
Actividad antimicrobiana de *Taraxacum officinale* sobre cepas bacterianas causantes de mastitis bovina: Evaluación in vitro

Antimicrobial activity of *Taraxacum officinale* on bacterial strains that cause bovine mastitis: In vitro evaluation

Nathalie del Consuelo Campos Murillo¹, Yessenia Maricela Montaña Gualán².

¹ Universidad Católica de Cuenca.

<https://orcid.org/0000-0003-2707-3376>

² Universidad Católica de Cuenca.

<https://orcid.org/0000-0002-4078-4781>

Correspondencia:

Nathalie del Consuelo, Campos Murillo. Universidad Católica de Cuenca - Ecuador.
ncampos@ucacue.edu.ec

RESUMEN

En la actualidad, los avances científicos y tecnológicos han permitido realizar estudios de las especies vegetales que incrementen al desarrollo farmacéutico de nuevos medicamentos que conlleven a contrarrestar la problemática que ha generado el mal uso de los fármacos y crear una resistencia antibiótica. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de *Taraxacum officinale* sobre cepas bacterianas causantes de mastitis bovina frente a cepas bacterianas certificadas ATCC. Se realizó un estudio con dos tipos de obtención de extractos de la planta por percolación y Soxhlet, aplicando el método de difusión en disco frente a las cepas *E. coli*, *S. aureus* y *S. agalactiae* encontradas en muestras de leche y las cepas certificadas. Como resultado, para determinar la actividad antimicrobiana se trabajó con una orden decreciente de concentración al 100 %, 20 %, 15 %, 10 % y 5 %. El extracto de las hojas de *Taraxacum officinale* presentó un efecto antimicrobiano sobre *E. coli* al producir una inhibición total en el crecimiento bacteriano, sin embargo, no presentó actividad antimicrobiana frente a las cepas *S. aureus* y *S. agalactiae*. En conclusión acorde a los resultados obtenidos, se llevó a cabo la aplicación de concentraciones inferiores de los extractos al 0,001 %, 0,01 %, 0,1 % 0,5 % y 1 % para determinar la concentración mínima inhibitoria frente a *E. coli*, pues ante esta actividad se puede considerar que el vegetal posee una fuente importante de compuestos con actividad antimicrobiana, presentando una concentración mínima inhibitoria del 0,01 %.

Palabras clave: *Taraxacum officinale*, Diente de león, *E. coli*, *S. aureus*, *S. agalactiae*

ABSTRACT

Nowadays, scientific and technological advances have made it possible to carry out studies on plant species that increase the pharmaceutical development of new drugs that counteract the problems caused by the misuse of drugs and the creation of antibiotic resistance. The aim of this study was to evaluate the in vitro antimicrobial activity of *Taraxacum officinale* on bacterial strains causing bovine mastitis against certified ATCC bacterial strains. A study was carried out with two types of plant extracts obtained by percolation and Soxhlet, applying the disc diffusion method against *E. coli*, *S. aureus* and *S. agalactiae* strains found in milk samples and the certified strains. As a result, to determine the antimicrobial activity, a decreasing order of concentration at 100 %, 20 %, 15 %, 10 % and 5 % was used. The extract of *Taraxacum officinale* leaves showed an antimicrobial effect on *E. coli* by producing a total inhibition of bacterial growth, however, it did not show antimicrobial activity against *S. aureus* and *S. agalactiae* strains. In conclusion, according to the results obtained, the application of lower concentrations of the extracts at 0.001 %, 0.01 %, 0.1 %, 0.5 % and 1 % was carried out to determine the minimum inhibitory concentration against *E. coli*, since in view of this activity it can be considered that the plant has an important source of compounds with antimicrobial activity, presenting a minimum inhibitory concentration of 0.01 %.

Keywords: *Taraxacum officinale*, Dandelion, *E. coli*, *S. aureus*, *S. agalactiae*

I. INTRODUCCIÓN

Antes del siglo XX, los productos naturales ocuparon el primer lugar para tratamiento de diversas enfermedades, sin embargo, poco a poco fueron desplazados por la industria farmacéutica para el desarrollo de drogas sintéticas, en particular por la producción industrial de antibióticos (Azuelo, 2015). Las propiedades curativas de las plantas medicinales actúan de manera natural, la cual busca tener efectos sin causar agresiones al organismo, cumpliendo la función de estimulación de defensas en lugar de reemplazarlas y que sea de manera eficaz, prolongada y sin generar efectos secundarios (Ayala, 2019).

Hoy en día los avances científicos y la tecnología, permiten estudiar los principios activos de plantas medicinales que vienen siendo utilizadas desde tiempos remotos, situación que nos acerca a solucionar problemas en el campo de la salud (Ramos, 2013); puesto que existe la tendencia marcada del uso irracional de antibióticos con destino farmacéutico y como promotores de crecimiento, situación que obligo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a prohibir el uso de los antibióticos promotores de crecimiento (APC) debido a la resistencia antibacteriana que estos generan y al daño que causan en salud pública (Shiva, y otros, 2012).

Por lo tanto, en los últimos años, la sociedad ha experimentado de manera general el retorno y empleo de la medicina ancestral para curar o aliviar enfermedades de origen infeccioso, siendo los pioneros los fitofármacos por sus principios activos, inocuos y eficaces, bajos índices de toxicidad y costos reducidos a diferencia de los productos sintéticos (Gallegos, 2016).

Considerando lo antes mencionado, el objetivo del presente estudio es determinar si *Taraxacum officinale* presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias causantes de mastitis subclínica bovina como *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Escherichia coli*.

Fundamento teórico

La mastitis subclínica en la mayoría de sistemas de producción lechera genera pérdidas económicas cuantiosas debido a daños en la glándula mamaria que genera pérdida de leche por incremento en el recuento de células somáticas, estableciendo un impacto negativo en la producción, bienestar animal y la calidad de leche destinado al consumo humano (Coronel y Espinoza, 2017). La resistencia antimicrobiana que han desarrollado las bacterias lleva consigo una limitante en el control y tratamiento de las principales bacterias tales como, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*, causantes de mastitis subclínica, motivo por el cual se incentiva a investigaciones en el ámbito de la Fito farmacología que ayuden a disminuir la ineficacia que han generado las mutaciones bacterianas, así lo indica (Martínez, Cruz y Moreno, 2013).

La mastitis subclínica es muy prevalente, siendo 15 a 40 veces más representativa que la mastitis clínica, estadísticamente, constituye hasta un 75 % de pérdidas económicas en la producción lechera, la patología no se detecta fácilmente por medio del examen visual y físico (palpación), pues el animal no manifiesta signos de infección ni cambios visibles en la leche; aunque la composición láctea como pH, concentración de iones y número de células somáticas son alteradas, la enfermedad puede permanecer inadvertida por largos periodos siendo una fuente de infección para otras vacas (Almeida, 2015).

En la última década, existe un incremento en la incidencia de infecciones causadas por bacterias gram positivas como gram negativas, las mismas que presentan alta resistencia a los antimicrobianos de origen sintético, lo que representa un problema de salud pública a nivel

mundial, por otra parte, los antibióticos convencionales en numerosas investigaciones han sido considerados como cancerígenos y teratógenos por su toxicidad residual (Reaño, 2014), por ello se realizan estudios con numerosas innovaciones provenientes de la medicina complementaria con el objeto de reducir el uso de antibióticos en terapias de origen infeccioso y como promotores de crecimiento (Palomo y García, 2014).

Las plantas medicinales son excelentes fuentes para la búsqueda de nuevos fármacos con actividad antimicrobiana, considerando que los productos naturales poseen mayor diversidad molecular que la derivada de los procesos de síntesis química (Voigt, et al., 2013); por otra parte (Grosso, 2010) indica que las aplicaciones en Medicina Veterinaria de los principios activos de plantas medicinales son múltiples y poseen actividad específica (antiinflamatoria, antibacteriana, anti fúngica, antiparasitaria, diurética, colagoga, entre otras); sin embargo, es necesario que estas plantas presenten un conjunto de especificaciones que aseguren su calidad microbiológica, entre ellas deben garantizar inocuidad, es decir que se encuentren libres de microorganismos patógenos (Barros, 2015), y que no contengan residuos tóxicos que ocasionen efectos adversos o negativos en los pacientes.

El *Taraxacum officinale* (diente de león) ha sido considerado como una fuente importante de compuestos efectivos, entre ellos los hepatoprotectores utilizados para el tratamiento de la hepatitis, cirrosis, ictericia, diarrea, gota, inflamación abdominal, reumatismo, cálculos vesiculares y renales (Favari, et al., 2013), además (Castañeda y Miranda, 2018) le atribuye actividad analgésica; por lo que se concluye que varias plantas medicinales de uso ancestral en el Ecuador constituyen una fuente promisoría de compuestos químicos con diversas aplicaciones farmacológicas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el Cantón Déleg, Azuay, Ecuador. Debido a sus condiciones topográficas y altura sobre el nivel del mar, la temperatura promedio anual es de 13.45 °C. Déleg forma parte de la cuenca alta del Río Paute y su centro poblado se encuentra a una altura de 2680 m.s.n.m.

En el presente estudio se consideró una población de 1809 vacas en producción, estimando para ello una muestra de 207 UBA a partir de un intervalo de confianza del 98,9 % ($Z= 2.58$) un valor de incertidumbre ($p=0.1$) y un error experimental de 0.05. De los 828 cuartos mamarios en estudio, se obtuvieron un total de 70 vacas positivas a partir de las pruebas de campo, con un total de 90 cuartos infectados de mastitis subclínica. Se realizó un DCA para cada tipo de bacteria tomando en cuenta: 2 métodos de extracción de principios activos de *Taraxacum officinale*: Percolación- Soxhlet. 4 concentraciones diferentes de las extracciones de *Taraxacum officinale* (5 %, 10 %, 15 % y 20 %). 2 tratamientos T0: cepas certificadas ATCC de bacterias presentes en leche. T1 Bacterias Nativas de la leche positivas al CMT y TR. 3 repeticiones por cada cepa y cada concentración, para evaluar la actividad antimicrobiana y la concentración mínima inhibitoria del extracto mediante halos de inhibición en placa. Total 567 cultivos, de los cuales 72 cultivos corresponden al T0 y 495 al T1.

Obtención del extracto de *Taraxacum officinale*: Se emplearon dos métodos para la obtención del extracto de *Taraxacum officinale*: *Método por percolación*: se pesó 110.122 gr de hojas liofilizadas de *T. officinale* y se añadió 1756 ml de alcohol al 70 % se maceró durante

8 días cubiertos de la luz, al cabo de ese lapso se obtuvo 1100 ml de extracto, el mismo que fue rotaevaporado (procedimiento de combinación de baño calefactor y una generación de presión al vacío que evita la ebullición por medio de rotaciones) en la cual se trabajó a 90 rpm y con una temperatura de 78 °C para extraer el alcohol de la solución obteniendo finalmente 479 del mismo y 325 ml de extracto total. *Método Soxhlet*: se tomó 89.09 gr de materia seca de hojas de *T. officinale* secada por estufa de aire forzado a 25 °C por un lapso de 72 horas, agregando 950 ml de alcohol etílico al 96 % para el arrastre de principios activos de la muestra, se obtuvo 752 ml de extracto y se rotaevaporó a 75 °C para la extracción de alcohol, adquiriendo 14 ml de extracción total.

Purificación del extracto de *Taraxacum officinale*: Los extractos obtenidos por los métodos de percolación y *Soxhlet* fueron sometidos a un proceso de purificación mediante la técnica de filtración al vacío aplicando papel filtro de membrana acetato de celulosa de 0,2 µm para la eliminación de impurezas, posteriormente la solución se colocó en tubos estériles y fueron almacenados a una temperatura de -20 °C hasta su uso.

Toma de muestras de leche: Para la toma de muestras se seleccionó hembras bovinas que se encontraban en producción, la prueba de campo CMT se utilizó para detectar la presencia de agente causal, continuando con el empleo de la tira reactiva para el recuento de células somáticas, finalmente las muestras positivas se trasladaron al laboratorio con el fin de identificar los microorganismos causantes de mastitis bovina mediante cultivo microbiológico.

Cultivo microbiológico: Por cada cuarto afectado se realizó la siembra en tres medios de cultivo para la determinación del agente microbiano de acuerdo al crecimiento bacteriológico, es decir, se sembró en medio EMB, agar Manitol y agar Sangre, una vez finalizada la siembra, las cajas Petri se sellaron con papel parafilm y se incubó a 37 °C por 24 horas. Posterior a la incubación se procedió a dar lectura del crecimiento bacteriano analizando las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), finalmente se destinaron para la realización de antibiogramas.

Preparación de concentraciones: A los extractos purificados obtenidos por los métodos de percolación y *Soxhlet* se adicionó agua estéril ultra pura para la preparación de concentraciones al 5 %, 10 %, 15 % y 20 % los mismos que fueron almacenados en tubos estériles y conservados a -20 °C hasta el momento de su uso; posteriormente las soluciones fueron transferidas a los discos estériles marca OXOID para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana. Adicionalmente, se evaluó las concentraciones al 0,01 %, 0,1 %, 0,5 % y 1 % de los extractos obtenidos por los métodos de percolación y *Soxhlet* mediante discos de sensibilidad.

Antibiogramas: Las bacterias fueron sembradas por la técnica de siembra masiva o en césped en cajas Petri que contienen Agar Müller Hinton, este procedimiento partió de una placa de cultivo en crecimiento activo que con ayuda de un hisopo estéril, se tomó 5 colonias que fueron diluidas en 500 µl de suero fisiológico; posterior a la siembra se procedió a colocar los discos de sensibilidad que conllevó extracto de *T. officinale* en distintas concentraciones 5 %, 10 %, 15 % y 20 % realizando tres repeticiones por cada cepa bacteriana y se incubó a 37 °C por 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a la interpretación de resultados donde se evaluó la concentración mínima inhibitoria mediante el diámetro de halo de inhibición. De igual manera, se procedió a realizar antibiogramas con tres repeticiones por cada cepa bacteriana a las concentraciones de 0,01 %, 0,1 %, 0,5 % y 1 % y se evaluó según lo descrito anteriormente.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Determinación de mastitis subclínica bovina en el Cantón Déleg mediante pruebas de campo: De una población de 207 UBA, en estado de producción, se procedió al análisis de muestras de leche utilizando CMT y TR, encontrando que 70 muestras tuvieron reacción positiva a las dos pruebas de campo, determinando así una prevalencia de 33,81 % de mastitis subclínica bovina en el cantón Déleg.

Caracterización de bacterias causantes de mastitis subclínica bovina mediante métodos microbiológicos: La caracterización de las bacterias presentes en las muestras de leche en tres medios de cultivo selectivo y diferencial para su respectivo crecimiento bacteriano, se identificó *Escherichia coli* en agar EMB, *Staphylococcus aureus* en agar Manitol y *Streptococcus agalactiae* en agar Sangre acorde a las características de crecimiento de las colonias bacterianas y viraje de los medios de cultivo. Según (Rodríguez & Muñoz , 2017) en un estudio realizado manifiestan que las bacterias con mayor prevalencia en mastitis subclínica son bacterias gram negativas, entre estas las más representativas son *Escherichia coli* y *Klebsiella spp*, sin embargo, el autor aclara que existen otras bacterias que predominan y son las causantes de esta patología que ocasionan grandes pérdidas en la producción lechera, entre estas están las bacterias de los géneros *Staphylococcus sp* y *Streptococcus sp*.

Los números representan rangos de crecimiento bacteriano, así 1= sin crecimiento, 2= 0 < a 10.000 UFC, y, 3= 0 > a 10.000 UFC; para cada uno de los medios de cultivo, en el agar EMB 65 muestras que corresponden al 72 % no presentaron crecimiento, 14 muestras que corresponden al 16 % presentaron crecimiento bacteriano medio y 11 muestras, correspondiendo al 12 % presentaron alto crecimiento de *Escherichia coli*. En el agar Manitol se observó que 30 muestras no presentaron crecimiento, lo que corresponde al 33 %, 8 muestras que corresponden al 9 % presentaron crecimiento medio y 52 muestras presentaron crecimiento alto, lo que corresponde al 58 % de presencia de *Staphylococcus aureus*. Finalmente, en el agar Sangre se obtuvo 31 muestras correspondientes al 35 % que no presentaron crecimiento, 11 muestras con crecimiento medio, que corresponde al 12 % y 48 muestras correspondientes al 53 %, con alto crecimiento de *Streptococcus agalactiae*.

Relación en efectividad entre pruebas de campo CMT y TR para determinación de mastitis subclínica: La relación de la efectividad de la aplicación de las pruebas de campo CMT y TR, no existe diferencia significativa en cuanto a la determinación de la patología puesto que las dos presentan curvas de identificación similares, lo cual concuerda con (Yáñez, 2018) que afirma que el uso de CMT es la prueba de mayor aplicación para bovinos en producción en la determinación de mastitis subclínica, al igual que otros tipos de pruebas entre ellas las tiras reactivas que a comparación con CMT presentan mayor sensibilidad, sin embargo, la efectividad en la determinación de mastitis subclínica es igual para las dos pruebas de campo.

Relación de efectividad entre pruebas de campo y métodos microbiológicos: La efectividad en determinación de agentes etiológicos causantes de la mastitis bovina entre las pruebas de campo CMT y TR aplicadas de manera inmediata y, por otra parte, mediante pruebas microbiológicas realizadas en laboratorio mediante la siembra directa de muestra láctea en tres tipos de medios de cultivo: EMB, Manitol y Sangre, donde se dió el crecimiento bacteriano de *E. coli*, *S. aureus* y *S. agalactiae*; obteniendo como resultados que la relación entre CMT y TR

con el agar EMB tuvieron una diferencia altamente significativa ($P= 0,001$), las pruebas CMT con el agar Manitol presentó una diferencia no significativa en determinación de la patología ($P= 0,062$) y con TR ($P= 0,939$), finalmente en relación con el agar Sangre, la prueba CMT presentó una diferencia significativa ($P= 0,028$) pero con TR no presentó una diferencia significativa ($P= 0,531$); resultados que se obtuvieron mediante la prueba no paramétrica de rangos de signos de Wilcoxon.

Promedios de los diámetros de halos de inhibición según el método de extracción frente a las bacterias en estudio: La actividad antimicrobiana del extracto de *T. officinale* sobre las cepas certificadas en estudio por medio de dos métodos de extracción, mediante la extracción por Soxhlet, el extracto al 100 % formó un halo de inhibición de 24,67 mm y con el extracto por percolación presentó un halo de 23,67 mm que conlleva a una inhibición total de crecimiento bacteriano para *Escherichia coli*, no obstante para *Staphylococcus aureus* formó un halo de 9,67 mm y de igual manera con el extracto por percolación con su halo de 7,33 mm, poco significativo para determinar actividad antibacteriana contra la cepa y de igual manera para *Streptococcus agalactiae* presentó un halo de 5,67 mm y 4,33 mm de los dos tipos de extracto descartando así la actividad de *T. officinale* para estas dos últimas cepas. En una investigación realizada por (Hena, Muñoz, Ríos, Padilla, & Giraldo, 2009) afirman que la obtención de los extractos vegetales ya sea por métodos de percolación o Soxhlet, no demuestran una diferencia significativa en cuanto a actividad antimicrobiana, puesto que los dos métodos son técnicas seguras y eficientes que no alteran la composición de los extractos es decir no volatilizan ni degradan los metabolitos secundarios que otorgan dicha acción.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria: En la figura N° 1, se muestra la concentración mínima inhibitoria mediante el punto máximo de la curva de la regresión cuadrática formada, la cual corresponde a una concentración de 0.74 % con un halo de inhibición de 20,5 mm como se puede observar en la figura.

