streptococcus uberis* in dairy herds. *Scientific Reports*, 11(3046), pag. 1-6. Doi: https://doi.org/10.1038/s41598-021-82357-3.

Wente, N., Klocke, D., Paduch, H., Zhang, Y., Seeth, M., Zochegolob, V., Krõmker, V. (2019). Associations between *Streptococcus uberis* strains from the animal environment and clinical bovine mastitis cases. *Journal of dairy Science*, 102(10), pag. 9360-9369. Doi: https://doi.org/10.3168/jds.2019-16669.

Yapias, R. (2022). Diente de león (*Taraxacum officinale*) con propiedades medicinales: revisión sistemática. *Alpha centauri*, 3(1), pag 15-19. Doi: https://doi.org/10.47422/ac.v3i1.64.

Yousif, H., Abed, S., Abbas, S., & Jasiem, T. (2020). Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Iraqi *Taraxcum Officinale* L. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(2), pag. 1044-1048. ISSN-0973-9130.

Zaatout, N., Ayachi, A., Kecha, M., & Kadlec, K. (2019). Identification of staphylococci causing mastitis in dairy cattle from Algeria and characterization of *Staphylococcus aureus*. *Jornal of Applied Microbiology*, 127(5), pag. 1305–1314. Doi: https://doi.org/10.1111/jam.14402.

- **ANEXOS**

Anexo 1. Lugar de investigación.



Fuente: (Google earth, 2024)

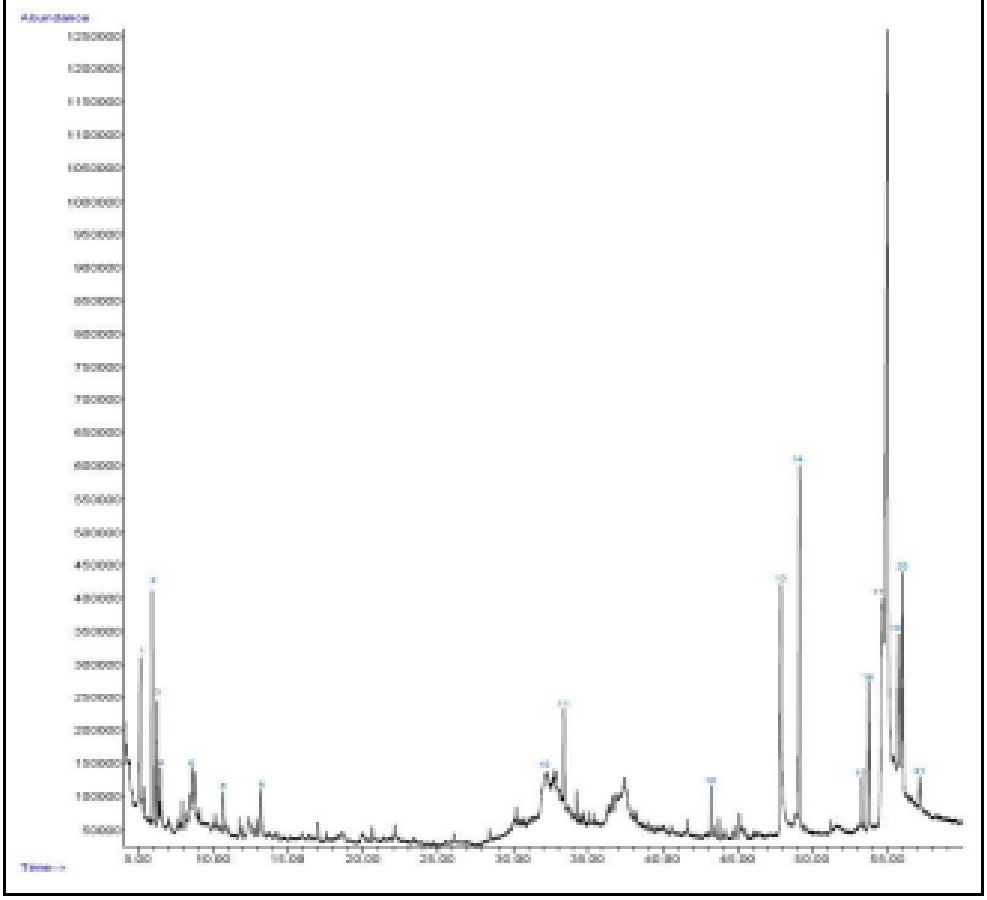
Anexo 2. Resultados de la CG-MS de compuestos volátiles del extracto de diente de león.

