UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad De Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales Y Del Ambiente

Carrera De Medicina Veterinaria

Tema:

“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CHILCA (*Baccharis latifolia*) FRENTE A BACTERIAS GRAM POSITIVAS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA**”**

Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Médica 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:

Jessica Dayana Agual Baño

Ruth Estefanía Escobar Medina

Tutor:

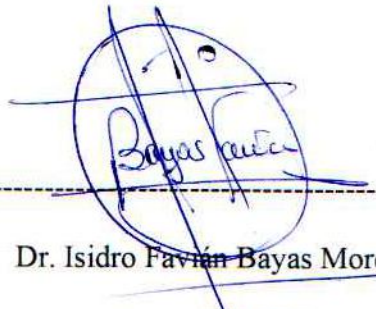
Dr. Isidro Favián Bayas Morejón Ph.D.

Guaranda – Ecuador

2024

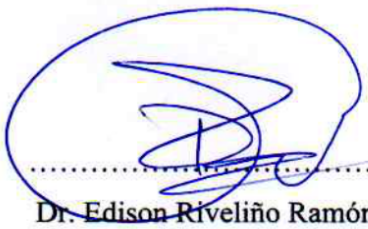
ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CHILCA (*Baccharis latifolia*) FRENTE A BACTERIAS GRAM POSITIVAS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA

REVISADO Y APROBADO POR:



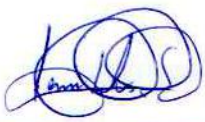
Dr. Isidro Favián Bayas Morejón Ph.D.

TUTOR



Dr. Edison Riveliño Ramón Curay. M.Sc.

PAR LECTOR



Dr. Fernando Carrasco S. Ph.D

PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Yo, Jessica Dayana Agual Baño, con CI. 0202033866, y Ruth Estefanía Escobar Medina, con CI. 0250013992, 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.

Jessica Dayana Agual Baño

CI. 0202033866

AUTORA

NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

Ruth Estefanía Escobar Medina

CI. 0250013992

AUTORA

Dr. Isidro Favian Bayas Morejón Ph.D.

TUTOR

ESCRITURA N° 20240201004P001107

DECLARACIÓN JURAMENTADA

OTORGAN:
RUTH ESTHEFANIA ESCOBAR MEDINA Y
JESSICA DAYANA AGUAL BAÑO
CUANTÍA: INDETERMINADA
Di 2 COPIA

P.A.

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy martes a los cinco días del mes de noviembre del año dos mil veinticuatro, ante mi **DOCTORA MS. 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 **RUTH ESTHEFANIA ESCOBAR MEDINA**, de estado civil soltera y **JESSICA DAYANA AGUAL BAÑO,** de estado civil soltera, ambas partes por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTES. Las comparecientes declaran ser de nacionalidad ecuatoriana, mayores de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación estudiantes ambas partes, domiciliada la primera en comparecer en la parroquia Guanujo, cantón Guaranda, provincia de Bolivar , con número celular cero nueve seis nueve siete ocho tres dos tres seis; y, con correo electrónico ruthescobar@mailes.edu.ueb.ec; y, la segúnda, en comparecer domiciliada en la parroquia Chillanes, cantón Chillanes, provincia Pichincha y de paso por este cantón de Guaranda, con número celular cero nueve seis cero tres cuatro cero siete seis seis; y, con correo electrónico jagual@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, a petición de las comparecientes se adjunta sus documentos personales como es la cedula y de votación, como documentos habilitantes. Advertidas las comparecientes por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinadas que fueron en forma aislada y separada de que comparecen al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruidos 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: **RUTH ESTHEFANIA ESCOBAR MEDINA** y **JESSICA DAYANA AGUAL BAÑO,** 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 DE CHILCA** (*Baccharis latifolia*) **FRENTE A BACTERIAS GRAM POSITIVAS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA**" Previo a la obtención del título de Médicas Veterinarias, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente.- Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad.- Para su celebración y otorgamiento se observaron los preceptos de ley que el caso requiere y leída que les fue íntegramente a los comparecientes por mí la Notaria, aquellos se afirman y ratifican en la aceptación de su total contenido y firman junto conmigo en unidad de acto, incorporando al protocolo de esta Notaria la presente escritura de Declaración Juramentada, de todo lo cual doy Fe.----------

SRTA. RUTH ESTHEFANIA ESCOBAR MEDINA.
C.C. 025001399-2.

SRTA. JESSICA DAYANA AGUAL BAÑO.
C.C. 020203386-6

DOCTORA MSc. GINA CLAVIJO CARRION
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

NOMBRE DEL TRABAJO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN_JESSICA DAYANA AGUAL BAÑO_RUTH ESTHEFANIA ESCOBAR MEDINA .pdf

AUTOR

Jessica Agual y Ruth Escobar

RECUENTO DE PALABRAS

15615 Words

RECUENTO DE CARACTERES

86711 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

74 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

1.9MB

FECHA DE ENTREGA

Oct 31, 2024 2:36 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Oct 31, 2024 2:37 PM GMT-5

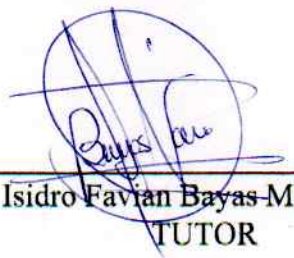
6% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 5% Base de datos de Internet
- Base de datos de contenido publicado de Crossref
- 2% Base de datos de publicaciones
- 5% Base de datos de trabajos entregados

Excluir del Reporte de Similitud

- Base de datos de Crossref
- Material citado
- Fuentes excluidas manualmente
- Material bibliográfico
- Material citado



Dr. Isidro Favian Bayas Morejón Ph.D.
TUTOR

MEMORANDO N-172-2023 UIC- MV-FCA

DE: Dr. Fernando Carrasco
Coordinador Unidad Integración Curricular
Par Lector

PARA: Dr. Favian Bayas .- Tutor
Dr. Riveliño Ramón.- Par Lector
Miembros Tribunal Proyecto Investigación

LUGAR Y FECHA: Guaranda noviembre 6, 2023

ASUNTO: Convocatoria defensa perfil de proyecto

De conformidad con lo establecido en el Reglamento de Unidad de Integración Curricular vigente, me permito convocarles a la defensa del perfil de proyecto de investigación titulado: **"ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CHILCA (*Baccharis latifolia*) FRENTE A BACTERIAS GRAM POSITIVAS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA,** desarrollado por las señoritas JESSICA DAYANA AGUAL BAÑO Y RUTH ESTEFANÍA ESCOBAR MEDINA, el día 15 de noviembre del presente, a partir de las 16h00, en el Salón Auditorio de la Facultad.

Atentamente,

WASHINGTON FERNANDO CARRASCO SANGACHE

Recibido 13-11-2023

Dr. Fernando Carrasco PhD.
Coordinador Unidad Integración Curricular
Carrera de Medicina Veterinaria

FCS/mav

13-11-2023

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado A mis seres queridos, especialmente a mi madre pues sin ella no lo habría logrado ya que, con sus bendiciones, su amor y apoyo incondicional me han acompañado en mi crecimiento profesional.

Aquellos que creyeron en mí cuando yo misma dudaba, a los que me animaron a seguir adelante cuando el camino se tornaba difícil, y a los que me enseñaron que la perseverancia y la pasión pueden superar cualquier obstáculo.

A mis hijos por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más.

A mis maestros y mentores, que con su sabiduría y experiencia me han guiado hacia el conocimiento. Y a mí misma, por la perseverancia y dedicación que me ha permitido alcanzar

Jessica Dayana Agual Baño

Con mucho amor y cariño dedico este trabajo a mi familia; Mis padres, mis hermanos quienes desde mi infancia me han formado con valores, por ser un ejemplo para seguir, y sobre todo esta es la recompensa a todos sus sacrificios.

Dedico con mucha humildad a la comunidad donde este trabajo va a hacer de mucha utilidad y beneficio. Que a través de esta investigación lleguemos con ese granito de arena y sea el inicio de una nueva oportunidad para todos nosotros.

Ruth Estefanía Escobar Medina

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios por darme la salud y la fuerza para poder avanzar en este camino llamado vida. Agradezco a mi familia especialmente a mis padres por inculcarme siempre por el camino hacia Dios, por su apoyo constante durante mi etapa universitaria. A mi esposo que desde un principio creyó en mí, y desde el primer instante que tuve su apoyo me he enfocado en los proyectos y mi único objetivo es ser una gran profesional.

También quiero agradecer a mis hijos Jorgito e Isabella por darme la fortaleza y fuerzas para salir adelante quienes fueron mi inspiración para nunca rendirme y seguir adelante en mi vida universitaria

Agradecimiento a la Universidad Estatal de Bolívar por abrirme sus puertas, a mis docentes de la facultad por cada uno de sus aportes a lo largo de mi formación profesional. Le agradezco muy profundamente a mi tutor Dr Isidro Favián Bayas por su dedicación y paciencia, sin sus palabras y correcciones precisas no hubiese podido lograr llegar a esta instancia tan anhelada. Gracias por su guía y todos sus consejos, los llevaré grabados para siempre en la memoria en mi futuro profesional

Jessica Dayana Agual Baño

Agradezco al Dr. Favián Bayas por ser mi guía y ayudarme durante esta investigación, por la dedicación y apoyo que me ha brindado, por el respeto a mis sugerencias e ideas, por la dirección y el rigor que ha facilitado a las mismas.

Con la razón que existe en el ser humano, agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta aquí, a mis padres, maestros, a la Universidad y a todos quienes lo componen, que me abrieron las puertas de sus aulas y ahora salir de ellas me hace recordar a todos los que estuvieron conmigo en las buenas y en las malas. Estoy concluyendo una etapa de mi vida, quedó muy agradecido con todos los que me apoyaron con el desarrollo de mi tesis, gracias mil gracias, no los menciono ya que nunca terminaría, con toda humildad y profunda sencillez mil gracias.

Ruth Estefanía Escobar Medina

ÍNDICE 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
CAPÍTULO II.	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Historia de la patología mamaria	6
2.1.1. Presentación subclínica	7
2.1.2. Presentación clínica	7
2.2. Diagnóstico de la infección mamaria	7
2.2.1. Examen físico del sistema mamario	7
2.2.2. Recuento de células somáticas (RCS)	8
2.2.3. Prueba de mastitis de California (CMT)	8
2.3. Mastitis contagiosa	9
2.4. Mastitis ambiental	9
2.5. Etiología de la mastitis	10
2.5.1. Bacterias gram positivos de la mastitis bovina	11
2.5.1.1. *Staphylococcus aureus*	11
2.5.1.2. *Staphylococcus* del grupo coagulasa negativo (SCN)	12
2.5.1.3. *Corynebacterium bovis*	12

2.5.1.4. *Streptococcus agalactiae* 13

2.5.1.5. *Streptococcus dysgalactiae* 14

2.6. Antibióticoterapia de las infecciones intramamarias 14

2.6.1. Grupo antimicrobiano Betalactámicos 15

2.7. Fitoterapéutica 16

2.8. *Baccharis latifolia* (Chilca) 17

2.8.1. Taxonomía 17

2.8.1.1. Generalidades botánicas 17

2.8.1.2. Tallo 18

2.8.2. Actividad antioxidante 19

2.8.3. Actividad antibacteriana 19

2.8.4. Compuestos fenoles 20

CAPÍTULO III. 21

3. MARCO METODOLÓGICO 21

3.1. Ubicación de la investigación 21

 Localización del experimento 21

 Situación geográfica y edafoclimática 21

 Zona de vida 21

3.2. Metodología 21

3.2.1. Material en estudio 21

3.2.2. Factores en estudio 22

3.2.3. Tratamientos 22

3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico 23

3.2.5. Manejo de la investigación 23

3.2.6. Métodos de evaluación 26

3.2.7. Análisis de datos 27

CAPÍTULO IV 28

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 28

4.1. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS 28

4.1.1. Rendimiento del aceite esencial de chilca *(Baccharis latifolia)* obtenido mediante destilación de arrastre por vapor 28

4.1.2. Análisis estadístico de la actividad antibacteriana del aceite esencial frente a bacterias Grampositivas asiladas de mastitis bovina 29

4.1.3. Análisis del efecto antibacteriano del aceite esencial de Chilca contra *S. aureus* aislado de mastitis bovina 32

4.1.4. Análisis del efecto antibacteriano del aceite esencial de Chilca contra *Bacillus* spp., aislado de mastitis bovina 33

4.1.5. Análisis del efecto antibacteriano del aceite esencial de Chilca contra *Streptococcus* spp., aislado de mastitis bovina 34

4.1.6. Estudio de los compuestos volátiles del aceite esencial de Chilca *(Baccharis latifolia)* mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) 36

4.2. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS 39

CAPÍTULO V 40

5.1. CONCLUSIONES 40

5.2. RECOMENDACIONES 41

BIBLIOGRAFÍA 42

ÍNDICE DE TABLAS

N°	DETALLE	PAG.
1.	Microorganismos bacterianos causantes de mastitis bovina	10
2.	Taxonomía de la chilca	17
3.	Rendimiento del aceite esencial de chilca (*Baccharis latifolia*) obtenido mediante destilación de arrastre por vapor.	28
4.	Análisis estadístico de la actividad antibacteriana del aceite esencial frente a bacterias Grampositivas asiladas de mastitis bovina.	29
5.	Comparación de los promedios de los halos de inhibición de bacterias Grampositivas causantes de mastitis bovina suceptibles al aceite esencial de Chilca. .	30
6.	Estudio de la sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra *S. aureus* aislado de mastitis bovina..	32
7.	Estudio de la sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra *Bacillus* aislado de mastitis bovina.	33
8.	Estudio de la sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra *Streptococcus* spp., aislado de mastitis bovina..	34
9.	Compuestos volátiles de mayor porcentaje presente en el aciete esencial de Chilca (*Baccharis latifolia*) obtenido mediante destilación de arrastre por vapor.	37

ÍNDICE DE FIGURA

N° **DETALLE** **PAG.**

1. Rendimiento del aceite esencial de chilca (*Baccharis latifolia*) obtenido mediante destilación de arrastre por vapor. 29

2. Resultados del antibiograma del efecto del aceite esencial de Chilca contra bacterias Grampositivas. 31

3. Porcentaje de sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra *S. aureus* aislado de mastitis bovina.. 32

4. Porcentaje de sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra *Bacillus* aislado de mastitis bovina. 34

5. Porcentaje de sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra *Streptococcus* spp., aislado de mastitis bovina.. 35

6. Cromatograma de los compuestos volátiles del aceite esencial de Chilca mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa.. 36

7. Compuestos volátiles de mayor porcentaje presente en el aciete esencial de Chilca obtenido mediante destilación de arrastre por vapor. 38

ÍNDICE DE ANEXOS

N° **DETALLE**

1. Mapa de ubicación de la investigación

2. Resultados de los compuestos volátiles

3. Base de datos

4. Fotografías de la investigación

5. Glosario de términos

RESUMEN

La mastitis bovina tiene un gran impacto a nivel mundial, debido a la generación de microorganismos resistentes a los antibióticos que puede ser trasmitidos al ser humano, por lo cual el objeto del presente experimento fue estudiar la actividad antimicrobiana de Chilca (*Baccharis latifolia*) frente a bacterias Gram positivas causantes de mastitis bovina. Para su desarrollo se estableció medir el efecto del aceite esencial en concentraciones del 100% y 50% contra *Staphylococcus aureus, Bacillus* spp., y *Streptococcus* spp., el método de difusión de disco. Además, se identificó los compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Como resultados se obtuvo que Chilca posee un rendimiento de 1.67%, puesto a que de 230 g de material vegetal en promedio se consiguió 3.84 mL del aceite esencial, el análisis estadístico expresó diferencias estadísticas significativas ($P<0.0001$) a nivel de tratamientos, demostrando de esta manera que la actividad antibacteriana de las diferentes concentración del aceite esencial fue diferente sobre las bacterias en estudio, estableciéndose que *S. aureus* fue sensible a las concentraciones del 100% y 50%, mientras que *Bacillus* spp., fue sensible al 100% y el 90% de los aislados fueron resistentes a la concentración del 50% y solo el 10% de bacterias presentaron sensibilidad, finalmente *Streptococcus* spp., presento resistencia total proporciones planteadas del aceite esencial de Chilca. Mediante el estudio cromatográfico de gases junto con espectrometría de masas (GC-MS) fueron identificados 8 agentes volátiles, los que definen el mayor área, representando un 62.52% de los compuestos identificados, a los que se les otorga la actividad antimicrobiana en la presente investigación, destacando el compuesto; Limonene es de mayor porcentaje presente en el aceite esencial de Chilca, y se encontró en un 17.36%, siguiéndole el β-Dihydroagarofuran representando un 12.45%, y finalmente los 42 compuestos volátiles se encontraron en menos del 2%. Concluyendo que el aceite esencial es una disyuntiva para atenuar la generación de resistencia por parte de las bacterias Grampositivas causantes de mastitis bovina.