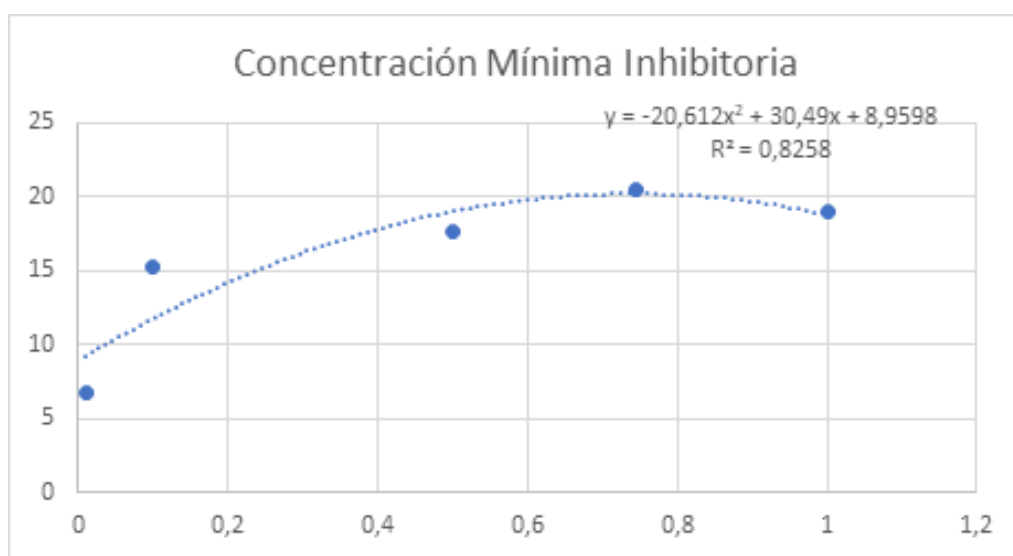


Figura 1: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria
Fuente: Elaborado por el autor.

Promedios de los diámetros de halos de inhibición según el método de extracción frente a las bacterias presentes en muestras de leche: Los promedios de los halos de

inhibición del extracto de *T. officinale* al 100 % frente a las cepas cultivadas de las muestras de estudio, únicamente presentó actividad antimicrobiana para *E. coli* y no se observó actividad para *S. aureus* y *S. agalactiae*.

Promedios de los diámetros de halos de inhibición según el método de extracción frente a las bacterias presentes en muestras de leche: La tabla N.º1 muestra los promedios de halos de inhibición para cada una de las concentraciones establecidas, frente a las muestras de estudio de *E. coli*; cabe mencionar que para las otras cepas encontradas *S. aureus* y *S. agalactiae* no se realizó el análisis a diferentes concentraciones debido a que no presentaron actividad a la concentración al 100 %. Estos resultados de promedios de halos de inhibición a las concentraciones del 100 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 1 %, 0.5 %, 0.1 % y 0.01 % para *E. coli* presentan el mismo comportamiento inhibitorio en placa, tanto para las muestras de estudio como para las cepas certificadas.

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

	PROMEDIOS							
	0.01%	0.1%	0.5%	1%	5%	10%	15%	20%
<i>Escherichia coli</i>	23.86	23.95	24.13	23.78	23.71	23.65	23.52	24.13

Tabla 1: Promedios de concentración mínima inhibitoria

Fuente: Elaborado por el autor.

IV. CONCLUSIONES

Se concluye que la actividad antimicrobiana del extracto de *T. officinale* sobre las cepas certificadas en estudio por medio de dos métodos de extracción, presentó una inhibición total de crecimiento bacteriano para *Escherichia coli*, no obstante se descarta la actividad antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, en cuanto a las pruebas microbiológicas realizadas en el laboratorio se concluye que la relación entre CMT y TR con *Escherichia coli* tuvieron una diferencia altamente significativa ($P=0,001$), las pruebas CMT con *Staphylococcus aureus* presentó una diferencia no significativa ($P=0,062$) y con TR ($P=0,939$), finalmente en relación con *Streptococcus agalactiae*, la prueba CMT presentó una diferencia significativa ($P=0,028$) pero con TR no presentó una contradicción significativa ($P=0,531$).

V. CONFLICTOS DE INTERÉS

Las autoras certifican que no existen conflictos de intereses en el presente trabajo.

VI. REFERENCIAS

Almeida, D. (2015). Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche en la comunidad San Pablo Urco, Olmedo-Cayambe-Ecuador,2014. Recuperado de: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9834/1/YT00246.pdf>

- Ayala, J. (2019). Efectividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Taraxacum officinale* (diente de león) al 50% y 100% sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/20095/1/T-UCE-0015-ODO-266.pdf>
- Azuero, A. (2015). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en el Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2822/2/CD0000-20-TRABAJO%20COMPLETO.pdf>
- Barros, K. (2015). Estudio de la calidad bacteriológica de doce plantas medicinales procesadas en la planta piloto de farmacia de la Universidad Técnica de Machala. Recuperado de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2820/2/CD0000-19TRABAJO%20COMPLETO.pdf>
- Castañeda, R., & Miranda, A. (2018). Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de la raíz de *Taraxacum officinale* Wigg "diente león" en ratones (*Mus musculus*). Recuperado de: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1660/TITULO%20-%20Casta%20Cuadros%20Renzo%20Gerardo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Coronel, D., & Espinoza, M. (2017). Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino lechero de la zona occidental de la provincia del Azuay. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26224/4/Tesis.pdf.pdf>
- Favari, L., Arce, C., Ortíz, J., Pérez, P., Soto, C., & Meléndez, M. (2013). Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 44(4), 53-61. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57930578007>
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo Ecuador. *An Fac med*, 327-32. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>
- Grosso, L. (2010). El uso popular de plantas medicinales en Uruguay. Italia: Copyright. Recuperado de: <http://www.zoobiodi.it/wp-content/uploads/2018/04/Atti-N6.pdf>
- Henao, J., Muñoz, L., Ríos, E., Padilla, L., & Giraldo, G. (2009). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta *Lippia origanoides* h.b.k. cultivada en el departamento del Quindío. *Revista Universidad de Quindío*. 19(1). 159-164. Recuperado de: <https://ojs.uniquindio.edu.co/ojs/index.php/riuq/article/view/784>
- Martínez, D., Cruz, A., & Moreno, G. (2013). Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. Recuperado de: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/330-Texto%20del%20art%C3%ADculo-1044-1-10-20180912.pdf>
- Palomo, G., & García, A. (2014). Alternativas a los antibióticos en producción de porcino. *Artículos Suis*, 110, 15-21. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Gonzalo_Palomo/publication/275823771_Alternativas_a_los_antibioticos_en_produccion_de_porcino_I_Alternatives_to_antibiotics_in_pig_production/links/55473f120cf24107d398259c.pdf
- Ramos, A. (Mayo de 2013). Evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales e hidrosoles de *Rosmarinus officinalis* y *Taraxacum officinale* frente a microorganismos patógenos. Recuperado de: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11850/RamosPencueAdrianaMarcela2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Reaño, C. (2014). Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia triphylla* "cedrón", *Rosmarinus officinalis* "romero", *Mentha spicata* "hierbabuena",

- Portulaca "verdolaga", y Taraxacum officinale "diente de león". Obtenido de Repositorio Digital de la Universidad de Trujillo: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4801/Rea%C3%B1o%20Ortega%2c%20Cinthia%20Karina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rodríguez , R., & Muñoz , E. (2017). Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis en bovinos de un establo de Trujillo, Perú. *Rev Inv Vet Perú*. 28(4). 994-1001. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v28n4/a25v28n4.pdf>.
- Shiva , C., Bernal , S., Sauvain , M., Caldas , J., Kalinowski, J., Falcón , N., & Rojas , R. (2012). Evaluación del aceite esencial de orégano (origanum vulgare) y extracto deshidratado de jengibre (zingiber officinale) como potenciales promotores de crecimiento en pollos de engorde. *Rev Inv Vet Perú*, 23(2) 160-170. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v23n2/a06v23n2.pdf>
- Voigt, F., Damé , L., Lambrecht, C., Faccin, Â., Almeida, D., Conrad, B., & Ferreira, L. (2013). Actividad antibacteriana de los extractos de Syzygium cumini (L.) Skeels (jambolán) frente a los microorganismos asociados a la mastitis bovina. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3), 495-501. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n3/pla16313.pdf>
- Yáñez, Y. (2018). Efecto de la inflamación de la glándula mamaria en la producción evaluado mediante pruebas de campo y de laboratorio en un hato del subtrópico . Recuperado de: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/9869/1/UDLA-EC-TMVZ-2018-45.pdf>