UEB VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Lagascoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	FPG12-01
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2024
		Pagina	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS Nº177-2024

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Nancy Yolanda Galeas Paredes - Alba Roxana Pilcolema Arteaga
Muestra	Extracto etanólico del diente de león *(Taraxacum officinale)* Macerado de 6 días
Código asignado UEB	INV 155
tado de la muestra	Líquido
Envase de recepción	Frasco vidrio con aprox. 20 mL de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles mediante Cromatografía gaseosa y espectrometría de masas (GC-MSD)
Fecha de recepción	10 de junio de 2024
Fecha de análisis	12 al 20 de 2024
Fecha de informe	20 de junio de 2024
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 A
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Gas portador:** Helio a un flujo de 1 mL/min **Inyección** Splitless; **Programa térmico:** Temperatura del horno 60 °C durante 3 minutos, se incrementó de 60 °C a 110 °C a razón de 2 °C/min; posteriormente la temperatura se elevó de 110 °C a 150 °C a razón de 10 °C/min; a continuación la temperatura se elevó de 150 °C a 200 °C a razón de 2 °C/min durante 3 minutos. **Temperatura del detector:** 280 °C **Tiempo total de corrida:** 60 minutos

N°	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	3-Hexen-1-ol, (E)-	5,151	3,77
2	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,930	2,27
3	2(5H)-Furanone	6,261	2,24
4	Piperidine, 4-chloro-1-methyl-	6,484	0,96
5	Butanoic acid, 3-hydroxy-, methyl ester	8,438	0,55
6	Acetic acid, sodium salt	8,581	1,42
7	3-Hexen-1-ol, acetate, (Z)-	8,752	0,77
8	Benzeneacetaldehyde	10,643	1,02
9	Pentanal	13,189	1,30
10	1-Tetradecanamine	32,240	2,35
11	2,4-Di-tert-butylphenol	33,374	1,31
12	Neophytadiene	43,217	0,97
13	n-Hexadecanoic acid	47,897	9,26
14	Hexadecanoic acid, ethyl ester	49,133	8,94
15	Heneicosane	53,281	1,44
16	Phytol	53,723	3,51
17	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	54,664	10,51
18	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	54,953	37,46

19	Linoleic acid ethyl ester	55,706	3,90
20	Ethyl 9,12,15-octadecatrienoate	55,958	5,06
21	Octadecanoic acid, ethyl ester	57,110	0,78

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
Teléf. (+593) 99 031 6224

Anexo 3. Base de datos.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	R5	R6
T0	18	18	19	18	23	22
T1	2	1	3	2	1	2
T2	3	3	2	3	4	3
T3	5	7	7	5	6	4
T4	22	19	20	22	19	21
T5	1	1	2	1	2	1
T6	3	2	2	2	3	2
T7	5	3	2	3	5	3
T8	9	9	10	9	10	10

Anexo 4. Fotografías de la investigación.



Foto 1: Selección del material vegetal.



Foto 2: Lavado del material vegetal



Foto3: selección de las bacterias



Foto 4: Envasado del extracto.



Foto 5: Preparación de medios de cultivos

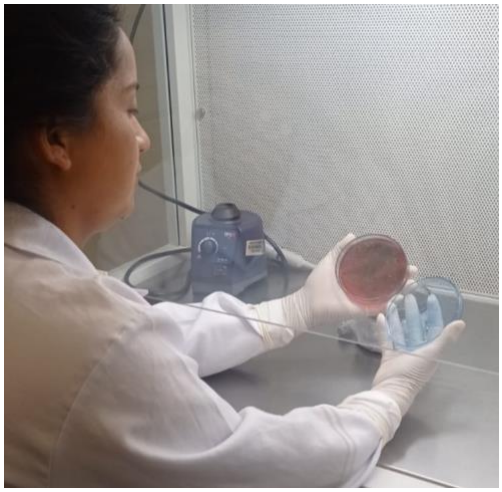


Foto 6: Siembra de las bacterias en medios selectivos y diferenciales.