Palabras clave: Chilca, actividad antimicrobiana, bacterias Gram positivas, Compuestos volátiles, GC-MS.

SUMMARY

Bovine mastitis has a great impact worldwide, due to the generation of microorganisms resistant to antibiotics that can be transmitted to humans, so the purpose of this research is to study the antimicrobial activity of Chilca (*Baccharis latifolia*) against Gram-positive bacteria that cause bovine mastitis. Methodologically, it was established to measure the effect of Chilca essential oil at concentrations of 100% and 50% against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp. and *Streptococcus* spp. by means of the disc diffusion technique, and volatile compounds were identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The results showed that Chilca has a yield of 1.67%, since an average of 3.84 mL of essential oil was obtained from 230 g of plant material. The statistical analysis showed significant statistical differences ($P<0.0001$) between the treatments, thus demonstrating that the antibacterial activity of the different concentrations of the essential oil was different on the bacteria under study, establishing that *S. aureus* was sensitive to concentrations of 100% and 50%, while *Bacillus* spp, was sensitive to 100% and 90% of the isolates were resistant to the 50% concentration and only 10% of the isolates in the study showed sensitivity, *Streptococcus* spp. presented total resistance to the concentrations of the essential oil of Chilca, through the study of gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), it was possible to identify 8 volatile compounds that represent the largest area, which represent 62.52% of the identified compounds. 52% of the identified compounds, which are granted antimicrobial activity in this research, highlighting the compound Limonene is the highest percentage present in the essential oil of Chilca, and was found in 17.36%, followed by β-Dihydroagarofuran representing 12.45%, and finally the 42 volatile compounds were found in less than 2%. In conclusion, the essential oil is an alternative to mitigate the generation of resistance by Gram-positive bacteria causing bovine mastitis.

Key words: Chilca, antimicrobial activity, Gram-positive bacteria, Volatile compounds, GC-MS.

CAPÍTULO I.

1.1. INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es la enfermedad infecciosa de carácter focalizado que impacta en gran medida y de manera negativa a la ganadería lechera, en las ganaderías a nivel mundial se observa que esta patología compromete desfavorablemente a otros factores productivos de importancia como la salud ya que exacerba la patogénesis de otras enfermedades adyacentes, repercute también en el bienestar animal, y ocasiona desequilibrios monetarios por comprometimiento de la calidad y cantidad de la leche, considerando que a esto se suman los costos por los tratamientos y la mano de obra calificada, existe también un aumento en el descarte de animales y mayores tasas de morbilidad debido a lo transmisible que puede llegar a ser esta enfermedad dentro del rebaño (Orsi *et al.*, 2023).

En los rebaños lecheros a nivel mundial el uso de antibióticos para la terapia de secado de vacas lecheras o para el tratamiento de la mastitis es muy frecuente, el uso de manera irracional de estos agentes farmacológicos sin considerar la terapia selectiva a impulsado la aparición y el mantenimiento de la resistencia antibiótica por parte de los agentes bacterianos que ocasionan la mastitis (Jong *et al.*, 2023).

En países europeos se ha identificado molecularmente que un importante agente etiológico de la mastitis como el *Staphylococcus aureus*, posee determinantes genéticos de resistencia antimicrobiana como el mprF, ndh, fmtA, graR o dltA los que le confieren resistencia intrínseca a la ciprofloxacina, daptomicina, gentamicina, linezolida, oxacilina o vancomicina, así como bombas de eflujo como NorA o LmrS, que pueden conferir resistencia o susceptibilidad reducida a las quinolonas o la lincomicina, así mismo el *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina es resistente a varias clases de antibióticos incluyendo a los ß-lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, anfenicoles, macrolidos, trimetoprima, lipopéptidos y lincosamidas, esto en dependencia de la zona productiva y al gerenciamiento de los antimicrobianos (Naranjo & Slowey , 2023).

En países de Latinoamérica como Brasil el cual posee un alto volumen de producción de leche mediante sistemas de confinamiento de tipo Free-Stall han considerado que el manejo clínico de las mastitis y la identificación de sus agentes

es prioritario para disminuir el impacto que ocasiona esta patología, para lo cual es prescindible la identificación de los niveles de susceptibilidad farmacológica que poseen los causantes de dicha enfermedad, considerando que las bacterias son los principales involucrados, estas pueden exhibir determinados mecanismos de resistencia, un claro ejemplo es la producción de betalactamasas por parte de las enterobacterias responsables de causar cuadros mastitis de carácter ambiental las mismas que ayudan a hidrolizar los ß-lactámicos, penicilinas y monobactámicos, ocasionando reducidas tasas de curación de la enfermedad (Ortega *et al.,* 2023).

La disminución de la dependencia farmacológica de los antimicrobianos en los sectores productivos de gran importancia como en la producción de leche es de suma importancia ya que es en donde se focaliza su utilización en el control y la reducción de infecciones intramamarias, por lo tanto en la actualidad existen estrategias terapéuticas para dicho manejo patológico como la utilización de métodos diagnósticos predictivos que permitan detectar la enfermedad en estadios muy tempranos o la utilización de agentes terapéuticos alternativos o fitofarmacológicos en formulaciones medicamentosas (Pakrashi *et al.,* 2023).

Tomanić *et al.* (2023) mencionan que la introducción de nuevos enfoques terapéuticos son el futuro del tratamiento de la mastitis y dentro de ellas se encuentran la utilización de nanoterapia, terapia con bacteriófagos, antimicrobianos derivados de animales, plantas (Aceites esenciales y otros extractos) y bacterias, adicionalmente se consideran a los probióticos como alternativas para la sustitución de fármacos antibióticos y reducir las posibilidades del desarrollo de resistencia antimicrobiana.

La chilca (*Baccharis latifolia*) es reconocida a nivel nacional y ha sido utilizada ancestralmente como una planta medicinal debido a sus propiedades antiinflamatorias, esta es una de las cuarenta y seis especies conocidas dentro del género *Baccharis,* ampliamente distribuido por el país, específicamente los macerados de los extractos de esta planta han sido utilizados en casos reumatológicos, también sus infusiones como antidiarreicos, analgésicos y antimicrobianos (Bayas *et al.,* 2020).

1.2. PROBLEMA

Las vacas lecheras son calificadas como uno de los receptáculos de mayor importancia de patógenos resistentes a los antimicrobianos, existen determinados periodos de producción en donde la susceptibilidad de la vaca lechera compromete la capacidad de resistir la colonización y eliminar a la etiologías infecciosas, considerando que la glándula mamaria es el órgano mas vulnerable a dicha eventualidad, siendo lo principales involucrados las bacterias y la tolerancia de estas a los fármacos antibióticos aplicados durante el curso de la enfermedad, provocando déficit terapéutico y mayor amplitud de la patología, resultado en el desarrollo de mecanismos de adaptabilidad y resistencia antimicrobiana que generalmente conllevan a la producción de leche de baja calidad y cantidad además de conducir al descarte prematuro de vacas con capacidades sobreproductivas.

La resistencia antimicrobiana influye de forma directa sobre los porcentajes de curación de la mastitis, ocasionando un impacto negativo a nivel económico que suele estar asociado a dicho factor microbiológico, ya que esta condición de resistencia o tolerancia a los antimicrobianos es responsable de que las pérdidas se distribuyan en un 36% debido a la eliminación de leche con trazabilidad de antimicrobianos, eliminación de vacas productivas, elevación de los precios de producción, gastos farmacológicos y veterinarios, incrementando las horas de trabajo y disminuyendo la eficiencia productiva, además, el 64% correspondiente a la diferencia se debe pérdidas por disminución en la cantidad producida.

La resistencia desarrollada por las bacterias está en dependencia de la especie y de manera más especifica en el género involucrado ya que estos poseen la capacidad de adaptabilidad, esto es una desventaja originada por el uso irracional de agentes antimicrobianos ya que al no realizar una terapia selectiva las probabilidades de desarrollar resistencia son más alta. La poca referenciación bibliográfica sobre la utilización de extractos vegetales como alternativa terapéutica en animales de producción es un punto negativo de tal modo en la presente investigación se ha motivado para el desarrollo de estándares antimicrobianos in vitro sobre patógenos potenciales causantes de mastitis bovina mediante la utilización de extractos vegetales.

1.3. OBJETIVOS

- **Objetivo General**

Estudiar la actividad antimicrobiana de Chilca (*Baccharis latifolia*) frente a bacterias Gram positivas causantes de mastitis bovina.

- **Objetivos Específicos**

Destilar aceite esencial a base de Chilca (*Baccharis latifolia*) mediante arrastre de vapor.

Medir la actividad antimicrobiana mediante los criterios interpretativos de susceptibilidad de bacterias Gram positivas aisladas de mastitis bovina.

Caracterizar los compuestos del aceite esencial mediante cromatografía.

1.4. HIPÓTESIS

HO: No existe actividad antimicrobiana de Chilca (*Baccharis latifolia*) frente a bacterias Gram positivas causantes de mastitis bovina.

HI: Existe actividad antimicrobiana de Chilca (*Baccharis latifolia*) frente a bacterias Gram positivas causantes de mastitis bovina.

CAPÍTULO II.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Historia de la patología mamaria

A lo largo de la historia, se registra la práctica de ordeñar vacas desde al menos 3100 años a.C., período durante el cual la mastitis bovina posiblemente estuvo presente, dado el limitado entendimiento de sus orígenes y métodos de tratamiento en esa época.(Ruegg, 2017).

La toda patología mamaria se caracteriza por la reacción tisular de tipo inflamatoria de las glándulas mamarias, siendo la lesión de las células lactoepiteliales la respuesta desencadenante a la presencia y actividad de microorganismos patógenos (Mushtaq *et al.,* 2018).

La inflamación del tejido mamario se considera de tipo infectocontagioso, surge como consecuencia de la invasión patógena a través del conducto del pezón. Su manifestación puede oscilar entre formas subclínicas y clínicas, manifestando alteraciones macroscópicas en la leche y síntomas apreciables en la ubre, con eventual impacto sistémico en la salud de las vacas (Oliveira *et al.*, 2022).

Las condiciones inflamatorias y lesiones celulares se desencadenan por factores físicos, químicos, térmicos o microbianos, siendo las bacterias responsables del 90% de los casos. Esta amplia gama de agentes etiológicos complica el diagnóstico, lo que resulta en pérdidas económicas significativas. Por consiguiente, se hace imprescindible un enfoque minucioso para la identificación precisa del agente causante (Narváez *et al*., 2022).

Las cepas bacterianas asociadas a la patología mamaria en los bovinos exhiben una adaptabilidad variada en diferentes entornos, presentando divergencias en sus modos de transmisión, capacidad infectiva y susceptibilidad a medidas de control. Los microorganismos de carácter contagioso, como *Mycoplasma* spp., muestran una alta propensión a infectar las glándulas mamarias, causar lesiones en los pezones y colonizar los conductos, siendo especialmente transmisibles de un animal a otro durante el proceso de ordeño o inmediatamente después. Por otro lado, los microorganismos denominados "ambientales", tales como enterobacterias, entre

otros, se encuentran ampliamente dispersos en los hábitats de los animales, particularmente en zonas con acumulación de materia orgánica, como heces, etc. (Stempler *et al.*, 2022).

2.1.1. Presentación subclínica

En la mastitis subclínica, la reacción no se considera agravada por lo que no se observa alteraciones manifiestas en las tetas y visibles en la leche, la glándula mamaria ni la vaca. Pero se reduce la producción de leche y se altera su composición generando leche de baja calidad, además se considera una mastitis subclínica cuando el recuento de células somáticas por mililitro de leche no excede los 250 000 (Riveros & Obando, 2021).

2.1.2. Presentación clínica

La mastitis clínica se distingue por la aparición de signos evidentes, mientras que la forma subclínica es más difícil de detectar, ya que no presenta alteraciones visibles en la glándula mamaria, entonces esta presentación se basa en la observación de los síntomas y la identificación del patógeno involucrado. Complementariamente, se requieren métodos de diagnóstico adicionales como el recuento de células somáticas (RCS) y el California Mastitis Test (CMT), que son pruebas ampliamente utilizadas para la detección de la presentación clínica (Jacob *et al., 2020*).

2.2. Diagnóstico de la infección mamaria

La mastitis bovina es comúnmente reconocida por los signos clínicos, y más obviamente debido a las anomalías de la composición de la leche y la fisionomía de los cuartos mamarios de la ubre.

2.2.1. Examen físico del sistema mamario

Los signos clínicos manifiestos en la leche se manifiestan mediante una notable disminución en su producción, presencia de un amplio número de células lactíferas y células inmunitarias, también, alteraciones en su composición, así como la aparición de aglomeraciones lácteas. En ciertos casos, pueden observarse síntomas sistémicos, como fiebre, apatía y anorexia. A nivel local, los cuartos de la ubre

pueden estar inflamados, mostrando signos como hiperemia, hinchazón, aumento de temperatura y sensibilidad al tacto. (Yalazoglu & Ski, 2019).

No obstante, en los casos subclínicos no hay signos evidentes o perceptibles, lo que hace imprescindible el uso de métodos diagnósticos que sean rápidos, oportunos y posean un alto grado de sensibilidad y precisión (Gómez *et al.*, 2020).

2.2.2. Recuento de células somáticas (RCS)

El recuento de células somáticas (RCS) es ampliamente utilizado como un indicador clave de la calidad de la leche. A nivel de rebaño, el RCS en la leche del tanque de almacenamiento a granel o de análisis indivuadilizado permite estimar la prevalencia de mastitis subclínica. Los rebaños que producen leche con un RCS elevado muestran una mayor actividad enzimática, tanto proteolítica como lipolítica, lo que disminuye la capacidad de la leche para la producción de queso y afecta tanto el sabor como la vida útil de los productos lácteos. Para mitigar las pérdidas causadas por la baja calidad de la leche, la industria ha implementado programas que vinculan el pago con la calidad, basados en el RCS. Estos programas ofrecen bonificaciones o penalizaciones en el precio de la leche, incentivando a los productores a mejorar la calidad del producto (Cortinhas *et al.*, 2023).

2.2.3. Prueba de mastitis de California (CMT)

Este método diagnóstico es utilizado para identificar el tipo de mastitis presente y evaluar su severidad según su avance. Este procedimiento puede aplicarse tanto en la leche de un cuarto individual como en la leche que proviene de los cuatro cuartos combinados. En cualquier caso, un recuento de células somáticas superior a 100.000/mL indica inflamación, aunque esto no necesariamente significa la existencia de una infección intramamaria. En las vacas con infecciones intramamarias, la leche generalmente presenta recuentos superiores a 160.000/mL debido a la acumulación de leucocitos, principalmente neutrófilos, sin considerar los efectos de dilución para evitar falsos positivos (Balemi *et al.*, 2021).

2.3. Mastitis contagiosa

Es originada por organismos que se transmiten con facilidad, propagándose a través de los procedimientos de ordeño, incluidos los aditamentos y materiales contaminados, así como por las manos de los ordeñadores (Gussmann *et al.,* 2019).

Los microorganismos bacterianos contagiosos pueden provocar mastitis subclínica, lo que generalmente resulta en una reducción en la producción, especialmente en los primeros 30 días posteriores al parto. Estos patógenos, en su mayoría, causan nuevas infecciones o pueden ser recurrentes, y se les considera responsables de infecciones crónicas y profundas en las glándulas mamarias, las cuales son extremadamente difíciles de tratar (Mendoça *et al.,* 2018).

Un régimen de higiene riguroso durante la extracción de la leche conformado por la sanitización y asepsia de las tetas tras el ordeño, la segragación o eliminación de animales que tienen la patología, el tratamiento antimicrobiano adecuado de los casos positivos, el mantenimiento regular del equipo de ordeño y la terapia de vacas secas son elementos fundamentales para controlar los organismos contagiosos. (Gelgie *et al.,* 2022).

La infección causada por *Mycoplasma bovis* puede ser incurable a menos que se produzca una seroconversión inmunitaria. Considerando que, los protocolos de clasificación y línea de ordeño, así como la higiene durante el proceso adquieren una importancia aún mayor para reducir esta infección (Sosa *et al.,* 2018).

2.4. Mastitis ambiental.

Se la considera una mastitis causada por microorganismos que prosperan en ambientes con poco manejo salubre. La mejor manera de prevenir la acción de estos organismos ambientales es mediante el uso de camas limpias, alojamientos en condiciones higiénicas, reducir la humedad de los diversos nichos, materia orgánica incluyendo lodo y estiércol, limpieza y sanitización de las ubres, control de hematófagos, curación y prevensión de lesiones en las puntas de los pezones y seguir protocolos adecuados de ordeño (Sarma & Hussain, 2021).

Las bacterias ambientales que logran invadir el interior de la ubre pueden provocar una mastitis clínica, que puede manifestarse de manera hiperaguda o aguda.

Algunos de estos también pueden establecer infecciones crónicas en la glándula. Para que estos organismos ambientales causen infección, primero deben estar presentes en el entorno de la vaca y luego deben tener la oportunidad de penetrar en la ubre, superando los mecanismos de defensa naturales del pezón y la glándula mamaria. (Zigo *et al.,* 2021).

Los patógenos ambientales poseen capacidad distributiva hacia el pezón incluyendo su conducto o la cisterna si no se desinfecta adecuadamente la punta del pezón antes de administrar un intramamario, o cuando se utilizan cánulas de infusión contaminados. Las bacterias coliformes y los estreptococos ambientales son los patógenos predominantes responsables de estas mastitis. (Kabelitz *et al.,* 2021).

2.5. Etiología de la mastitis

La mastitis es una afección de etiología multifactorial, que puede ser desencadenada por diversos microorganismos, tales como bacterias, virus, levaduras y algas, así como por factores ambientales asociados al manejo (Neder *et al.,* 2021).

Tabla 1.

Etiologías bacterianas en la mastitis bovina.

Patógeno	Clasificación
Streptetococcus agalactiae	Cocos – G+
Staphylococcus aureus	Cocos – G+
Streptetococcus uberis	Cocos – G+
Streptetococcus dysgalactiae	Cocos – G+
Mycoplasma bovis	Celular – sin membrana
Klebsiella spp	Bacilo – G-
Corynebacterium pyogenes	Bacilo – G-
Arcanobacterium pyogenes	Bacilo – G-
Escherichia coli	Bacilo – G-
Pseudomonas aeruginosa	Bacilo – gram negativo

Fuente: Shoaib *et al,* (2022).

2.5.1. Bacterias gram positivos de la mastitis bovina.

2.5.1.1. *Staphylococcus aureus.*

Este microbio es de tipo anaeróbico G+ facultativa con una organización en racimos similares a las uvas. Se trata de un coco beta-hemolítico, inmóvil, con reacción catalasa positiva y perfil coagulasa positivo. Este microorganismo es capaz de provocar mastitis en diferentes formas, como la aguda, hiperaguda, crónica, en gran parte con inicio subclínico lo que ocasiona cuadros más prevalente. La bacteria produce diversas enzimas y toxinas y su alta capacidad invasiva se debe a la hialuronidasa, que facilita su penetración en los tejidos. También presenta resistencia a la fagocitosis debido a la proteína A en su superficie y a la producción de ácido teicoico, lo que le permite evadir el sistema inmunológico. Como un patógeno intracelular facultativo, *S. aureus* puede persistir en células fagocíticas y formar abscesos en los tejidos, ocasionando fibrosis tisular. (Asadpour *et al.,* 2021).

S. aureus se identifica como un patógeno contagioso que causa mastitis, reconociendo que la ubre es uno de sus principales reservorios. Las fuentes secundarias del microorganismo incluyen la piel de las tetas y los cuartos. Aunque hay discusión sobre si las fuentes extramamarias poseen capacidad de iniciar la infección intramamaria o si sucede al revés, se considera que la transmisión dentro del rebaño ocurre principalmente a través de las operaciones de ordeño (Kalińska *et al.,* 2018).

La infección insidiosamente variable y varía según la región, pero está fuertemente ligada a la introducción de animales portadores, las prácticas de higiene en las explotaciones, el manejo del personal ordeñador de la granja y el cuidado del ganado. El esquema de terapia en las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* es complejo debido a su resistencia a los antibacterianos, en particular a los betalactámicos (Duque *et al.,* 2021).

Staphylococcus aureus puede evitar los mecanismos de acción de algunos medicamentos antimicrobianos a través de su supervivencia dentro de las células (facultad de invasión intracelular) después de ser fagocitado. Los aplicativos de drogas antimicrobianas de administración intramamaria pueden resolver hasta el

40% de las infecciones, considerando que pueden ser menos efectivas en casos de cuadros crónicas. La eficacia del tratamiento para infecciones intramamarias subclínicas crónicas puede aumentar si se utiliza una combinación de terapia parenteral e intramamaria. (Zaatout *et al.,* 2019).

El tratamiento debe ser específico y administrado durante un periodo adecuado (de 7 a 10 días) para garantizar la eliminación efectiva del patógeno. La elección del medicamento dependerá de las pruebas de susceptibilidad antibacteriana, siendo los antibióticos lipófilos los que se distribuyen eficazmente en el tejido mamario, como la oxitetraciclina, sin embargo, numerosos estudios han indicado que la oxitetraciclina administra por 4 días o menos provoca bajos índices de curación, en cambio, hay evidencia de que las cefalosporinas y los macrólidos son más efectivos contra *Staphylococcus aureus* (Bochniarz *et al.,* 2018).

2.5.1.2. Staphylococcus del grupo coagulasa negativo (SCN)

Este grupo de cocos se considera versátil y puede comprometer la salud de la ubre. Se trata de cocos Gram positivos con un perfil coagulasa negativo; algunos de estos estafilococos presentan hemólisis, mientras que otros no. Entre las especies comunes de *Staphylococcus* en este grupo se encuentran chromogenes, haemolyticus, simulans, equorum y epidermidis, que suelen encontrarse en nichos extramamarios del animal y en el entorno. Estas especies muestran una considerable variabilidad en las cepas aisladas dentro de un rebaño. (Kim *et al.,* 2019).

La transmisión se produce cuando esta bacteria contamina las tetas a través del contacto con elementos contaminados del entorno, incluyendo las herramientas y la manipulación de los ordeñadores. Algunas especies de *Staphylococcus coagulasa negativo* están asociadas con cuadros persistentes, desventajosamente estas especies tienen gran adaptabilidad a entornos difíciles y a las condiciones externas de la ubre del huésped (Ashraf *et al.,* 2018).

2.5.1.3. Corynebacterium bovis

Es un microorganismo bacteriano de tipo anaeróbico facultativo, tiene características de Gram positivo, microscópicamente se presenta en forma de bastones desprovistos de cápsulas, no son esporulados y se observan inmóviles, sus formas pueden ser rectas o curvadas con diferencias de un extremo más ancho que

el otro. Como patógeno, se transmite de forma directa con el contacto de los enfermos y sanos o con fómites durante el ordeño o manipulación de los pezones, en primera instancia ocurre la colonización del canal del pezón, posteriormente, la colonización de los alveolos mamarios para iniciar un cuadro subclínico, provocando alto número de células somáticas, que trasciende a una disminución en la producción (Becker *et al.,* 2018).

Esta bacteria es susceptible a los antibióticos como, penicilina, ampicilina, cefalosporinas, quinolonas, cloranfenicol, tetraciclinas, etc. La rutina de ordeño debe presidirse por la asepsia de las tetas antes y posterior al ordeño por inmersión resulta muy eficiente para eliminar *C. bovis* (Stella *et al.,* 2019).

2.5.1.4. Streptococcus agalactiae

La infección intramamaria provocada por *Streptococcus agalactiae* (estreptococo del grupo B), que no forman esporas y se agrupan en cadenas cortas es altamente prevaleciente. El nombre "agalactiae" indica una disrupción abrupta de la producción de leche, ya que *S. agalactiae* provoca una exacerbada respuesta inflamatoria que ocasiona el bloqueo de la luz los conductos de los lobulillos y lóbulos, lo que lleva a una reducción de la producción, aumento de células somáticas por mililitro, con el tiempo, pérdida de la funcionalidad galactófara. (Raabe *et al.,* 2019).

La evidencia de estudios moleculares indican que las cepas de *S. agalactiae* es incidente en diversas regiones de todo el mundo y que de forma particular estas presentan divergencias genéticas exclusivamente en dependencia al huésped, sin embargo, comparten rasgos en *Streptococcus agalactiae* como la baja producción de enzimas o toxinas y alta susceptibilidad a los antimicrobianos, este microorganismo ha sido exhibido como susceptible en pruebas in vitro a varios antibacterianos, especialmente a los betalactámicos, lo que facilita el control o la eliminación de la infección (Furfaro *et al.,* 2018).

Dentro del esquema terapéutico para la infección por este microorganismo es necesario tratar simultáneamente los cuatro cuartos de la ubre infectada para garantizar la eliminación del patógeno y evitar las posibles transmisiones a un cuarto mamario no infectado. Los rebaños que son sometidos a un esquema

terapéutico intenso para la infección causada por esta bacteria monitoreando constantemente a través del conteo de células somáticas (CCS) y cultivos bacterianos, con el fin de identificar y tratar aquellas vacas que no fueron detectadas o curadas inicialmente de forma oportuna (González *et al.*, 2019).

2.5.1.5. Streptococcus dysgalactiae

La mastitis provocada por *Streptococcus dysgalactiae* (grupo C) es causada por cocos Gram positivos, catalasa negativos, anaerobios facultativos y beta-hemolíticos, aunque algunas cepas son alfa-hemolíticas, estas bacterias anespórico (sin espora) con agrupación de cadenas cortas. (Baraco, 2019).

S. dysgalactiae es reconocido como un agente común de los cuadros subclínicos en el ganado lechero, aunque, este patógeno se encuentra frecuentemente en la piel de los pezones y suele provocar infecciones cuando la dermis de la teta se ve transgredida, de forma particular los daños causados por los equipos de ordeño, abrasiones por incorrecta manipulación de los ordeñadores, así como por heridas relacionadas a comorbilidades como la fiebre aftosa o picaduras de insectos hematófagos (Fessia *et al.*, 2021).

Para el tratamiento de infecciones por *S. agalactiae* existe diversos productos intramamarios a base de amoxicilina, penicilina y eritromicina, los cuales resultan efectivos, sin embargo, las infecciones subclínicas provocadas por *S. dysgalactiae* deben tratarse preferiblemente al final de la lactancia con infusiones intramamarias de productos diseñados para la inducción del secado de vacas lecheras (Käppeli *et al.*, 2019).

2.6. Antibióticoterapia de las infecciones intramamarias

Los antibióticos suelen ser la opción principal para tratar la mastitis. No obstante, las opciones disponibles son cada vez más limitadas debido al aumento de la resistencia bacteriana y las normativas de salud pública. A su vez, el desarrollo de nuevas generaciones de antibióticos es muy costoso, por lo que se están explorando nuevos enfoques antimicrobianos para contrarrestar esta resistencia. Uno de estos enfoques es la aplicación de la nanotecnología, la cual busca crear agentes antimicrobianos que actúen mediante mecanismos físicos, en lugar de depender únicamente de un efecto químico (El-Sayed & Kamel, 2021)

El tratamiento de la mastitis con antimicrobianos actualmente se realiza mediante administración intramamaria o sistémica, con la disponibilidad de ocho grupos de antimicrobianos que abarcan más de 30 principios activos. A pesar de la variedad de protocolos para el tratamiento de la mastitis bovina, uno de los principales desafíos sigue siendo el extenso período de retiro que algunos antimicrobianos requieren, lo que incrementa la cantidad de leche descartada. Además, es esencial considerar la resistencia que pueden desarrollar ciertas cepas, ya que los microorganismos responsables de la mastitis, y relacionados con la glándula mamaria, presentan diferentes características en cuanto a virulencia, patogénesis y posibles patatrones de resistencia (Smith *et al.*, 2024).

2.6.1. Grupo antimicrobiano Betalactámicos

Se distinguen por tener una formación química denominada aro betalactámico, el define su característica clave y determina su modo de operar inhibiendo la generación de componentes de la pared celular bacteriana, aunque por parte de los microbios la primordial forma de resistir a estos surge de la generación de enzimas como las betalactamasas, tomando en cuenta que estas enzimas pueden hidrolizar a los betalactámicos, resultando en dificit terapéutico en las mastitis bacterianas con resistencia a este grupo antimicrobiano (Hamon *et al.*, 2021).

2.6.1.1. Características farmacológicas

Los Betalactámicos se reconocen como bactericidas parciales particularmente porque actúan en fases específicas del desarrollo activo del microorganismo. Su eficacia está influenciada por la concentración mínima inhibitoria y el tiempo de exposición, así como la resistencia y producción de enzimas microbianas, estas características provocan la liberación excesiva de endotoxinas que pueden exacerbar la respuesta inflamatoria por parte del huésped, la cual está vinculada a la efectividad de estos agentes en la eliminación de bacterias (Hincapié, *et al.*, 2021).

La mayoría de estos antibióticos se metabolizan de forma limitada, conservando su actividad hasta su excreción, que ocurre principalmente a través de los riñones mediante filtración en el glomérulo y secreción en los túbulos, siendo así que en

pacientes con problemas renales, la dosificación debe ajustarse para evitar efectos adversos nefrotóxicos (Roca *et al*., 2019).

2.6.1.2. Espectro antibiótico

Los betalactámicos resultan efectivos contra Gram positivas, y en algunos casos, también influyen sobre algunas Gram negativas, sin embargo, no tienen acción contra micoplasmas, concurriendo a que estos carecen de pared celular, siendo también poco efectivos contra microbios con capacidad de invadir el interior de células como las rickettsias y clamidias, debido a su limitada capacidad para penetrar dentro de las células, aunque, algunas bacterias, como las micobacterias y las enterobacterias, presentan resistencia innata a los betalactámicos debido a la producción de betalactamasas. (Calles *et al.*, 2022).

2.6.1.3. Mecanismo de acción farmacológico

Su uso clínico en infecciones causadas por bacterias Gram negativas es común debido a su capacidad para atravesar la membrana externa a través de las porinas, permitiendo el acceso al periplasma y la interrupción de la síntesis de peptidoglicano. Las cefalosporinas de generaciones más recientes se emplean como tratamientos de último recurso para infecciones complicadas. Sin embargo, ha habido un aumento mundial en cepas resistentes a estas, y la heterorresistencia a esta clase de antibióticos ha generado una creciente preocupación. Además, la tolerancia y persistencia bacteriana son considerados posibles factores detrás del fracaso en los tratamientos, estos antibióticos clasificados en este grupo actúan interfiriendo a ciertas proteínas de unión a la penicilina (PBPs) en su pared, provocando alteraciones estructurales que conducen a la desestabilización de la pared y por ende a la muerte de las bacterias (Araten, et al., 2024)

2.7. Fitoterapéutica

La necesidad de desarrollar terapias antibacterianas más efectivas ha impulsado la investigación hacia la identificación de agentes naturales con propiedades antimicrobianas, en este contexto, una alternativa con importante evidencia científica son los aceites esenciales y los conjugados alcohólicos e hidroalcohólicos de vegetales que en gran parte se destacan por su potente actividad antimicrobiana,

tradicionalmente su uso empírico en la prevención y control de infecciones microbianas ha aumentado el interés en el campo fitofarmaceutico (Yu *et al.,* 2020).

2.8. *Baccharis latifolia* (Chilca)

El género *Baccharis*, perteneciente a la familia *Asteraceae*, es uno de los más extensos en América Latina. Entre sus especies se encuentra *Baccharis latifolia*, conocida comúnmente en el Ecuador y algunos países de suramericanos como "Chilca", esta planta es de tipo arbustiva, la misma pudiendo llegar a medir una altura de hasta 4.5 metros, en la medicina ancestral a esta planta se le atribuyen propiedades médicas como antiinflamatorias, analgésicas, antimicrobianas, antineuróticas, antitumorales y antirreumáticas en diversas condiciones patológicas (Herrera *et al.,* 2017).

2.8.1. Taxonomía

Tabla 2.

Taxonomía de la chilca

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	*Baccharis*
Especie	*latifolia*

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

2.8.1.1. Generalidades botánicas

Baccharis latifolia es una planta arbustiva de tipo dioica independiente con diversos usos milenarios y ancestrales que físicamente puede alcanzar alturas de 1 a 4,5

metros, es apreciado en muchas civilizaciones arcaicas de Suramérica donde se ha utilizado para tratar dolencias y patologías diversas, esta planta es valorado ya que presenta importantes actividades en la salud (Aguirre *et al.,* 2019).

2.8.1.2. Tallo

En esta planta el tallo es delgado y anguloso desde antes que inicie con su agregación leñosa, es decir, mientras está tierno este presenta una alta cantidad de resina que le provocan un color entre rojizo y verde, conforme madura la planta su coloración cambia y se vuelve marrón, es característicamente cilíndrico de cáscara surcada, particularmente con proyecciones ramificadas que inician el tallo mayor y se distribuyen verticalmente con sacos de resina (Herrera *et al.,* 2017).

2.8.1.3. Porción foliar

La porción foliar posee un característico color verde claro, estas hojas son simples, resinosas y coriáceas, y están dispuestas alternadamente, sus medidas varían de entre 5 y 20 cm longitudinales, con 1 a 7 cm transversales, posee particularidades que radican en la forma elíptica o lanceolada con una punta triangular también conocido como ápice agudo, y base cuneada o redondeada, esta forma particular de las hojas además están provistas de tres venas principales y bordes dentados, aunque en la superficie de las hojas, se aprecian incrustaciones con similitud a ciertas vellosidades, indistintamente el peciolo en esta planta es de color verdoso y varía entre 0.5 y 4.5 cm de longitud (Paniagua *et al.,* 2020).

2.8.1.4. Frutos

El fruto de la Chilca es definido como pequeño y seco de tipo aquenio con un pericarpio que está separado de la porción germinal, el cual es estrecho, es característicamente pálido y presenta forma de ovalo encapsulado que mide entre 0,8 y 1,3 cm, aunque en ciertas variedades de Chilca posee una corona de blancos filamentos alrededor (Sierra, 2019).

2.8.1.5. Inflorescencia

La inflorescencia se presenta dependiente de la estación del año, definiéndose en primavera las flores poseen pétalos coloridos entre blanco y un color beige crema, los que se agrupan en círculo, las flores de la planta hembra, se reconocen con una

cabezada formada por 80 a 290 petalillos rodeados del involucro bracteático campanuladas y subglobosas, que miden aproximadamente 7 mm de largo y están dispuestas en series de 3 a 6, por otro lado, las flores masculinas contienen entre 15 y 45 floretes, y su involucro de 6 mm se organiza en series de 3 a 4. (Aguirre *et al.*, 2019).

2.8.2. Actividad antioxidante

Los organismos aerobios, como los animales y plantas poseen sistemas de defensa de tipo antioxidante comprendido por elementos específicos, sustancias como enzimas y capturadores químicos, primordialmente los mecanismos protectores son constituidos por sustancias enzimáticas, capaces de transformar los componentes reactivos al oxígeno en agentes minoritariamente agresivos, tomando en cuenta que entre estas enzimas se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), que influye en la conversión del radical superóxido en peróxido de hidrógeno, y la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX), que convierten el agua bioxigeneda en la separación del oxígeno y las moléculas que forman el agua (Prada *et al.,* 2016).

Existe una segunda fase de protección de la oxidación, fundamentada en compuestos preventivos con capacidad antioxidante, los cuales previenen la oxidación y el estrés oxidativo mediante la captura de radicales libres al inicio de su formación, dentro de estos se puede encontrar a diversos nutrientes como las vitaminas A, E y C que a más de secuestrar los radicales libres también los neutralizan (Prada *et al.,* 2016).

El estrés oxidativo puede ocurrir también en presencia de diversos agentes antioxidantes de tipo endógeno, por lo que la presencia o consumo de componentes exógenos de tipo natural o sintético es prescindible para la prevención de la reactividad de oxidación celular, las especies reactivas al oxígeno son naturalmente consecuencia del metabolismo aeróbico de los seres vivos, sin embargo, es importante preservar la función de neutralización o prevención del impacto de estos (Prada *et al.,* 2016).

2.8.3. Actividad antibacteriana

Se define como la capacidad para inhibir la replicación y crecimiento de un germen bacteriano con capacidad infectante, esta condición es determinada por un

sinnúmero de interacciones moleculares con diversas estructuras de la célula, involucradas en funciones vitales como el intercambio de moléculas, la fisión binaria, respiración, metabolismo energético, etc. Esta capacidad es determinada por análisis microbiológicos controlados para cuantificar y categoriza dicha actividad (Gadea *et al.,* 2017).

Los componentes biológicamente activos de algunas plantas y agentes vegetales poseen capacidad inhibitoria, incluyendo el género *Baccharis* spp., que ha demostrado inhibir patógenos causantes de enteritis y otras patologías como *S. typhimurium* y *S. aureus*, donde se ha demostrado su poder antimicrobiano (Toribio *et al.,* 2007).

Bayas *et al.* (2020) comprobó que los extractos vegetales de la Chilca poseen actividad antimicrobiana igual o mejor que los antibióticos frente a diversas enterobacterias como; *Escherichia coli, Salmonella* y *Listeria,* aisladas de carnes para consumo humano.

2.8.4. Compuestos polifenólicos

Son componentes con diversas capacidades, destacándose la actividad antioxidante, se consideran abundantes en las especies vegetales, su efecto es favorecido por la presencia de moléculas heterogéneas asociadas a diversos componentes del grupo bencénico, las cuales forman disociación de los hidroxilos reactivos al oxígeno en el espacio pericelular e intracelular (Gadea *et al.,* 2017).

Son considerados productos secundarios del metabolismo vegetal de células especializadas, en algunos casos se consideran que poseen una amplia actividad antioxidante en la conservación de alimentos, ya que disminuyen la catálisis en las reacciones de componentes fundamentales en presencia del oxígeno, ocasionando menor activación de los radicales libres, una dieta rica en vegetales aporta la cantidad suficiente de polifenoles para mitigar el impacto del estrés oxidativo, oportunamente actúan sobre los radicales libres mediante la hidrogenación de un grupo hidroxilo aromático, provocación una luxación de cargas en el doble enlace del sello aromático de esta manera principalmente actúan previniendo la oxidación de procesos moleculares en sistemas biológicos (Gadea *et al.,* 2017).

CAPÍTULO III.

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación de la investigación

- **Localización del experimento**

La reciente investigación se desarrolló en el apartado de microbiología del Laboratorio de General de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar.

- **Situación geográfica y edafoclimática**

Altitud	2608.00 metros
Latitud	1°61’ 43.78’’
Longitud	78°99’83.39’’
Temperatura máxima	19 ºC
Temperatura mínima	10 ºC
Precipitación media anual	1619 mm cúbicos
Humedad relativa (%)	72%

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

- **Zona de vida**

Guaranda corresponde a la formación Bosque Húmedo Montano Bajo (B.h.m.b), según lo establecido en el consenso de clasificación de zonas de vida del geólogo Leslie Holdridge (Holdridge, 1971)

3.2. Metodología

3.2.1. Material en estudio

- *Streptococcus spp*
- *Staphylococcus aureus*

- *Bacillus spp.*
- Aceite esencial de Chilca (*Baccharis latifolia*)

3.2.2. Factores en estudio

Factor A

- a1: Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 100%
- a2: Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 50%

Factor B

- b0: Aislados de *Staphylococcus aureus*
- b1: Aislados de *Streptococcus spp*
- b2: Aislados de *Bacillus spp.*

3.2.3. Tratamientos

Tabla 3.

Tratamientos

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
1	Disco de antibiótico + Aislados de *Staphylococcus aureus*
2	Disco de antibiótico + Aislados de *Streptococcus spp*
3	Disco de antibiótico + Aislados de *Bacillus spp.*
4	Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 100% + Aislados de *Staphylococcus aureus*
5	Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 100% + Aislados de *Streptococcus spp*
6	Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 100% + Aislados de *Bacillus spp.*
7	Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 50% + Aislados de *Staphylococcus aureus*
8	Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 50% + *Streptococcus spp.*
9	Aceite esencial de *Baccharis latifolia* al 50% + Aislados de *Bacillus spp.*

3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico.

- Diseño de bloques completamente al azar (DBCA).
- Prueba de Tukey 5% (Comparativa de promedios)

Tabla 4.

Características numéricas del experimento.

Tratamientos	9
Repeticiones	3
Aislados totales	30
# Aislados por cada género bacteriano	10
Número total de análisis	270

Tabla 5.

Análisis de varianza (ADEVA).

F. de variación	Grados de libertad
Total (t*r)-1	269
Tratamientos (Tto – 1)	8
Bloques (Repeticiones - 1)	2
Error Experimental (Gl total- Gl tto)	259

3.2.5. Manejo de la investigación

- **Manejo de la extracción del aceite esencial de la Chilca**
- *Obtención del material vegetal*

Se obtuvo 20 kg de Chilca, considerando que se separaron las hojas y parte de los tallos de la planta, se lavó con agua destilada, y se colocó en un ambiente fresco para eliminar el exceso de humedad durante 24 horas, este procedimiento permitió eliminar impurezas como polvo y cualquier material de las hojas de las plantas recolectadas.

- *Extracción del aceite esencial*

Se destiló con la metodología de arrastre con vapor, para su efecto, se colocó las hojas de la chilca en el balón de destilación, y se calibró previamente el equipo de destilación, se aforó de agua y se sometió ebullición con una temperatura constante de 100°C, finalmente se recolectó en un embudo de decantación, donde se separó los fluidos por diferencias de densidades.

- *Envasado*

Se envasó 10 mL del aceite esencial de Chilca en un frasco de vidrio de color ámbar para evitar degradación de este y de sus componentes, lo que previno la desnaturalización de los principios bioactivos.

- **Reanimación de cepas bacterianas**

Se detuvo el proceso de criopreservación y se inició la reanimación de las cepas bacterianas requeridas, las cuales fueron obtenidas del banco de bacterias del laboratorio previamente mencionado, el mismo que es producto de otros trabajos investigativos donde fueron aisladas e identificadas.

- *Preparación de medios de cultivo:*

Se tomó como medio nutritivo inicial el caldo de agua peptona tamponada, y medios específicos para el desarrollo de las cepas bacterianas hasta establecer un medio de cultivo totalmente revitalizado, además, como medios de diferenciación se consideró al agar Salt manitol, Agar Tripticasa de Soja, los mismos que contribuyeron al crecimiento y diferenciación de las bacterias en estudio, y a la obtención de cultivo axénicos de cada especie bacteriana.

- *Tiempos de incubación:*

Las cepas fueron sometidas a incubación por 24 o 48 horas con una calibración de 37 °C en una atmosfera aeróbica, estas condiciones fueron aplicadas en todos los análisis durante el proceso de experimentación.

- *Obtención de cultivos axénicos:*

Se consiguió mediante la técnica de purificación por triple estría, lo que permitió obtener un cultivo homogéneo, con las mismas características de crecimiento esperadas de cada género y especie bacteriana estudiada.

- **Establecimiento de la sensibilidad y resistencia.**

- *Inoculación en caja Petri*

Se preparó el agar Müller Hilton, para la respectiva inoculación de las cepas en estudio, con un ajuste de población de $1x10^8$ UFC/mL, adicionalmente, se utilizó un hisopo estéril, el cual transportó las cepas de interés y permitió la resiembra sobre superficie del medio de cultivo mencionado, esto aseguró que la distribución del inoculo fue homogénea.

- *Dilución del aceite esencial de Baccharis latifolia*

En la presenta experimentación se realizó la dilución del aceite mediante la adición de Dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente de aceites vegetales, para alcanzar la concentración deseada, es decir en la dilución del 50%, se colocó 500 µL de DMSO y 500 µL de aceite esencial de Chilca en un tubo Eppendorf, se homogenizó y reservó hasta su utilización.

- *Aplicación de los discos de inhibición.*

Luego de que se inocularon los medios de cultivo con las cepas, se colocaron los dispositivos de antibiograma a los cuales previamente se impregnaron del aceite esencial con la respectiva concentración, los discos se colocaron con una separación de 15 a 20 mm entre disco y disco, y 15 mm de separación del borde de la caja Petri, los halos de inhibición se obtuvieron tras la incubación a 37 ° C por un tiempo de 24 a 48 horas.

- *Medición de los halos de inhibición*

La categorización interpretativa en función a la escala de sensibilidad se realizó mediante la medición de las zonas de inhibición, para lo cual se utilizó un pie de rey, y se tomó como referencia el diámetro total del espectro de inhibición

encontrado en cada antibiograma, posteriormente a ese diámetro total se le restó los 6 mm del disco, valor que se fue expresado en milímetros.

- **Análisis cromatográfico**

La determinación cromatográfica a partir del aceite esencial de la Chilca (*Baccharis latifolia*) fue bajo los lineamientos de la GC-MS, para lo cual se utilizó un cromatógrafo (GC, agilent technologies 7890-A) y espectrómetro de masas (agilent technologies 5977 MSD), con una columna capilar (HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)), el gas de arrastre fue helio puro, este procedimiento se efectuó con los siguientes pasos;

Se indujo 1 µL de aceite en Split, con una analogía 50:1. en el cromatógrafo.

La temperatura de la cámara de inyección se calibró a una temperatura de 250 °C.

El protocolo térmico se configuró iniciando con una mantención del horno desde 60 °C por 5 minutos, y se acrecentó de 60 °C a 180 °C a intervalos de 10 °C/min; posteriormente la temperatura se elevó de 180 °C a 300 °C a razón de 20 °C/min por 1 minuto.

La temperatura del sensor de detección fue de establecida en 260 °C.

El procedimiento se completó en 24 minutos en la totalidad del ensayo.

Los elementos se identificaron a través de la plataforma virtual NIST14.L mediante el análisis de los picos graficados, lo que permitió tabular los agentes evidenciados con sus concentraciones respectivas.

3.2.6. Métodos de evaluación

- **Rendimiento del aceite**.

Parámetro que se estimó mediante la medición del total de aceite extraído correlacionado con la cantidad de material vegetal utilizado para su extracción, este cálculo se desarrolló con la aplicación de la formula puntualizada por Melo *et al.*, (2020);

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

Donde:

M1= Cantidad (kg) obtenida del aceite esencial.

M2= Cantidad (kg) material vegetal.

100= Valor constante matemática.

- **Halos de inhibición del aceite esencial**

Variable que se estableció en base la sensibilidad o tolerante de *S. aureus, Bacillus* y *Streptococcus* spp., en la interacción con el aceite esencial de chilca a las concentraciones del 100% y 50%, en función a los criterios interpretativos de clasificación con las medidas de los halos, en donde:

Halos > 8 mm determina una cepa sensible y zonas de inhibición con valores ≤ 8 mm se categorizaron como resistentes (Duraffourd *et al*., 1987).

- **Estudio de los compuestos volátiles**

Variable que permitió determinar los compuestos volátiles que contenía el aceite esencial de la Chilca, su metodología se fundamentó en la utilización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), los compuestos fueron identificados con la librería virtual NIST 14.L.

3.2.7. Análisis de Datos

Los resultados obtenidos del antibiograma permitieron determinar el efecto de los tratamientos en estudio mediante la aplicación del diseño de bloques completamente al azar y Tukey con 95% de confianza como comparativa de promedios con la herramienta estadística SAS versión 9.4.

Además, se aplicó estadística descriptiva para determinar la proporcionalidad de cepas resistentes y sensibles a las concentraciones probadas del aceite esencial de la Chilca.

CAPÍTULO IV.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.1. Rendimiento del aceite esencial de chilca (*Baccharis latifolia)*

Tabla 3.

Rendimiento del aceite esencial de chilca (Baccharis latifolia)

Repetición	Material Vegetal (Peso)	Volumen del aceite esencial	Rendimiento (%)
1	200	3.5	1.75
2	240	3.8	1.58
3	220	4.1	1.86
4	240	3.8	1.58
5	250	4.0	1.60
Promedios	**230**	**3.84**	**1.67**

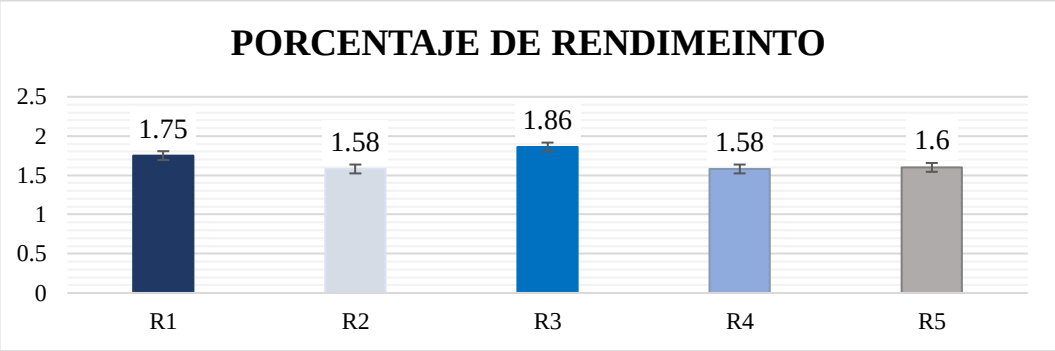
Nota. Realización de 5 extracciones consecutivas con su rendimiento respectivo.

Las cantidades obtenidas de la extracción del aceite esencial de Chilca mediante destilación de arrastre con vapor, definió que por cada 230 g de material vegetal (hoja) se obtendrá 3.84 mL de aceite esencial en promedio, durante 120 minutos de extracción, adicionalmente se obtuvo que con un máximos de 250 g de Chilca se extrajo 4 mL de aceite esencial y con un mínimos de 200 g se obtuvo 3.5 mL de aceite esencial, estas deducciones sugieren que en promedio dicho planta posee un rendimiento del 1.67%, es decir que por cada 100 g de material vegetal de se atendrá 1.67 mL de aceite esencial.

Mosquera (2018) quien aplicó la misma metodología para la obtención de aceite esencial de Chilca (*Baccharis latifolia*) utilizando las hojas de la planta, logró determinar que, por cada 112 g de hojas de Chilca se logró obtener 4 mL de aceite esencial en promedio, estimando así un rendimiento del 3.57%.

Figura 1.

Rendimiento del aceite esencial de chilca (Baccharis latifolia)



El rendimiento reportado por el autor previamente citado en la obtención de aceite esencial es superior al obtenido en la presente investigación, asumiendo que dicho autor menciona que propiciar una prehidratación del material experimental por 24 horas previas a la destilación incrementa el volumen final de aceite esencial.

4.1.2. Análisis estadístico de la actividad antibacteriana del aceite esencial frente a bacterias Grampositivas asiladas de mastitis bovina.

Tabla 4.

Análisis estadístico de la actividad antibacteriana del aceite esencial frente a bacterias Grampositivas asiladas de mastitis bovina.

Fuente V.	GL	SC	CM	F. Valor	Pr. F
Tratamientos	8	12502.82	1562.85	1119.45	<.0001**
Repeticiones	2	14.95	7.47	5.36	0.0053
Error	259	361.58	1.396	**CV:** 8.81%	
Total	269	12879.36		**R^2:** 0.98	

Nota. **: diferencias estadísticas altamente significativas

Los resultados del análisis estadístico nos sugieren que existió diferencias estadísticas altamente significativas (P<0.0001 **) a nivel de tratamientos, reportando que la actividad antibacteriana de los tratamientos fue diferente sobre las bacterias en estudio, adicionalmente, a nivel de repeticiones también se observó

diferencias estadísticas (P< 0.0053), es decir los 10 aislados, fueron inhibidos de manera diferente.

El análisis, además nos reportó un coeficiente de variación del 8.81% y un R^2 de 0.98 considerando como parámetros aceptables de dispersión o variabilidad en las zonas de inhibición en los ensayos de susceptibilidad del aceite esencial frente a las bacterias Grampositivas aisladas de mastitis bovina.

Tabla 5.

Comparación de los promedios de los halos de inhibición de bacterias Grampositivas causantes de mastitis susceptibles al aceite esencial de Chilca

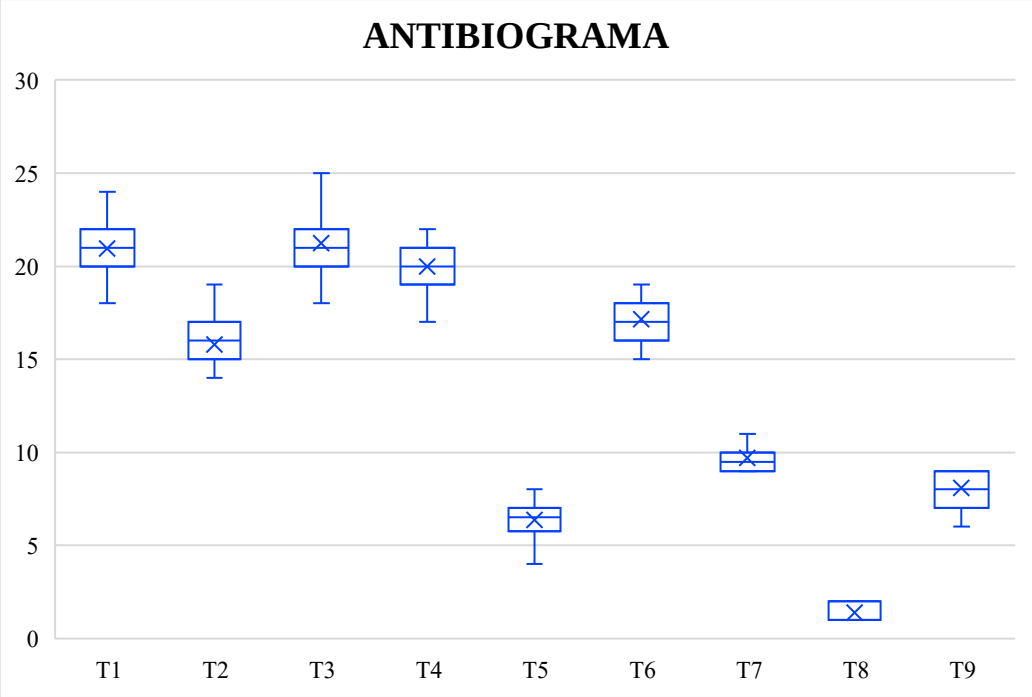
Tratamientos	Promedio	Rangos
3	21.13	A
1	20.97	A
4	19.97	B
6	17.17	C
2	15.72	D
7	9.70	E
9	8.10	F
5	6.37	G
8	1.40	H

Nota. Promedios cubiertos con la misma letra son estadísticamente iguales. *Nota:* T1; 1 Antibiótico + *S. aureus*, T2; Antibiótico + *Streptococcus* spp., T3: Antibiótico + *Bacillus* spp., T4; *B. latifolia* 100% + *S. aureus*, T5; *B. latifolia* al 100% + *Streptococcus* spp., T6; *B. latifolia* 100% + *Bacillus* spp., T7; *B. latifolia* 50% + *S. aureus*, T8; *B. latifolia* 50% + *Streptococcus* spp., T9; *B. latifolia* 50% + *Bacillus* spp.

La comparación múltiple exhibió que el T3 y T1 contenían igualdades estadísticas, mientras, que los demás tratamientos expresaron diferencias estadísticas en los promedios. Siendo el T3 el que obtuvo en promedio la zona de inhibición de mayor diámetro, con 21.13 mm, siguiéndole el T2 que en promedio obtuvo 20.97 mm, continuándole el T4 con 19.97 mm en la zona de inhibición, posteriormente el T6 con 17.17 mm, así mismo el T2 con 15.72 mm, consecutivamente el con 9.70 mm, posteriormente el T9 con 8.10mm, finalmente el, T5 y T8 obtuvieron promedios de 6.37 mm y 1.40 mm respectivamente siendo insuficientes para inhibir las cepas correspondientes a cada ensayo.

Figura 2.

Resultados del antibiograma del efecto del aceite esencial de Chilca contra bacterias Grampositivas.



Nota: T1; 1 Antibiótico + *S. aureus*, T2; Antibiótico + *Streptococcus* spp., T3: Antibiótico + *Bacillus* spp., T4; *B. latifolia* 100% + *S. aureus*, T5; *B. latifolia* al 100% + *Streptococcus* spp., T6; *B. latifolia* 100% + *Bacillus* spp., T7; *B. latifolia* 50% + *S. aureus*, T8; *B. latifolia* 50% + *Streptococcus* spp., T9; *B. latifolia* 50% + *Bacillus* spp.

Bayas-Morejón *et al.* (2020) investigaron la actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto de Chilca contra bacterias causante de diarreas, y encontraron diferencias estadísticas en la inhibición contra *Listeria* spp, aislada de alimentos cárnicos del mercado de la cuidad de Guaranda, demostrando que el extracto posee actividad antibacteriana contra *Listeria* spp., con evidencia de halos > 8 mm.

Comparativamente son resultados similares, ya que el aceite esencial de Chilca, de la provincia Bolívar obtuvo actividad solo contra dos bacterias Grampositivas de las 3 en estudio, además, demostró que la concentración del 100% del aceite esencial de Chilca es eficaz para inhibir el desarrollo contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus* spp, debido a la evidencia de halos con medidas >8mm superando el punto de corte establecido por la escala de sensibilidad.

4.1.3. Análisis del efecto antibacteriano del aceite esencial de Chilca contra *S. aureus* aislado de mastitis bovina.

Tabla 6.

Estudio de la sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra S. aureus aislado de mastitis bovina.

Categoría	T4 (100%)		T7 (50%)	
	Fr	%	Fr.	%
Sensible (>8mm)	10	100%	10	100%
Resistentica (≤8 mm)	0	0	0	0

Nota. Categorización interpretativa de la susceptibilidad de *S. aureus.*

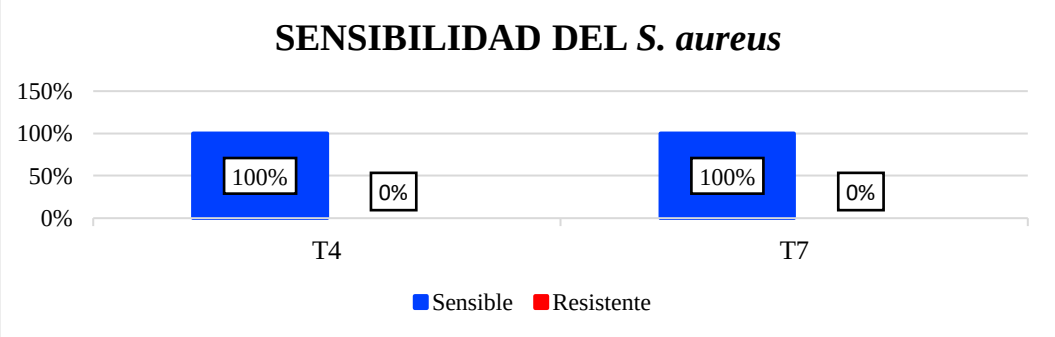
El aceite esencial de Chilca mostró tener efectividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, obteniendo que el T4 y el T7 se lograron diámetros de halos de inhibición > 8 milímetros, es decir que el 100% de los aislados (n=10) en la presente experimentación fueron sensibles al aceite esencial de la Chilca.

Rojas *et al*. (2007) evaluaron la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Baccharis latifolia* mediante la técnica de microdilusión en caldo, demostrando en sus resultados que las bacterias grampositivas como el *Staphylococcus aureus* fueron sensible a la concentración de 80 µg/mL.

Valarezo *et al.* (2013) quienes investigaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Chilca en la provincia de Loja, Ecuador, donde metodológicamente usó el antibiograma mediante microdilusión en caldo, encontró que solo una concentración de 100 µg/mL logro inhibir el desarrollo de *S. aureus.*

Figura 3.

Porcentaje de sensibilidad bacteriana S. aureus aislado de mastitis bovina contra el aceite esencial de Chilca.



Mediante la revisión bibliográfica no se encontró investigaciones mediante difusión de disco en bacterias Grampositivas, sin embargo, las investigaciones citadas sugieren que el aceite esencial a contracciones de 80-100 µg/mL inhibe el desarrollo del *S. aureues*. Coincidiendo con las publicaciones antes citadas ya que en el presente experimento fue suficiente una concentración de 50% para inhibir con halos mayores a 8 mm, a la bacteria en cuestión, la que se categorizó como sensible.

4.1.4. Análisis del efecto antibacteriano del aceite esencial de Chilca contra *Bacillus* spp., aislado de mastitis bovina.

Tabla 7.

Estudio de la sensibilidad bacteriana de Bacillus aislado de mastitis bovina contra el aceite esencial de Chilca.

Categoría	T6 (100%)		T9 (50%)	
	Fr	%	Fr.	%
Sensible (>8mm)	10	100%	1	10%
Resistentica (≤8 mm)	0	0	9	90%

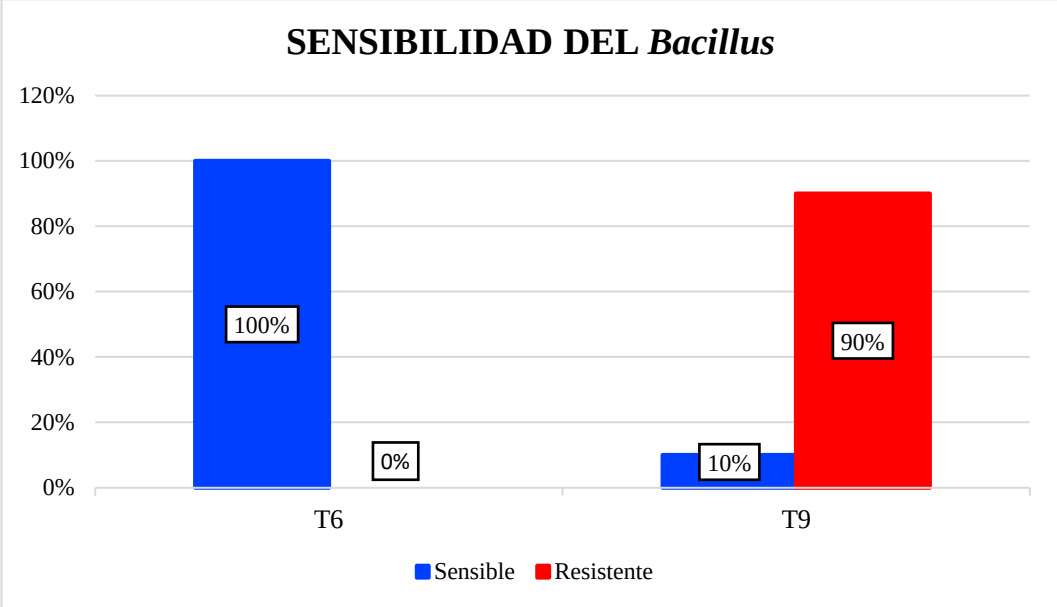
Nota. Categorización interpretativa de la susceptibilidad de *Bacillus spp.*

De acuerdo con el análisis de los resultados del antibiograma en los 10 aislados de *Bacillus* spp., se observó que el 100% de las bacterias (n=10) fueron sensibles a la concentración del 100% del aceite esencial, ya que obtuvieron una zona de inhibición en promedio de 17.17 mm, mientras que a la concentración del 50% el 90% de las bacterias (n=9) fueron resistentes a dicha concentración y solo el 10% (n=1) presentó sensibilidad.

Bayas-Morejón *et al.* (2020) quienes investigaron la actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto de Chilca contra *Listeria* spp (bacteria bacilo Gram positivo), aisladas de alimentos cárnicos del mercado de la cuidad de Guaranda, obtuvieron zonas de inhibición de 12.3, 11.6 mm, 15.3 mm y 15.1 mm, para los extractos de raíz, tallos, hojas y flores de la Chilca respectivamente.

Figura 4.

Porcentaje de sensibilidad bacteriana de Bacillus aislado de mastitis bovina contra el aceite esencial de Chilca.



Comparativamente los resultados de la presente investigación son mayores a los obtenido por Bayas y colaboradores (2020), ya que se obtuvo zonas de inhibición superiores, dichas diferencias se les atribuye a las características propias del aceite esencial versus al extracto, a la concentración de metabolitos volátiles presentes en el aceite esencial de la Chilca, demás, también influye las características o condiciones ambientes, de la planta en estudio.

4.1.5. Análisis del efecto antibacteriano del aceite esencial de Chilca contra *Streptococcus* spp., aislado de mastitis bovina.

Tabla 8.

Estudio de la sensibilidad bacteriana del Streptococcus spp., aislado de mastitis bovina contra el aceite esencial de Chilca.

Categoría	T5 (100%)		T8 (50%)	
	Fr	%	Fr.	%
Sensible (>8mm)	0	0%	0	0%
Resistentica (≤8 mm)	10	100%	10	100%

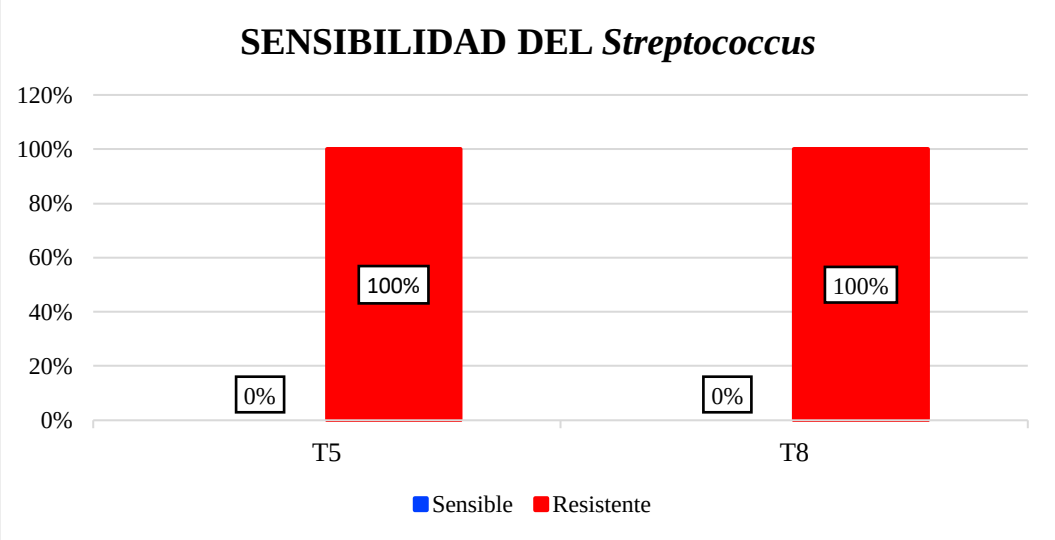
Nota. Categorización interpretativa de la susceptibilidad de *Streptococcus* spp.

De acuerdo con el análisis de los resultados del antibiograma de los 10 aislados de *Streptococcus* spp., se observó que el 100% de las bacterias (n=10) fueron resistentes a las concentraciones del 100% y 50% del aceite esencial, ya que obtuvieron una zona de inhibición de 6.37 mm en promedio, y 1.40 mm individualmente, demostrando resistencia total de dicha bacteria al aceite esencial de la Chilca.

Guzmán (2018) investigó el resultado de los complejos fenólicos totales del extracto etanólico de la *Baccharis genistelloides* sobre *Streptococcus mutans*, metodológicamente usó las concentraciones del 25%, 50% y 75%, encontrando diámetros de la zona de inhibición de 6.07 mm, 7.15 mm y 14.69 mm respectivamente.

Figura 5.

Porcentaje de sensibilidad bacteriana del aceite esencial de Chilca contra Streptococcus spp., aislado de mastitis bovina.

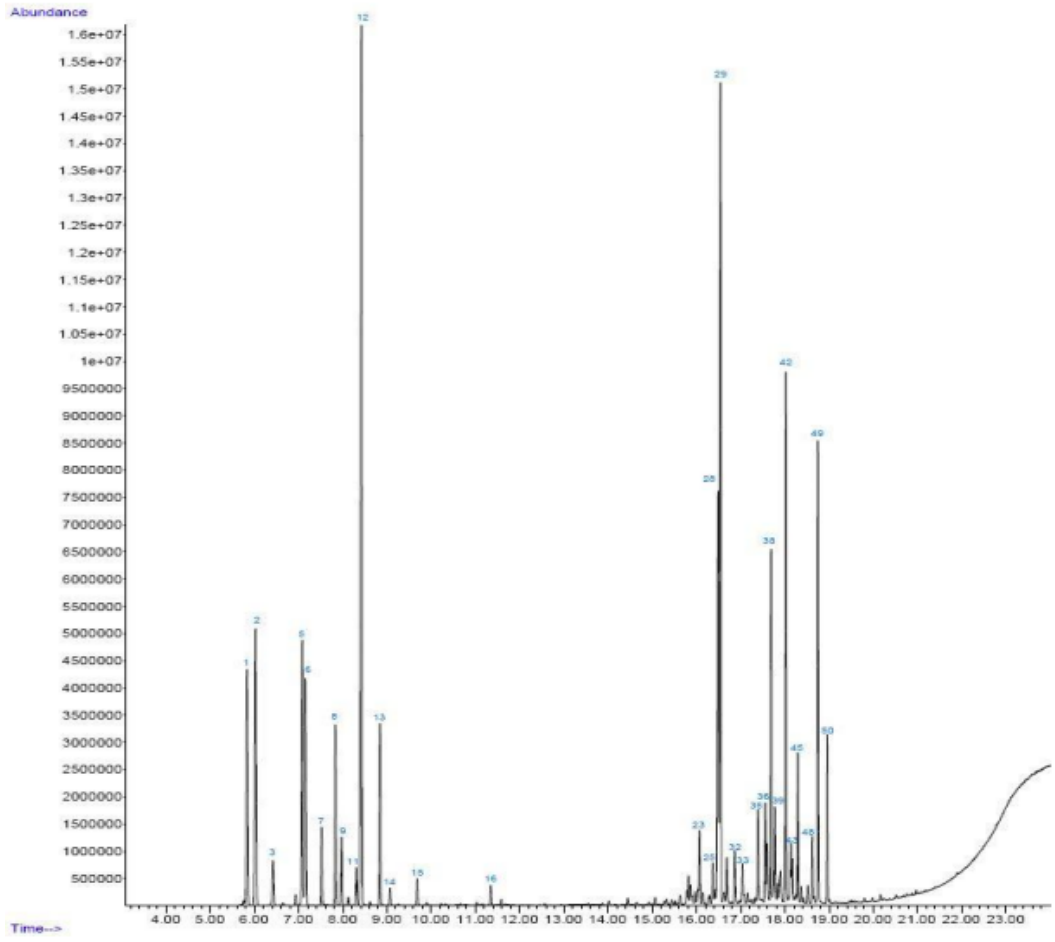


Comparativamente son resultados superiores a los encontrados en la presente investigación, debido a las características de cada especie de planta de una investigación a otra, sin embargo, coincide en la utilización del mismo género de planta (*Baccharis*), adicionalmente, mediante los resultados consideramos que el aceite esencial de Chilca como alternativa terapéutica para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas.

4.1.6. Estudio de los compuestos volátiles del aceite esencial de Chilca (*Baccharis latifolia*) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Figura 6.

Cromatograma de los compuestos volátiles del aceite esencial de Chilca (Baccharis latifolia) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC-MS).



Nota. Comatograma de 24 minutos de corrido total.

El estudio de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), se lograron identificar un total de 50 picos y compuestos volátiles en el aceite esencial de Chilca.

Tabla 9.

Compuestos volátiles de mayor porcentaje presente en el aceite esencial de Chilca (Baccharis latifolia) obtenido mediante destilación de arrastre por vapor.

#	Compuesto	Timp. ret. (min.)	Área (%)
12	D-Limonene	8.422	17.36
29	β-Dihydroagarofuran	16.543	12.45
28	Kessane	16.487	6.60
42	Trimethyl-naphtho-oxireno-furan	18.024	6.49
49	2(3H)-Naphthalenone	18.749	5.64
2	d-α-Pinene	6.025	5.14
5	Sabinene	7.083	4.48
1	α-Thujene	5.835	4.35

Nota. Los compuestos volátiles fueron identificados con la Librería NIST14. L.

Mediante el estudio cromatográfico (GC-MS) se logró identificar 8 compuestos volátiles que representan el mayor área, los cuales representan un 62.52% de los compuestos identificados, a los que se les otorga la actividad antimicrobiana en la presente investigación, el compuesto Limonene es de mayor porcentaje presente en el aceite esencial de Chilca, y se encontró en un 17.36%, siguiéndole el β-Dihydroagarofuran representando un 12.45%, posteriormente el Kassane con un 6.60%, así mismo el Trimethyl-naphtho-oxireno-furan con un 6.49%, adicionalmente se encontro al 2(3H)-Naphthalenone en un 5.64%, continuamente al d-α-Pinene se encontró en un 5.14%, adicionalmente se identifico el Sabinene en un 4.48% y se obtuvo al α-Thujene en un 4.35%, finalmente los 42 compuestos volátiles restante se encontraron en menos del 2%.

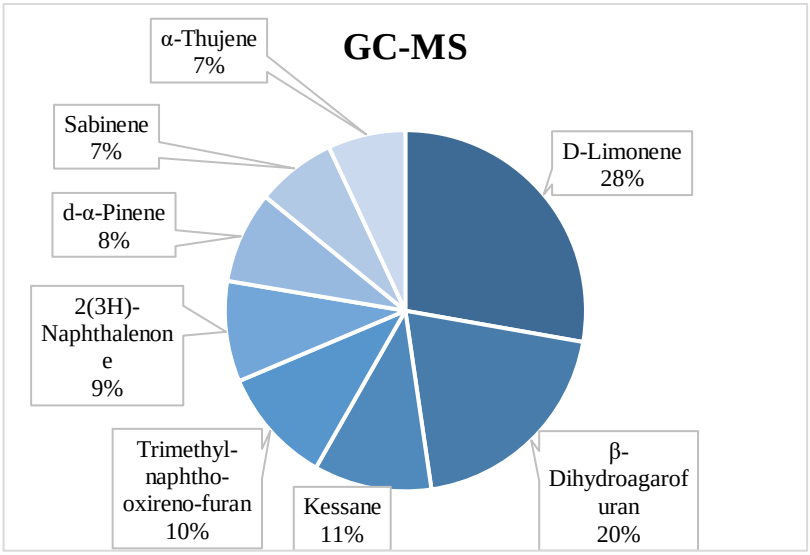
Ramos *et al*. (2020) quienes investigaron la caracterizaron de aceite esenciales de cinco géneros de *Baccharis* spp, en Bolivia, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), encontraron un total de 44 compuestos volátiles presente en el aceite esencial de *Baccharis latifolia*, de los

cuales el Cadinene se identificó en mayor porcentaje con un 10.23%, siguiéndole el Pinene con un 6.27%, posteriormente el α-Thujene con un 6.18%, los otros compuestos restantes se encontraron en menor porcentaje.

Budel *et al.* (2018) quienes investigaron a los aceites esenciales de cinco especies de *Baccharis*: investigaciones sobre la composición química y las actividades biológicas, encontró que en el género *Baccharis* es rico en monoterpenoides y sesquiterpenoides, en un 60.78% y un 41.66% respectivamente, demás identificaron los siguientes compuestos; α-tujeno, β-cariofileno, β-pineno, alcanfor, cariofileno, óxido de cariofileno, limoneno, nerolidol, timol, acetato de timol, éter metílico de timol, sabineno, espatulenol. α-pineno, β-pineno, limoneno, trans-pinocarveol, pinocarvona, myrtenal, α-terpineol, cis-carveol, carvona, β-selineno, δ-cadineno, espatulenol y δ-cadinol.

Figura 7.

Compuestos volátiles de mayor porcentaje presente en el aceite esencial de Chilca (Baccharis latifolia) obtenido mediante destilación de arrastre por vapor.



Nota. Los compuestos volátiles fueron identificados con la Librería NIST14. L.

Comparativamente son resultados similares a los obtenidos en la presente investigación, concordando que la Chilca (*Baccharis latifolia*) es rica en monoterpenos y sesquiterpenos, sin embargo, la concentración de cada uno de ellos es muy variable debido a las condiciones intrínsecas de la planta y del ambiente donde se encuentran y condiciones de procesamiento.

4.2. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

De acuerdo al análisis de varianza realizado a partir de las medidas de los halos inhibición registrados de los ensayos antimicrobianos, inferimos que el aceite esencial de Chilca (*Baccharis latifolia*), provoca diversos grados de inhibición bacteriana, los cuales dependerán del género de la bacteria en estudio, determinando en base a esta experimentación la proporcionalidad de cepas resistentes y sensibles lo que nos conduce a rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna la misma que estipula que; Existe actividad antimicrobiana de Chilca (*Baccharis latifolia*) frente a bacterias Gram positivas causantes de mastitis bovina.

CAPÍTULO V

5.1. CONCLUSIONES

En el ensayo del rendimiento del aceite esencial de Chilca mediante destilación con arrastre por vapor, se determinó que por cada 230 g de material vegetal se logra obtener 3.84 mL de aceite esencial en promedio, estimando un rendimiento de 1.67%.

Los resultados del análisis estadístico determinaron diferencias estadísticas significativas ($P<0.0001$ **) entre las concentraciones probadas, las cuales propiciaron que la actividad antibacteriana fuese diferente sobre las bacterias en estudio, demostrando que *S. aureus* fue en su totalidad sensible a las concentraciones del 100% y 50%, mientras que *Bacillus* spp., fue completamente sensible a la concentración del 100%, y en un 90% resistentes al 50% infiriendo que solamente el 10% de los aislados de esta especie bacteriana presentaron sensibilidad, finalmente *Streptococcus* spp., presentó resistencia total a todas las concentraciones del aceite esencial de Chilca probadas.

Mediante el estudio cromatográfico (GC-MS) se logró identificar 8 agentes químicamente activos que representan la mayor área detectada, siendo estos el 62.52% de los compuestos identificados, a los que se les otorga la actividad antibacteriana en la presente investigación, entre los compuestos se destacan el Limonene con una determinación del 17.36% considerado como el de mayor contenido presente en el aceite esencial de Chilca, siguiéndole el β-Dihydroagarofuran observado en un 12.45%, y finalmente los 42 agentes bioquímicos se encontraron en menos del 2%.

5.2. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas *in vitro* de la actividad antifúngica del aceite esencial de Chilca (*Baccharis latifolia*).

Aplicar una rehidratación de las hojas de chilca por 24 horas previas al proceso de destilación de arrastre con vapor.

Usar la concentración del 100% para inhibir el crecimiento de *S. aureus* y *Bacillus* spp., causante de mastitis bovina.

Estudiar por medio de pruebas in vivo otras participaciones beneficiosas del aceite esencial de Chilca.

Efectuar pruebas in vitro de actividad antimicrobiana para medir la sinergia del aceite esencial de Chilca con antibióticos usados en la mastitis bovina, mediante el método difusión de disco.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, Z., Jarramillo, N., & Quizhpe, W. (2019). Arvenses asociadas a cultivos y pastizales del Ecuador.

Araten, A., Brooks, R., Choi, S., Esguerra, L., Savchyn, D., Wu, E., . . . Brynildsen, M. (2024). Cephalosporin resistance, tolerance, and approaches to improve their activities. *The journal of antibiotics*, 17(3), 135–146.

Asadpour, R., Zangiband, P., Nofouzi, K., & Saberivand, A. (2021). Differential expression of antioxidant genes during clinical mastitis of cow caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli. Veterinarski Arhiv*, 91(5), 451-458. Doi: 10.24099/vet.arhiv.1000.

Ashraf, A., & Imran, M. (2018). Diagnosis of bovine mastitis: from laboratory to farm. *Trop Anim Health Prod*, 50(6), 1193-1202. Doi: 10.1007/s11250-018-1629-0.

Balemi, A., Gumi, B., Amenu, K., Girma, S., Gebru, M., Tekle, M., . . . Kerro, O. (2021). Prevalence of Mastitis and Antibiotic Resistance of Bacterial Isolates from CMT Positive Milk Samples Obtained from Dairy Cows, Camels, and Goats in Two Pastoral Districts in Southern Ethiopia. *Animals*, 11(6), 1530; Doi: https://doi.org/10.3390/ani11061530.

Baraco, J. (2019). Infections Caused by Group C and G *Streptococcus* (*Streptococcus dysgalactiae* subsp. equisimilis and Others): Epidemiological and Clinical Aspects. American, *Society for Microbiology.*

Baya, F. T. (2020). Antimicrobial and antioxidant effect of natural extracts from leaves, root, stem and flowers of *Baccharis latifolia* From Ecuador. *International journal of current pharmaceutical research*, 12(2), 78-84.

Bayas-Morejón, F., Tigre, A., Ramon, R., & Yanez, D. (2020). Antimicrobial and antioxidant effect of natural extracts from leaves, root, stem and flowers of *Baccharis latifolia* from Ecuador. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 12(2), 78-84. Doi: http://dx.doi.org/10.22159/ijcpr.2020v12i2.37495.

Bayas, F., Riveliño, R., García, M., & Mite, G. (2020). Antibacterial and antioxidant effect of natural extracts from *Baccharis latifolia* (chilca). *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 18(5), 489-493.

Becker, J., Rohles, M., & Wittmann, C. (2018). Metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum* for bio-based production of chemicals, fuels, materials, and healthcare products. *Metabolic Engineering*, 50, 122-141. Doi: https://doi.org/10.1016/j.ymben.2018.07.008.

Bochniarz, M., Kocki, T., Dąbrowski, R., Szczubiał, M., Wawron, W., & Turski, A. (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), 1491-1497. Doi: https://doi.org/10.1111/rda.13299.

Budel, J., Wang, M., Raman, V., Zhao, J., Khan, S., Rehman, J., . . . Khan, I. (2018). Essential Oils of Five Baccharis Species: Investigations on the Chemical Composition and Biological Activities. *Molecules*, 23, 2620. Doi: 10.3390/molecules23102620.

Calle, D., Gamboa, M., & Álvares, E. (2021). Resistencia a antibióticos betalactámicos: situación actual y nuevas estrategias. *RD ICUAP*, 8(22), 13-24. Doi: https://doi.org/10.32399/icuap.rdic.2448-5829.2022.22.682.

Cortinhas , C., Fidelis, C., Sharma, N., & Veiga dos Santos, M. (2023). The Association between Socioeconomic Profiles, Attitudes, and Knowledge of Dairy Farmers Regarding Somatic Cell Count and Milk Quality. *Animals*, 13(17), 2787.

Duque, P., Velasco, J., Ceballos, A., López, C., & Carmona, J. (2021). Intramammary treatment using allogeneic pure platelet-rich plasma in cows with subclinical mastitis caused by Gram-positive bacteria. *Nature Scientific reports*, 11(23737), 1-14. Doi: | https://doi.org/10.1038/s41598-021-03067-4.

Duraffourd, C., Lapraz, J., & Hervicourt, L. (1987). Cuadernos de fitoterapia clínica (Vol. Primera edición). Barcelona: MASSON S.A.

El-Sayed, A., & Kamel, M. (2021). Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 1 -16.

Fessia, A., & Odierno, L. (2021). Potential factors involved in the early pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis: a review. *Folia Microbiol*, 66, 509-523. Doi: https://doi.org/10.1007/s12223-021-00879-9.

Furfaro, L., Chang, B., & Payne, M. (2018). Perinatal *Streptococcus agalactiae* Epidemiology and Surveillance Targets. *Clin Microbiol Rev*, 31(e00049-18), 1-18. Doi: https://doi.org/10.1128/cmr.00049-18.

Gadea, R., & al., e. (2017). Effects of exposure to quaternary-ammonium-based biocides on antimicrobial susceptibility and tolerance to physical stresses in bacteria from organic foods. *Food microbiol*, 63, 58-71.

Gelgie, A., Korsa, M., & Kerro, O. (2022). *Mycoplasma bovis* Mastitis. *Current Research in Microbial Sciences*, 3(100123), 1-7. Doi: https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100123.

Gomez, L., Rodriguez-Lecompte, J., & Olivera-Angel, M. (2020). Respuesta inmune innata de la glándula mamaria. En La Lactancia vista desde múltiples enfoques. *Colombia: Fondo Editorial Biogénesis*.

Gonzáles, Z., Zapata, S., Guerrero, H., Suárez, P., & Cardona, M. (2019). *Klebsiella pneumoniae* and *Streptococcus agalactiae*: Passengers in the sperm travel. *Archivos Españoles de Urología*, 72(29), 939-947. Doi: https://europepmc.org/article/med/31697255.

Guio, J., Cruz, A., & Pérez, J. (2016). Granulomatous mastitis: Clinical presentation, radiographical and histological. Case series. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 25(4), 235-240. Doi: https://doi.org/10.1016/j.reper.2016.11.003.

Gussmann, M., Steeneveld, W., Krikeby, C., Hageveen, H., Nielen, M., Farre, M., & Halasa, T. (2019). Economic and epidemiological impact of different intervention strategies for clinical contagious mastitis. *Journal of Dairy Science*, 102(2), 1483-1493. Doi: https://doi.org/10.3168/jds.2018-14939.

Guzman, M. (2018). efecto de los compuestos fenólicos totales del extracto etanólico de la *Baccharis genistelloides* sobre *Streptococcus mutans*. *Tesis de pregrado. Universidad Regional Autónoma De Los Andes.*

Hamon, A., Bastides, F., & Lefort, A. (2021). Betalactámicos. EMC - *Tratado de Medicina*, 25(2), 1-7. Doi: https://doi.org/10.1016/S1636-5410(21)45119-6.

Herrera, F., Quimis, P., Sorroza, N., García, L., Mariscal, S., & Mariscal, R. (2017). Determinación de taninos y cumarinas presente en la planta tres filos. *Polo del conocimiento*, 2(7), 500-522.

Hincapié, M., García, J., Gómez, D., Mejía, L., Holguín, A., Uribe, P., Berrouet, M. (2021). Reacciones adversas a betalactámicos: una revisión de tema. *Medicina U.P.B*, 40(1), 55-64. Doi: https://doi.org/10.18566/medupb.v40n1.a08.

Holdridge, L. (1971). Sistema de zonas de vida. En L. Holdridge.

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (2021). Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. *Obtenido de INAMHI*: https://www.inamhi.gob.ec/

Jacob, P., Leal, S., de Lima, H., Dors, G., & da Silva, P. (2020). Bacteria from bovine mastitis: survey and literature review. *En Congresso International Da Agroindustria.*

Jong, E., McCubbin, K., Speksnijder, D., Dufour, S., Middleton, J., Ruegg, P., Krömker, V. (2023). Invited review: Selective treatment of clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 106(6), 3761-3778.

Juliana FM Mendonça1, M. A. (2018). Prevalence Reduction of Contagious Mastitis Pathogens in a Holstein Dairy Herd Under Tropical Conditions. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 9(1), 1-3. Doi: 10.4172/2157-7579.1000497.

Kabelitz, T. A. (2021). The Role of *Streptococcus* spp. in Bovine Mastitis. *Microorganisms*,9(7), 1497. Doi: https://doi.org/10.3390/microorganisms9071497.

Kalińska, A. W. (2018). Occurrence and aetiology of *Staphylococcal* mastitis – a review*. *Animal Science Papers and Reports*, 36(3), 263-273. URL: https://www.igbzpan.pl/uploaded/FSiBundleContentBlockBundleEntityTranslatableBlockTranslatableFilesElement/filePath/1186/str263-274.pdf.

Käppeli, N., Morach, M., Zurfluh, K., Corti, S., Nüesch-Inderbinen, M., & Stephan, R. (2019). Sequence Types and Antimicrobial Resistance Profiles of *Streptococcus*

uberis Isolated From Bovine Mastitis. *Frontier in Veterinaria. Science.*, 6(234), 1-7. Doi: 10.3389/fvets.2019.00234.

Kayitsinga, J., Schewe, L., Contreras, G., & Erskine, R. (2017). Antimicrobial treatment of clinical mastitis in the eastern United States: The influence of dairy farmers' mastitis management and treatment behavior and attitudes. *Journal of Dairy Science,* 100(2), 388-1407. Doi: https://doi.org/10.3168/jds.2016-11708.

Kim, H., Min, Y., & Choi, B. (2019). Real-time temperature monitoring for the early detection of mastitis in dairy cattle: Methods and case researches. *Computers and Electronics in Agriculture*, 162, 119-125. Doi: https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.04.004.

Mosquera, M. (2018). Aplicación de métodos de laboratorio para el aprovechamiento de las hojas de Chilca (*Baccharis latifolia*), en el diseño de un producto agroindustrial. *Tesis de pregrado. La Universidad de las Américas*.

Motaung, T., Petrovski, K., Petzer, I.-M., Thekisoe, O., & Toi, T. (2017). Importance of bovine mastitis in Africa. *Animal Health Research Reviews*, 18(1), 58-59. Doi: https://doi.org/10.1017/S1466252317000032.

Mushtaq, S., & Aabid Manzoor Shah a, A. S. (2018). Bovine mastitis: An appraisal of its alternative herbal cure. *Microbial Pathogenesis*, 114, 357-361. Doi: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.024.

Naranjo, A., & Slowey , R. (2023). Invited review: Antimicrobial resistance in bovine mastitis pathogens: A review of genetic determinants and prevalence of resistance in European countries. *Journal of Dairy Science,* 106(1), 1 - 23.

Narváez, J., Daza, C., Valencia, C., Hurtado, D., & Acosta, D. (2022). Métodos de diagnóstico de mastitis subclínica en leche bovina: una visión general. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 75(3), 10077-10088.

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

Neder, V. C. (2021). Identificación de agentes patógenos causantes de mastitis bovina proveniente de diferentes provincias de Argentina. *Congreso de*

Microbiología Veterinaria (*CMV*), 1(1), 343-345. Doi: https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/122691.

Oliveira, A. R. (2022). Termografía infrarroja como técnica de detección de mastitis bovina subclínica. *Archivo Brasileño de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 74(6), pp. 992 - 998.

Orsi , H., Guimarães , F., Domingos , S., Ribeiro , M., Langoni , H., & Rall, V. (2023). Characterization of mammary pathogenic *Escherichia coli* reveals the diversity of *Escherichia coli* isolates ossociated with bovine clinical mastitis in Brazil. *Journal of Dairy Science*, 106(2), 1403-1413.

Ortega, T., Acosta , A., Bandeira , R., Fernandes , P., de Moraes , R., Torres , E., Mota, R. (2023). Ocurrence of extended-spectrum B-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in raw milk from cows with subclinical mastitis in northeast Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54, 1303-1307.

Pakrashi, A., Ryan, C., Guéret , C., Berry, D., Corcoran , M., Keane, M., & Namee, B. (2023). Early detection of subclinical mastitis in lactating dairy cows using cow-level features. *Journal of Dairy Science*, 4978-4990.

Paniagua, Z., Bussmann, R., Romero, C., & Echeverría, J. (2020). *Baccharis latifolia* (Ruiz. & Pav.) Pers. Asteraceae. *etnobotany of mountain regions*, 1-6.

Plumb, D. C. (2017). Manual de farmacología veterinaria (Vol. Octava edición). Buenos aires, República Argentina: *Inter-medica*.

Prada, J., Orduz-Dieaz, L., & Coy-Barrera, E. (2016). *Baccharis latifolia.* A loely-valued asteraceous plant with chemical and medicinal potential in neotropics. *Revista facultad de ciencias básicas*, universidad militar nueva granada, 12, 92-105.

Ramos, S., Tarqui, S., Gutiérrez, E., Oña, E., Flores, Y., & Almanza, G. (2020). Comparative characterizing analysis of essential oils of five species of the genus *Baccharis*, collected in three counties at La Paz, Bolivía. *Revista Boliviana de Química*, 37(1), 01-11. Doi: 10.34098/2078-3949.37.1.1.

Riveros, D., & Obando, M. (2021). Mastitis, recuento de células somáticas y su impacto en la calidad de los productos lácteos… ¿Una omisión en Colombia? Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 34(4), 241-253.

Rojas, J., Velasco, J., Rojas, L., Díaz, T., Carmona, J., & Morales, A. (2007). Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Baccharis latifolia* Pers. and *B. prunifolia* H. B. &K. (Asteraceae). *Natural Product Communications*, 2(12), 1245-1248.

Ruegg, P. (2017). Una revisión de 100 años: detección, manejo y prevención de mastitis. *Journal of dairy Science*, 100(12), 10381-10397.

Sarma, O., & Hussain, J. (2021). Bovine Mastitis: An Overview. *Vigyan Varta International*, 2(2), 54 - 59.

Shoaib, M., Aqib, A., Naseer, M., Bhutta, Z., PU, W., Tanveer, Q., Hammad, M. (2022). Etiology of bovine mastitis. En D. Oudessa, Mastitis in Dairy Cattle, Sheep and Goats (págs. 67 - 84). *Ethiopia: IntechOpen*.

Sierra, S., Barros, A., Gómez, D., Mejía, T., & Suárez, R. (2018). Productos Naturales: Metabolitos Secundarios Y Aceites Esenciales. *Fundación Universitaria Agraria de Colombia UNIAGRARIA.*

Smith, K., Batista, C., de Mattos, M., Quirino, M., & Cabrera, A. (2024). Treatment of non-severe mastitis in Brazilian dairy cows: a comparative study between amoxicillin-clavulanic acid and a conventional protocol. *Microbiology, Ciência Rural*, 54(10), e20230387.

Tomanić, D., Samardzija, M., & Kovačević, Z. (2023). Alternatives to antimicrobial treatment in bovine mastitis therapy: A review. *Antibiotics*, 12(4), 683.

Valarezo, E., Rosillo, M., Cartuche, L., Malagón, O., Meneses, M., Morocho, V., & Chemical composition, a. a. (2013). Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) from Loja, Ecuador. *The Journal of Essential Oil Research*, 25(3), 233-238.

Yalazoglu, D., & Ski, P. (2019). Estimación por métodos cuantitativos del efecto de la mastitis subclínica en vacas sobre algunos rasgos de producción de leche con puntuació CMT. *Revista veterinaria Van*, 30(3), 177 - 182.

ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación de la investigación



Nota. Obtenido de Google maps, 2023

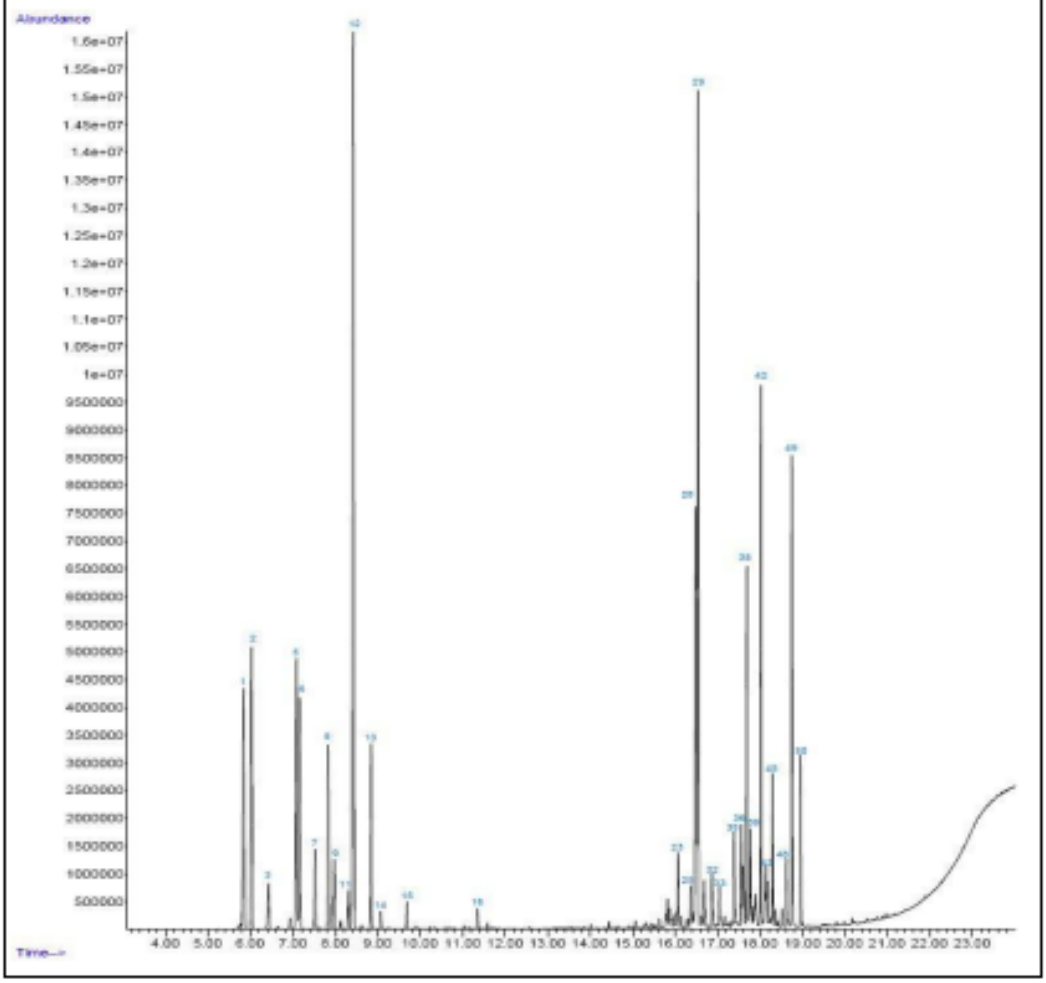
Anexo 2. Resultados de los compuestos volátiles

UEB VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto 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 4

INFORME DE ENSAYOS Nº178-2024

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Ruth Estefanía Escobar Medina
Muestra	Aceite esencial de chilca *(Baccharis latifolia)*
Código asignado UEB	INV 156
tado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco vidrio color ámbar con aprox. 10 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** split 50:1; **Programa térmico:** Temperatura del horno 60 °C durante 5 minutos, se incrementó de 60 °C a 180 °C a razón de 10 °C/min; posteriormente la temperatura se elevó de 180 °C a 300 °C a razón de 20 °C/min durante 1 minuto. **Temperatura del detector:** 260 °C **Tiempo total de corrida**: 24 minutos

N°	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	5,835	4,35
2	(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	6,025	5,14
3	Camphene	6,424	0,85
4	Cyclopentanol, 1-methyl-	6,933	0,19
5	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	7,083	4,48
6	Cyclohexene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	7,157	3,72
7	.beta.-Myrcene	7,522	1,24
8	.alpha.-Phellandrene	7,835	2,79
9	3-Carene	7,974	1,08
10	1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	8,127	0,13
11	o-Cymene	8,311	0,60
12	D-Limonene	8,422	17,36
13	.beta.-Ocimene	8,843	2,54
14	.gamma.-Terpinene	9,069	0,24
15	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	9,682	0,38
16	Terpinen-4-ol	11,350	0,28
17	12-Methyl-oxa-cyclododecan-2-one	15,630	0,15
18	1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohexa-1,3-diene	15,782	0,22

19	isoledene	15,821	0,41
20	Germacrene D	15,871	0,28
21	2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octahydro-2,2,5a,9-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,5a.alpha.,9.alpha.,9a.alpha.)]-	15,979	0,21
22	(3S,3aR,3bR,4S,7R,7aR)-4-Isopropyl-3,7-dimethyloctahydro-1H-cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzen-3-ol	16,034	0,19
23	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	16,068	1,11
24	.beta.-Bisabolene	16,149	0,19
25	(3R,3aR,3bR,4S,7R,7aR)-4-Isopropyl-3,7-dimethyloctahydro-1H-cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzen-3-ol	16,296	0,23
26	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	16,370	0,63
27	(E)-2-((8R,8aS)-8,8a-Dimethyl-3,4,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-2(1H)-ylidene)propan-1-ol	16,417	0,23
28	Kessane	16,487	6,60
29	2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octahydro-2,2,5a,9-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,5a.alpha.,9.alpha.,9a.alpha.)]-	16,543	12,45
30	.alpha.-Calacorene	16,627	0,30
31	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	16,687	0,74
32	cis-.alpha.-Copaene-8-ol	16,870	0,83
33	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	17,043	0,73
34	Alloaromadendrene	17,162	0,19
35	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,7b.alpha.)]-	17,392	1,30
36	Isolongifolene, 9,10-dehydro-	17,559	1,31
37	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,7b.alpha.)]-	17,599	0,87
38	Copaene	17,688	4,62
39	Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-(.+/-.)-	17,774	1,49
40	Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-(.+/-.)-	17,835	0,28
41	Silphiperfola-4,7(14)-diene	17,904	0,84

42	2aS,3aR,5aS,9bR)-2a,5a,9-Trimethyl-2a,4,5,5a,6,7,8,9b-octahydro-2H-naphtho[1,2-b]oxireno[2,3-c]furan	18,024	6,49
43	.alpha.-Bisabolol	18,141	1,04
44	.beta.-Guaiene	18,171	0,57
45	5(1H)-Azulenone, 2,4,6,7,8,8a-hexahydro-3,8-dimethyl-4-(1-methylethylidene)-, (8S-cis)-	18,296	1,62
46	(3aR,4R,7R)-1,4,9,9-Tetramethyl-3,4,5,6,7,8-hexahydro-2H-3a,7-methanoazulen-2-one	18,367	0,22
47	9-Methyl-S-octahydroanthracene	18,517	0,25
48	1-Acetyl-4,6,8-trimethylazulene	18,622	0,70
49	(4aR,5S)-1-Hydroxy-4a,5-dimethyl-3-(propan-2-ylidene)-4,4a,5,6-tetrahydronaphthalen-2(3H)-one	18,749	5,64
50	Azulen-2-ol, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	18,957	1,70

Los compuestos fueron identificados con la Libreria NIST14. L.

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

Anexo 3. Base de datos

REPETICIÓN # 1 DEL ANTIBIOGRAMA									
REPETICIÓN	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	20	16	21	19	5	17	10	1	7
2	22	17	22	20	5	19	11	2	8
3	21	15	20	18	8	17	10	1	7
4	24	16	21	21	7	19	11	1	9
5	24	15	22	19	5	18	9	1	8
6	21	17	23	19	8	16	9	2	6
7	22	15	22	22	6	19	9	1	8
8	22	16	21	20	8	18	9	2	9
9	20	17	20	22	6	18	9	2	9
10	23	18	21	21	7	17	9	1	9

REPETICIÓN # 2 DEL ANTIBIOGRAMA									
REPESTICION	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	21	15	20	17	7	18	11	1	8
2	22	15	20	18	6	16	10	2	8
3	20	19	22	19	7	16	11	1	8
4	20	14	23	19	7	17	10	1	7
5	22	17	25	20	7	18	10	1	7
6	24	15	24	21	6	16	10	2	7
7	21	16	23	22	6	18	10	1	9
8	19	18	20	20	7	17	11	2	9
9	21	15	22	21	6	15	9	2	8
10	19	16	22	20	8	16	9	1	8

REPETICIÓN # 3 DEL ANTIBIOGRAMA									
REPETICIÓN	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	19	14	18	19	4	15	9	1	7
2	18	14	19	20	7	18	9	2	6
3	19	16	20	18	6	19	9	1	8
4	21	14	22	21	6	18	9	1	9
5	21	15	21	19	5	17	9	1	9
6	22	16	20	19	7	16	9	2	9
7	20	16	19	22	5	18	9	1	9
8	21	15	20	20	4	16	10	2	9
9	20	15	22	22	8	17	10	2	9
10	20	17	22	21	7	16	11	1	9

Anexo 4. Fotografías de la investigación



Foto 1. Recolección del material vegetal



Foto 2. Destilación y obtención del aceite esencial



Foto 3. Recolección del aceite esencial



Foto 4. Bacterias ene studio



Foto 5. Agares usados en la investigación

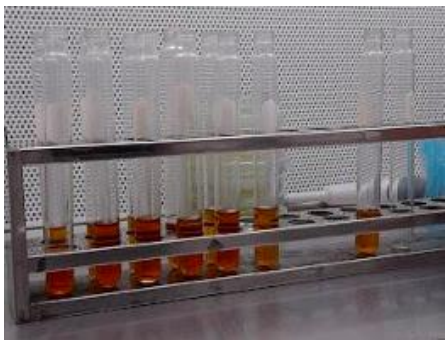


Foto 6. Agares usados en la investigación



Foto 7. Preparación de los Agares usados en la investigación

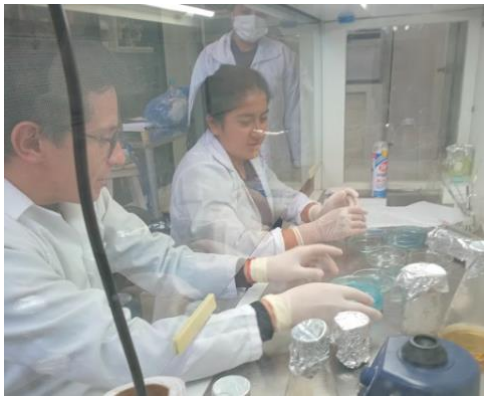


Foto 8. Tutoría por parte del Tutor de tesis.

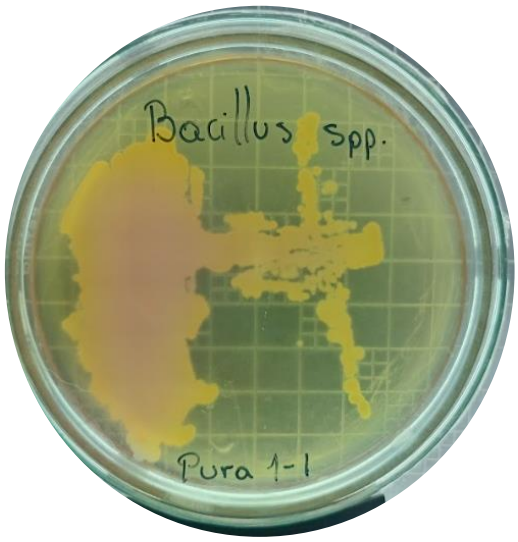


Foto 9. Cepa bacteriana



Foto 10. Cepa bacteriana



Foto 11. Tinción de Gram

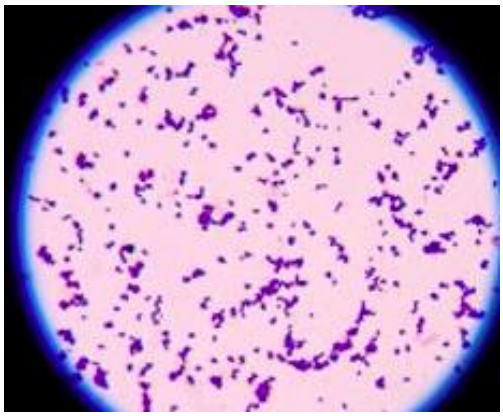


Foto 12. Tinción de Gram



Foto 13. Antibiograma



Foto 14. Antibiograma

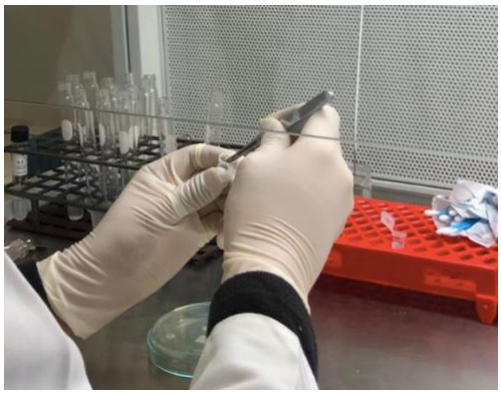


Foto 15. Antibiograma

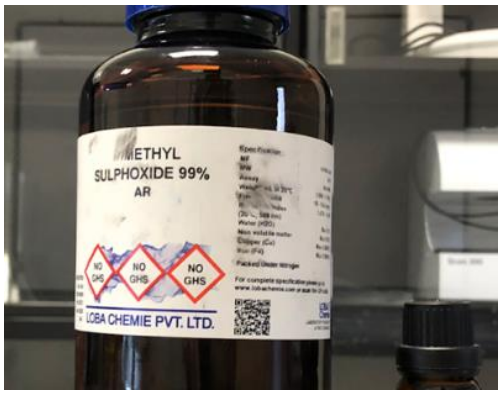


Foto 16. Antibiograma

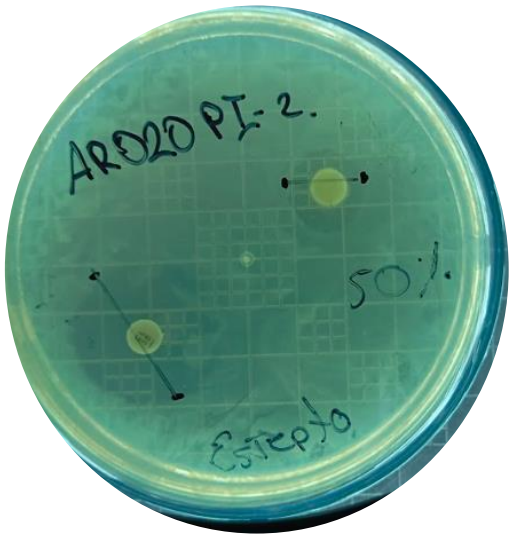


Foto 17. *Staphylococcus aureus* con el aciete al 50%

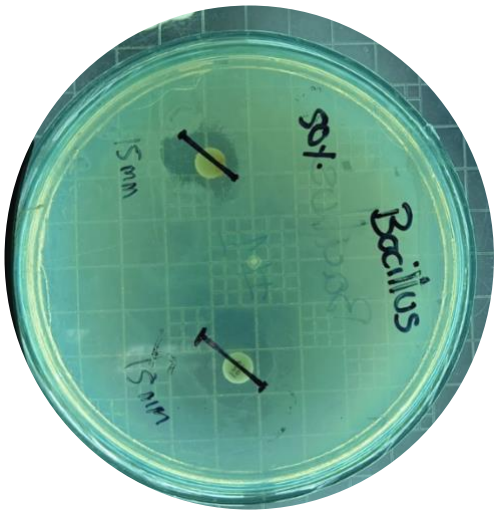


Foto 18. *Bacillus* con el aceite al 50%

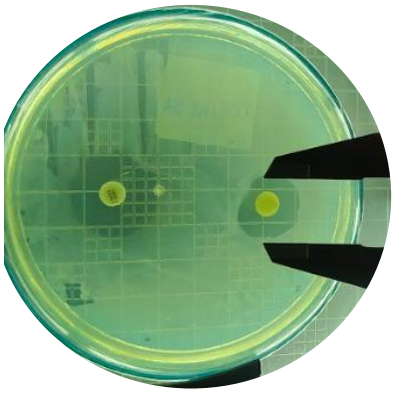


Foto 19. *Staphylococcus aureus* con el aceite esencial al 100%

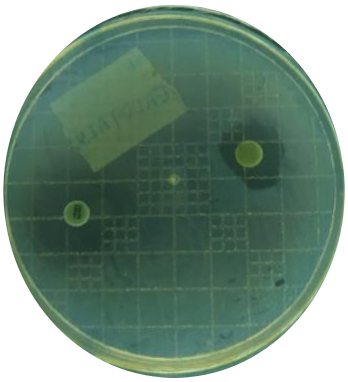


Foto 20. *Streptococcus spp.*, con el aceite esencial al 100%

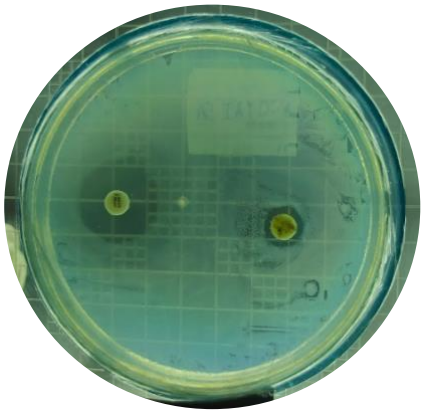


Foto 21. *Streptococcus spp.*, con el aceite esencial al 50%

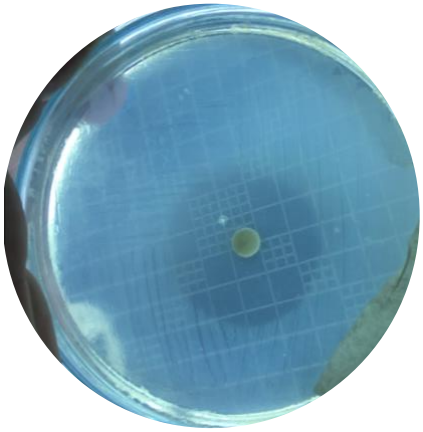


Foto 22. *Bacillus* con el aceite esencial al 100%

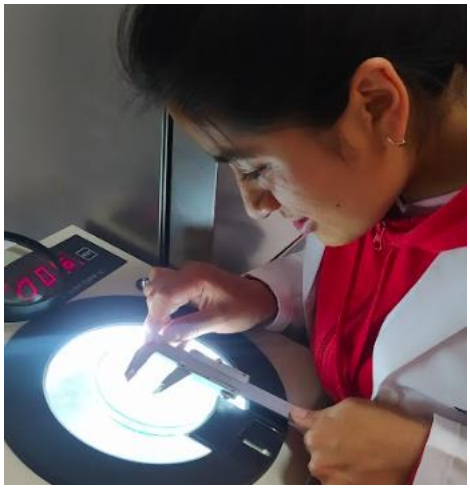


Foto 23. Toma de resultados



Foto 24. Tutorías por parte del tutor

Anexo 5. *Glosario de términos*

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

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

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

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

BACTERIA: Las bacterias son microorganismos procariotas que presentan un 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.

CITRATOASAS : Sistema de enzimas que convierten al acetato (proveniente de la descarboxilación del piruvato o de la βoxidación de los ácidos grasos) en CO2 con la liberación de átomos de hidrógeno, acarreados por los transportadores hacia la cadena respiratoria.

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

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

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

GRAM NEGATIVOSTIVA: 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 POSITIVOS: 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.

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

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