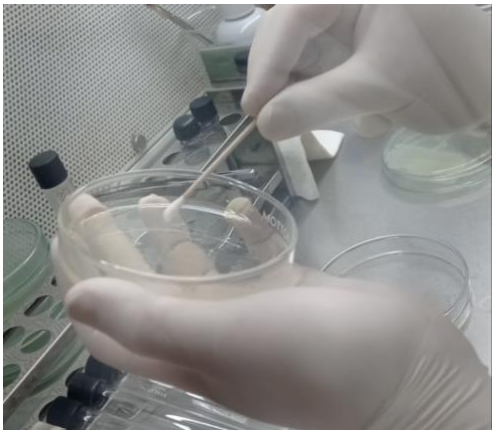


Foto7: Proceso del antibiograma



Foto 8: Proceso del antibiograma

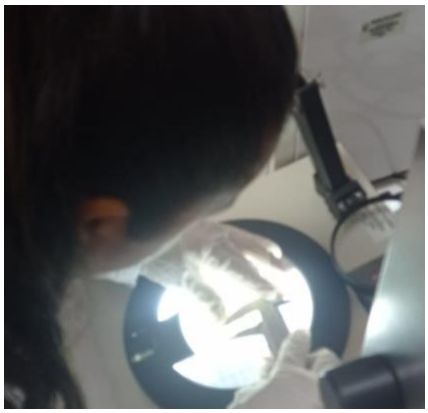


Foto9: Registro de resultados

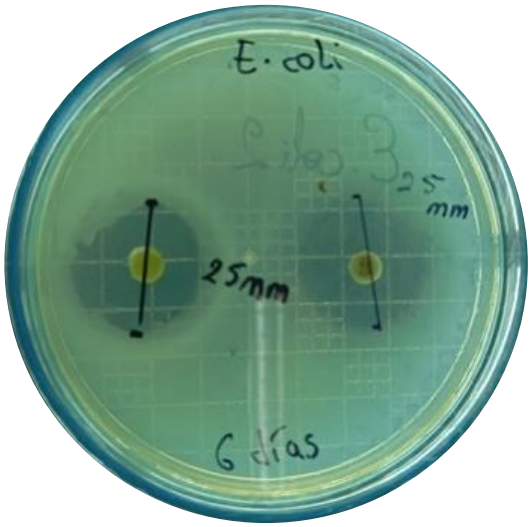


Foto10: Resultados del antibiograma



Foto11: Resultados del antibiograma

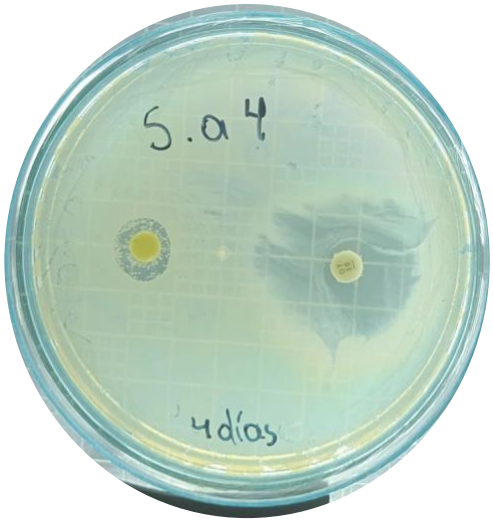


Foto12: Resultados del antibiograma



Foto 13: Resultados, *E. coli* con el macerado de 4 días.

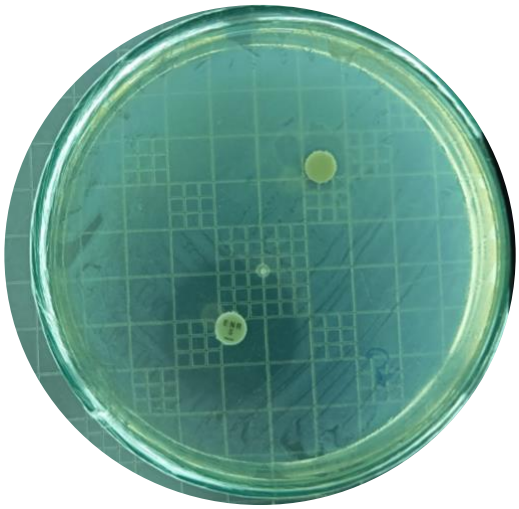


Foto 14: Macerado de 2 días frente S. aureus.



Foto 15: Preparación de medios para la conservación de las bacterias en estudio



Foto 16: Visita de campo por parte del tutor y los pares lectores.

Anexo 5. Glosario de términos.

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

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

BACTERIA: Las bacterias son microorganismos procariotas que presentan un tamañode unos pocos micrómetros (por lo general entre 0,5 y 5 μm de longitud) y diversas formas, incluyendo filamentos, esferas (cocos), barras (bacilos), sacacorchos (vibrios)y hélices (espirilos).

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

BACTERIOCLOROFILAS: Pigmentos de las bacterias que realizan fotosíntesis anoxigénica. **BACTERIÓFAGO:** Virus que infecta células procarióticas.

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

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

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

CMI: Es la menor concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de 105bacterias en 1 mL de medio de cultivo, tras 18-24 h de incubación. Se clasifica la sensibilidad de un germen frente a un antibiótico en función de sus respectivas CMI.

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

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

DISBIOSIS: También denominada disbacteriosis, hace referencia a un desequilibrio en el número o tipo de colonias microbianas que han colonizado al hombre. Se da más en el tracto digestivo, pero puede producirse en cualquier parte en la que haya una superficie expuesta o una membrana.

GRAM-NEGATIVA: Célula procariótica cuya pared celular contiene relativamente poco péptidoglucano y tiene una membrana 196 Manual de Microbiología Agrícola, 2013 externa compuesta de lipopolisacáridos, lipoproteínas y otras macromoléculas complejas. Aparece roja después de sometida a la tinción de Gram.

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

MASTITIS: La mastitis es una enfermedad multicausal, habiéndose identificado másde 80 especies de bacterias, hongos, mycoplasmas y algas capaces de causar infecciones intramamarias (IIM).

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

RESPIRACIÓN ANAERÓBICA. Uso de un aceptor de electrones distinto del O2, en una oxidación basada en el transporte de electrones que conduce a la bomba de protones.

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

SIEMBRAS DE MICROORGANISMOS: Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado.