

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE SALUBRIDAD E HIGIENE



Efecto antimicrobiano de los carotenoides en *Staphylococcus aureus*, aislados en casos asociados a dermatosis en perros consultados en clínicas veterinarias de Torreón Coahuila

Por:

Rodolfo Barragan Blanco

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE SALUBRIDAD E HIGIENE

Efecto antimicrobiano de los carotenoides en *Staphylococcus aureus*, aislados en casos asociados a dermatosis en perros consultados en clínicas veterinarias de Torreón Coahuila

Por:

Rodolfo Barragan Blanco

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobado por:


Dra. Olivia García Morales
Presidente


Dr. Fernando Ulises Adame de León
Vocal


Dr. Esequiel Castillo Romero
Vocal


MC. Isidro Pérez Esparza
Vocal Suplente


MVZ. Eric Alejandro Reyes Ramírez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2026



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE SALUBRIDAD E HIGIENE

Efecto antimicrobiano de los carotenoides en *Staphylococcus aureus*, aislados en casos asociados a dermatitis en perros consultados en clínicas veterinarias de Torreón Coahuila

Por:

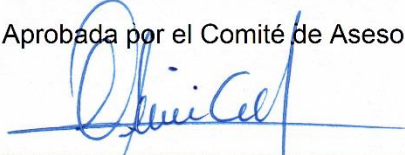
Rodolfo Barragan Blanco

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



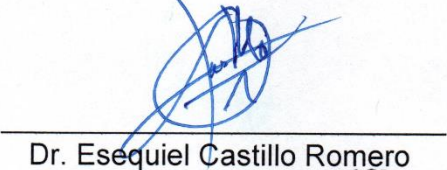
Dra. Olivia García Morales

Asesor Principal



Dr. Fernando Ulises Adame de León

Coasesor



Dr. Esequiel Castillo Romero

coasesor



MVZ. Eric Alejandro Reyes Ramírez

Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2026



AGRADECIMIENTOS

A Dios, por su guía, fortaleza y bendiciones durante mi formación académica, permitiéndome culminar con éxito esta etapa de mi vida profesional.

A mis padres, Lorena Blanco Gómez y a Rodolfo Barragán Rodríguez por todo el apoyo que me brindaron a lo largo de mi carrera.

A mi hermana, Cruz Elda Barragán Blanco y a mi cuñado Orlando Bencomo Márquez por estar presente en los momentos que los llegue a necesitar.

A mis amigos, por convertirse en una segunda familia durante esta etapa de mi vida. Gracias por su apoyo, compañía y por llenar de alegría cada día a lo largo de mi carrera. Su amistad hizo que este camino fuera más llevadero y especial.

A mi familia, por ser parte de este proceso brindándome fuerza y la motivación necesaria.

A mi profesor, Dra. Olivia García morales, por motivarme, aconsejarme, escucharme y sobre todo apoyarme, muchas, pero muchas gracias.

DEDICATORIAS

A mis padres, Lorena Blanco Gómez y Rodolfo Barragán Rodríguez, por enseñarme con su ejemplo a actuar con valores, principios y rectitud. Gracias por formarme como una persona de bien y por brindarme siempre su amor y apoyo incondicional.

A todos mis profesores, en especial a la Dra. Olivia García Morales y Dr. Fernando Ulises Adame de León, por compartir sus conocimientos, experiencia y dedicación durante mi formación profesional. Gracias por sus enseñanzas, orientación y apoyo, que fueron fundamentales para alcanzar esta meta académica.

A mi profesor de la secundaria Gerardo Castillo Terrazas, Gracias por orientarme en la elección de mi carrera y contribuir a mi crecimiento profesional y personal.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS.....	ii
INDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	2
HIPÓTESIS	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.2. Propiedades solubles de los carotenoides	3
2.3. Clasificación de los carotenoides	3
2.4. Efecto de los carotenoides sobre el ADN	5
2.5. Mecanismo de acción de los carotenoides	6
2.6. Resistencia antimicrobiana.....	6
2.6.1. Definición de RAM	6
2.6.2. Mecanismos de resistencia bacteriana	6
2.7. Staphylococcus.....	9
2.8. <i>S. aureus</i>	10
2.8.1. Factor de virulencia.....	10
2.9. Resistencia que ha adquirido <i>S. aureus</i>	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
3.1. Bacterias	12
3.2. Aislamiento.....	13
3.2.1. Recuperación de <i>Staphylococcus</i>	13
3.3. Identificación mediante pruebas bioquímicas.....	14

3.3.1. prueba de hemolisis en Agar Gelosa Sangre	15
3.3.2. Fermentación de manitol en Agar sal y manitol (MSA).	15
3.3.3. Prueba catalasa	15
3.3.4. Prueba coagulasa (usando plasma de ovino)	15
3.3.5. Prueba Voges-Proskauer (VP)	15
3.4. Siembra de bacterias en agar Müeller-Hinton	15
3.5. Método McFarland	16
3.6. Método Kirby-Bauer	17
3.7. Dilución; carotenoides de hidrosolubles.	17
3.8. Dilución; carotenoides liposolubles.	18
3.9. Procedimiento experimental.	19
4. RESULTADOS.	20
5. DISCUSIÓN.....	26
6. CONCLUSIÓN.....	27
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	28

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lectura a las 24 horas de C. Hidrosoluble.	20
Tabla 2. Lectura a las 24 horas de C. Liposoluble.	21
Tabla 3. Lectura a las 48 horas de C. Hidrosoluble.	22
Tabla 4. Lectura a las 48 horas de C. Liposoluble.	23
Tabla 5. Lectura a las 72 horas de C. Hidrosoluble.	24
Tabla 6. Lectura a las 72 horas de C. Liposoluble.	24

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. composición química estructural de los carotenoides tomado de (Ávila-Morocho y Cando- Barreto, 2024)	4
Figura 2. Ajuste de la turbidez de la suspensión bacteriana de <i>S. aureus</i> al estándar 0.5 de McFarland, utilizado para estandarizar la concentración del inóculo antes de las pruebas microbiológicas.....	17
Figura 3. Proceso de filtración del extracto hidrosoluble (izquierda) y preparación de las diluciones seriadas desde 1/256 hasta 1/2, incluyendo el medio sin muestra (SM), utilizadas para la evaluación de la actividad antimicrobiana.	18
Figura 4. Impregnación de discos de papel filtro estériles con extracto hidrosoluble para la evaluación de la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco.....	18
Figura 5. Preparación de las diluciones seriadas del extracto liposoluble utilizadas para la evaluación de la actividad antimicrobiana.	19
Figura 6. impregnación de los discos en la placa Petri con el método kirby-Bauer	19
Figura 7. Lectura de la actividad antimicrobiana del extracto hidrosoluble frente a <i>S. aureus</i> en la caja Petri PTC-SA 4 a las 72 horas de incubación.	25
Figura 8. Lectura de la actividad antimicrobiana del extracto liposoluble frente a <i>S. aureus</i> en la caja Petri PTC-SA 1 a las 72 horas de incubación.....	26

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) representa un problema creciente en medicina veterinaria y salud pública, debido a la disminución de la eficacia de los tratamientos convencionales. Ante esta situación, existe interés en evaluar compuestos naturales con potencial antimicrobiano, como los carotenoides. Los carotenoides son microcomponentes, que actúan como protectores indirectos del ADN, además de funcionar como potentes antioxidantes. Son sintetizados por las plantas, se encuentran en frutas y verduras, los que les dan el color rojo, naranja y/o amarillo. Las cepas bacterianas fueron recuperadas en agua peptonada y posteriormente cultivadas en agar gelosa sangre. La identificación bacteriana se realizó revisando la morfología colonial, tanto macro como microscópica; producción de hemólisis, pruebas bioquímicas, fermentación de manitol, catalasa, coagulasa y Voges-Proskauer. Para la evaluación antimicrobiana se utilizó agar Mueller-Hinton, aplicando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer, empleando suspensiones bacterianas ajustadas al estándar 0.5 de McFarland. Se prepararon diluciones seriadas de carotenoides hidrosolubles y liposolubles desde solución madre hasta la dilución 1/256, en discos de papel filtro, midiendo el halo de inhibición a las 24, 48 y 72 horas de incubación.

Para este estudio se utilizaron carotenoides hidrosolubles y liposolubles, buscando la concentración mínima inhibitoria frente a *S. aureus*; en los carotenoides hidrosolubles no hubo presencia de halo de inhibición; en contraste, los carotenoides liposolubles que mostraron una actividad inhibitoria limitada, registrándose halos de inhibición pequeños (0.1 a 3 mm), siendo la dilución 1/128 la que presentó la mayor inhibición. Estos hallazgos sugieren que los carotenoides liposolubles poseen un efecto antimicrobiano moderado contra *S. aureus*, mientras que los hidrosolubles no mostraron eficacia bajo las condiciones experimentales evaluadas.

Palabras clave: Carotenoides, *Staphylococcus aureus*, Antibiograma

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de *Staphylococcus* es una de las principales preocupaciones de la medicina veterinaria a nivel mundial, debido a que frecuentemente se reportan cepas resistentes a los antimicrobianos. El *Staphylococcus* fue identificado por el cirujano escocés Sir. Alexander Ogston en 1880 a partir de un absceso con pus. Se sabe que las bacterias del género *Staphylococcus* son saprofitas que se pueden encontrar en la piel y las membranas de las mucosas de animales y humanos. También las podemos encontrar en el ambiente, en la tierra, en el polvo, en el agua y en el aire. Los *Staphylococcus* se clasifican de acuerdo al tipo de coagulación que inducen, la coagulasa negativa y la coagulasa positiva; los negativa son los que no tienen la enzima coagulasa, por ejemplo *S. Epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. Capitis*, *S. hominis*, *S. felis*, *S. carnosus*, *S. krahrii* y *S. lentus*. Los que son coagulasa positiva, se caracterizan por tener la enzima coagulasa, por ejemplo, el *S. Aureus*, el *S. intermedius*, el *pseudintermedius* y el *S. hyicus*. El *S. aureus* se considera una de las especies más peligrosas, porque se puede adherir a superficies, crecer, formar colonias, invadir y dañar tejidos (Aarón 2024).

Durante mucho tiempo, se ha combatido la presencia de *Staphylococcus* mediante el uso de antibióticos desde primera, hasta cuarta o quinta generación, pero esto ha generado también reacciones de autodefensa que les ha permitido generar resistencia a estas cepas bacterianas y, por lo tanto, se presentan respuestas no satisfactorias en los tratamientos. Se han utilizado muchos compuestos homeópatas y alópatas para su control, en algunas investigaciones se ha demostrado que el uso de compuestos como los carotenoides, han producido inhibición en la propagación de la bacteria cuando se utiliza dosis adecuadas.

OBJETIVO

Evaluar el efecto antimicrobiano de los carotenoides (caroteno y licopeno) sobre *S. aureus*, buscando la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) más efectiva para inhibir el crecimiento de este microorganismo.

HIPÓTESIS

El uso de carotenoides en cultivos bacterianos de *S. aureus*, inhibe el crecimiento de las colonias cuando se utiliza en concentraciones mayores al 1/256 mg/ml.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Carotenoides

Los carotenoides pertenecen a la familia de compuestos pigmentados que pueden ser sintetizados por plantas y también pueden ser sintetizados por microorganismos. Estos se encuentran como microcomponentes en frutas y verduras, son los que dan los colores amarillos, naranja y rojos, éstos también pueden aportar vitamina A (Rao y Rao, 2007). Hasta ahora se han encontrado más de 600 componentes, siendo el β -caroteno el más común (Stahl y Sies, 2003). Cuenta con propiedades alifáticas y se puede separar de sandías, tomates y papayas (Kamboj, *et al.*, 2021).

Los carotenoides tienen una estructura poliisoprenoide, aparte tienen una larga cadena conjugada de enlaces dobles y con una simetría alrededor del enlace doble central, con características químicas parecidas (Rao y Rao, 2007), el enlace doble conjugado puede absorber la luz en un rango de 400 y 550 nm (Crupi *et al.*, 2023). También los carotenoides se pueden llegar a sintetizar mediante la unión de dos moléculas de C₂₀geranil-geranyldifosfato (Milani, *et al.*, 20017).

2.2. Propiedades solubles de los carotenoides

El grado que tienen de solubilidad va a depender del tipo de sustituyente que está presente en la molécula, la gran mayoría de ellos son insolubles en agua y solventes orgánicos como la acetona, cloroformo, hexano y muchos más. Unos de los que son diferentes y tienen una excepción son las xantofilas, como tienen grupos funcionales que son altamente polares se solubiliza en solventes como el etanol o el metanol, también los carotenoides son muy sensibles a diversas modificaciones estructurales como raciones de isomerización, hidrogenación, ciclación en ambos extremos o uno también en adición de sustituyentes por lo general en presencia de luz, calor, metales, ácidos y el oxígeno (Escandón Mantilla, 2024).

2.3. Clasificación de los carotenoides

La estructura única de los carotenoides es la base que determina sus posibles funciones biológicas y acciones. La gran mayoría de los carotenoides se pueden derivarse de una estructura basal de 40 carbonos, según su composición se divide en dos clases: los carotenos que contienen solo átomo de carbono e hidrogeno y

están también los oxocarotenoides que llevan un átomo de oxígeno (Stahl y Sies, 2003).

Los carotenoides que contienen carbono e hidrogeno son (por ejemplo, α -caroteno, β -caroteno y licopeno) y los que contienen un átomo de oxígeno (luteína, zeaxantina), se pueden dividir en provitamina A (por ejemplo, β caroteno, α -caroteno y β -criptoxantina) y la no provitamina A. Por lo general, los carotenoides son moléculas hidrofóbicas por lo cual tienen baja solubilidad en agua (Milani, *et al.*, 20017).

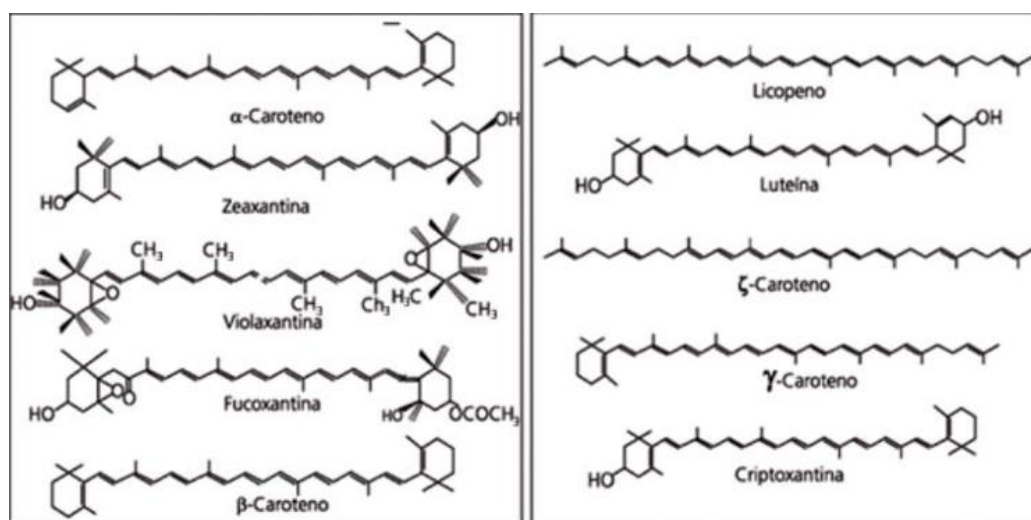


Figura 1. composición química estructural de los carotenoides tomado de (Ávila- Morocho y Cando- Barreto, 2024)

Según Escandón Mantilla, (2024) la estructura química de los carotenoides se clasifica en dos grupos que se mencionan a continuación:

- **Carotenos:** (β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno, licopeno, fitoeno y fitoflueno). Son hidrocarburos formados únicamente por átomos de carbono e hidrogeno, existen alrededor de 50 tipos de carotenos que están presentes en la naturaleza.
- **Xantofilas:** contienen varias funciones oxigenadas que están enlazadas a anillos de seis carbonos, el grupo epoxi se va encontrar en violaxantina, neoxantina y fucoxantina, el grupo

hidroxilo en la luteína, β -criptoxantina y zeaxantina y el grupo funcional cetona en la astaxantina y cantaxantina.

2.4. Efecto de los carotenoides sobre el ADN

Se han realizado estudios sobre los efectos de los carotenoides en distintos niveles biológicos, incluyendo cultivos celulares, animales de experimentación y seres humanos. Los resultados indican de manera consistente que los carotenoides no provitamina A pueden ejercer un efecto protector contra el daño del ADN, ya sea de origen endógeno o inducido por agentes exógenos. En contraste, los carotenoides con actividad provitamina A presentan efectos variables, pudiendo actuar tanto como protectores del ADN como potenciadores del daño genético. Generalmente, estos efectos adversos se han observado cuando los carotenoides se encuentran en concentraciones elevadas (Kołodziejczyk y Karwowski, 2025).

Muchas de las causas de las enfermedades crónicas es el estrés oxidativo, que por lo general son causados por radicales libres que son reactivos (Crupi, et al., 2023). Pero hay varios estudios en cultivos de células y en animales en los que se están analizando los efectos del licopeno en el ADN dañado (Azqueta y collins, 2012).

Los factores que favorecen el daño del ADN puede ser la presencia de peróxido de hidrogeno, aniones superiores y peróxidos lipídicos, que no afectan a el ADN en condiciones naturales, pero cuando se convierten en radicales hidroxilos ya sea en las raciones de fenton o haber-weiss, las moléculas que se producen pueden llegar a causar daño al ADN nuclear y mitocondrial (Crupi *et al.*, 2023).

Se ha demostrado que los alimentos ricos de carotenoides y suplementos de carotenoides puede cambiar el daño en el ADN (Kołodziejczyk y Karwowski, 2025), y pueden llegar a prevenir la oxidación lipídica a través de sus fases iniciales, ya que es una desintoxicado de oxígeno (Crupi *et al.*, 2023).

Se cree que los carotenoides actúan como unos antioxidantes que van a disminuir el daño oxidativo a las biomoléculas, por lo tanto, van a proteger contra las enfermedades coronarias y el cáncer (Collins, *et al.*, 1998). Pero los experimentos

que se han realizado con β -carotenos han mostrado aumento en las rupturas de cadenas, fragmentos de ADN y purinas oxidasas (Azqueta y collins, 2012).

2.5. Mecanismo de acción de los carotenoides

Aparte de ser pigmentos importantes en los vegetales, los carotenoides tienen una función muy importante que es fisiológica, como la fotosíntesis y la protección contra daño foto oxidativo, los carotenoides les permiten tomar la energía lumínica que después pasa a la clorofila dentro del sistema proteico de la célula, transformando de esta manera los niveles de energía solar en energía química, además, de proteger los tejidos fotosintéticos por la disipación del exceso de energía y actuando como antioxidante (Ávila y Cando, 2024).

2.6. Resistencia antimicrobiana

2.6.1. Definición de RAM

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) se considera un mecanismo adaptativo que los microorganismos emplean para contrarrestar la exposición excesiva a los antimicrobianos, derivada del uso excesivo e indebido de antibióticos los cuales van perdiendo su eficacia para frenar o detener su crecimiento, por esta razón se dificulta el tratamiento de las infecciones en los animales (Espinosa -Castaño *et al.*, 2019; Prestinaci *et al.*, 2015). Esta administración indiscriminada de antibióticos ha contribuido significativamente a la selección y proliferación de bacterias resistentes a los mismos (Lloyd y Page, 2018).

2.6.2. Mecanismos de resistencia bacteriana

Se sabe que la evolución y propagación de la resistencia bacteriana a los antibióticos están estrechamente relacionadas con las actividades humanas, principalmente con el uso excesivo e inadecuado de antibióticos (Xie *et al.*, 2025). Existen los siguientes mecanismos de acción:

2.6.2.1. Resistencia intrínseca

Se considera como una característica innata de las bacterias, que naturalmente resisten a ciertos antibióticos, resistencia no adquirida, está regulada por el genoma bacteriano, ubicándose en el cromosoma bacteriano y siendo relativamente estables, haciéndolas insensibles a los fármacos (Foster, 2017).

2.6.2.2. Resistencia adquirida

Este tipo de resistencia, se considera como adquirida, debido a que las bacterias que originalmente eran sensibles a un antibiótico en particular, se vuelven tolerantes a él, después de la exposición al mismo; esto se logra mediante mutaciones genéticas o por la adquisición de genes de resistencia exógenos, llevan a la alteración de las vías metabólicas de las bacterias y esto les permite resistir o tolerar la presencia del fármaco que difiere del genoma original de la bacteria (Caneschi *et al.*, 2023).

Dentro de esta resistencia Galgano *et al.*, (2025); Peterson y Kaur, (2018), mencionan que en la resistencia adquirida pueden ocurrir, de igual manera, por los siguientes mecanismos endógenos de la bacteria:

- a. Por medio de la modificación del sitio diana farmacológico y mediante mutación o modificación genética.
- b. Cuando ocurre una disminución de la concentración del fármaco causada por cambios en la permeabilidad de la membrana celular.
- c. Por inactivación del fármaco debido a hidrolasa sintética o enzima modificada.
- d. Puede haber una reducción de la acumulación de fármacos causada por la activación de la bomba de e-flujo en las bacterias.
- e. Producción de proteínas protectoras diana con efectos farmacológicos inhibidores.
- f. Genes de resistencia obtenidos por transferencia genética.

2.6.2.3. Resistencia adaptativa

La resistencia adaptativa se considera como un fenómeno dinámico irreversible de resistencia a los antibióticos en bacterias en respuesta a señales ambientales específicas, lo que les permite resistir temporalmente los efectos bactericidas de uno o más antibióticos lo que desencadena esta resistencia es el estrés externo, el estado de crecimiento bacteriano, el pH ambiental, la concentración de iones, las condiciones nutricionales y la exposición a bajas concentraciones de antibióticos (Fernández y Hancock, 2012), los cuales ocurren por los siguientes sucesos;

cambios en las vías metabólicas, deficiencias nutricionales, cambios en la morfología celular y formación de biopelículas (Fernández *et al.*, 2011)

2.6.2.4. Resistencia cruzada

En la revisión de Fernandes *et al.*, (2024) nos menciona que los fenómenos de resistencia cruzada en microorganismos clínicamente relevantes como *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Streptococcus spp.* Estos hallazgos sugieren que el uso inadecuado de desinfectantes puede contribuir indirectamente a la disminución de la eficacia de los antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones.

Además, los autores señalaron que la exposición a biocidas puede favorecer la formación de biopelículas, modificar la morfología de las colonias microbianas y estimular sistemas de expulsión de compuestos tóxicos, factores que incrementan la tolerancia frente a los antimicrobianos. Por ello, recomiendan el uso racional de los desinfectantes y el cumplimiento estricto de las concentraciones y tiempos de contacto establecidos por los fabricantes para minimizar la aparición de cepas resistentes (Fernandes *et al.*, 2024).

Según Liu, Prentice y Webber (2024) dice que las biopelículas son comunidades estructuradas de microorganismos adheridas a superficies y embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas. Estas estructuras representan una de las principales causas de infecciones crónicas y recurrentes debido a su elevada tolerancia a los antimicrobianos. Se dice que la mayoría de las bacterias en la naturaleza sobreviven formando biopelículas, las cuales presentan características fisiológicas muy diferentes a las células planctónicas (flotan libremente y se mueven suspendidas en un medio líquido).

Uno de los mecanismos más importantes de resistencia asociados a las biopelículas es la presencia de la matriz extracelular, compuesta por polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN extracelular. Esta matriz actúa como una barrera física que dificulta la penetración de los antibióticos, reduciendo la concentración efectiva del fármaco en las capas más profundas de la biopelícula (Flemming *et al.*, 2016).

2.7. *Staphylococcus*

El género *staphylococcus* tiene múltiples especies patógenas y oportunistas que pueden ser un riesgo para la salud, aparte es un género de bacterias de Gram positivas, que por lo general habitan en la piel y mucosas de animales y humanos, muchas especies pueden comportarse como patógenos oportunistas por su capacidad para expresar sus factores de virulencia y que pueden llegar a causar enfermedades infecciosas en animales y humanos (jimenez-velasquez, 2024).

Aron *et al.*, (2024) menciona que el género *Staphylococcus* pertenece a la familia Micrococcaceae que presentan una forma de cocos, cuentan con un diámetro que varía de 0.5 a 1 μm , aparte pueden llegar a observarse de forma aislada, por lo general forman grupos que parecen racimos de uvas, además estos microorganismos carecen de motilidad y habilidades para formar esporas, también pueden ser aerobias o anaerobias facultativas.

Estas bacterias se clasifican según la capacidad funcional de la enzima coagulasa, que es la que coagula en plasma sanguíneo, se interpreta como coagulasa positiva cuando la enzima está presente y se manifiesta su actividad formando un coágulo cuando se inocula en plasma y coagulasa negativa cuando el microorganismo carece de esta enzima y al inocularlo en el plasma hay ausencia de coágulo (Jimenez-Velasquez, 2024).

La coagulasa es una proteína parecida a una enzima que desempeña un papel importante en la inducción de la coagulación del plasma por que convierte el fibrinógeno en fibrina, este proceso es muy importante para formar el coágulo sanguíneo debido a infecciones por *Staphylococcus* (aron *et al.*, 2024). En el grupo de coagulasa positiva existen muchas especies, como *S. aureus*, *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. pseudintermedius*, *S. coagulans*, y existen dos de coagulasa variable, *S. hyicus* y *S. agnetis*, por otra parte, el grupo coagulasa negativa vienen siendo un grupo heterogéneo que tienen más de 40 especies conocidas hasta ahorita (Jimenez-Velasquez, 2024).

2.8. *S. aureus*.

Unos de los microorganismos con más importancia médica es *S. aureus*. Por muchos años se ha descrito como uno de los principales agentes patógenos (Bustos-Martínez *et al.*, 2006). Es uno de los microorganismos que se encuentra dispersado en el ambiente puesto que posee características particulares de virulencia y también resistencia a antibióticos, por lo cual es un problema para la salud (Zendejas-Manzo *et al.*, 2014).

Se conoce como un coco Gram-positivo, no móvil, no forma esporas, se puede encontrar en cadenas cortas o racimos, es un anaerobio facultativo, pero va a crecer mejor en condiciones de aerobiosis (Bustos-Martínez *et al.*, 2006). La gran mayoría de *Staphylococcus* producen la enzima catalasa, enzima que es capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre, esta característica se utiliza para poder diferenciar el género *Staphylococcus* de otros géneros como *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativa (Cervantes-García *et al.*, 2014). Las colonias pueden llegar a medir entre 1 a 3 mm, producen un tipo de pigmento amarillento porque las bacterias tienen la presencia de carotenoides y al igual muchas cepas producen hemólisis en un tiempo de 24 a 36 horas (Bustos-Martínez *et al.*, 2006).

Para la observación de *S. aureus* se realiza una tinción Gram, se identifica con pruebas bioquímicas como son: la prueba de catalasa, fermentación de glucosa que esta prueba nos va a servir a diferenciar *Staphylococcus* de *Micrococcus*, puesto que también es una catalasa positiva pero que no va a fermentar la glucosa (Cervantes-García *et al.*, 2014).

2.8.1. Factor de virulencia

Según Cheung *et al.*, (2021), la infección comienza con la adhesión a tejidos del huésped mediante proteínas superficiales que reconocen componentes de la matriz extracelular. Posteriormente, la bacteria emplea diversos mecanismos para evitar la eliminación por parte del sistema inmunitario. Uno de los más importantes es la proteína A (Spa), la cual se une a la región Fc (fragmento cristizable) de las inmunoglobulinas G e impide la fagocitosis eficiente por neutrófilos y macrófagos.

Asimismo, la producción de cápsula polisacárida contribuye a disminuir el reconocimiento inmunológico.

La invasión celular ocurre principalmente mediante la interacción de las proteínas de unión a fibronectina con integrinas presentes en la superficie de las células del huésped. Este mecanismo favorece la internalización de *S. aureus* en células epiteliales, endoteliales y osteoblásticas, donde la bacteria puede sobrevivir protegida de la acción de antibióticos y de la respuesta inmunitaria. La capacidad de invadir células también contribuye a la persistencia de infecciones crónicas y a la recurrencia de la enfermedad después del tratamiento (Foster *et al.*, 2014).

Las toxinas constituyen uno de los grupos de factores de virulencia más relevantes. Entre ellas destacan las citolisinas, que dañan membranas celulares; las leucocidinas que destruyen células inmunitarias y los superantígenos, responsables de una activación masiva e inespecífica de linfocitos T. Estas moléculas desempeñan un papel central en la gravedad de enfermedades como neumonía necrosante, síndrome de choque tóxico e infecciones invasivas (Cheung *et al.*, 2021).

Entre las enzimas más importantes destaca la coagulasa, una proteína capaz de activar la protrombina y promover la formación de fibrina alrededor de las bacterias. Este mecanismo genera una barrera protectora que dificulta la acción de los fagocitos y contribuye a la formación de abscesos característicos de las infecciones estafilocócicas. Las nucleasas constituyen otro mecanismo importante de evasión inmunológica, estas enzimas degradan el ADN extracelular liberado por los neutrófilos durante la formación de trampas extracelulares (NETs), estructuras diseñadas para inmovilizar y destruir microorganismos, al degradar estas redes, *S. aureus* logra escapar de uno de los mecanismos más eficaces de defensa innata (Tam y Torres, 2019).

2.9. Resistencia que ha adquirido *S. aureus*.

La resistencia antimicrobiana sucede cuando los microorganismos, incluyendo virus, hongos, parásitos y bacterias, se adaptan y crecen en presencia de fármacos que antes los afectaban o los eliminaban, la resistencia antimicrobiana es un peligro

para los sistemas de salud pública, que no solo afecta a los países de desarrollo también afecta a todo el mundo (Dadgostar, 2019). Los microorganismos han tenido la capacidad de desarrollar diversos mecanismos para evitar la destrucción causada por diferentes sustancias tóxicas (Holmes, *et al.*, 2016).

El usar indebidamente y de manera excesiva diferentes agentes antimicrobianos, tanto en la salud como en la industria agrícola, es una de las principales razones por las que se genera la aparición de resistencia antimicrobiana, pero también se encuentra la mutación de las bacterias y transmisión de los genes resistentes que se le conoce como resistencia horizontal de genes (Dadgostar, 2019).

En las áreas urbanas han incrementado las mascotas y esto hace que aumente el uso de antimicrobianos para esos animales, provocando así la resistencia a los mismos (Russo *et al.*, 2024).

En los últimos años han incrementado la presencia de infecciones por *S. aureus*, esto se debe a que una gran parte de las bacterias ya han generado resistencia a los antibióticos, con los que generalmente se les combate (Bustos-Martínez *et al.*, 2006).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el 2025, en el Laboratorio de Microbiología que se encuentra en el edificio de la Unidad de Diagnostico dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna que se encuentra ubicada en el Periférico Raúl López Sánchez, Colonia Valle Verde, Código Postal 27054 en Torreón, Coahuila, México; coordenadas 25°33'21.8"N 103°22'25.4"W (INEGI, 2024).

3.1. Bacterias

S. aureus

Extractos

Carotenos; liposolubles e hidrosolubles

Equipo de laboratorio.

Autoclave

Incubadora

Balanza analítica

Materiales de laboratorio

Caja Petri estériles desechables de 90 x 15 mm

Frascos de dilución

Matraces

Micropipetas eppendorf

Puntillas para micropipetas

Pipetas

Probetas

Tubos de 5ml, con tapa de rosca

Portaobjetos

Viales

Asa bacteriológica

Hisopos

Guantes

Gradillas

Pruebas bioquímicas

Agar sal y manitol (MSA)

Catalasa

Coagulasa

Voges-proskauer (VP).

Medios de cultivos

Agar Gelosa Sangre

Agar Sal y Manitol

Agar Müller-Hinton

3.2. Aislamiento.

3.2.1. Recuperación de *Staphylococcus*.

Para realizar esta investigación se trabajó con microorganismos aislados en un estudio previo de perros con problemas de dermatosis, de manera que las bacterias

se habían conservado en refrigeración. Para recuperarlas con todas sus características de viabilidad, se tomaron las que se habían identificado como sospechosas a *S. aureus*, se preenriquecieron en agua peptonada, medio líquido no selectivo, al cual se le adiciono 85% de Cloruro de Sodio (NaCl), este último hace que el agua peptonada sea el medio ideal (selectivo) para el crecimiento de *S. aureus*; su función principal es proporcionar un ambiente favorable para que las células dañadas puedan recuperar estructuras esenciales, restablecer su actividad metabólica y recuperar su capacidad de crecimiento antes de ser sembradas en medios sólidos; selectivos o diferenciales.

Procedimiento

- I. **Inoculación:** primero se realizó la inoculación de las muestras almacenadas en caldo de preenriquecimiento estéril, en condiciones asépticas.
- II. **Recuperación:** el periodo de incubación (preenriquecimiento) fue de 24 horas a una temperatura de 35 a 37 °C, las células bacterianas aprovechan los nutrientes disponibles en el caldo para reparar y restablecer la integridad de sus membranas, sintetizar enzimas y reconstituir otros componentes celulares esenciales. Estos procesos favorecen la recuperación de su actividad metabólica y su capacidad de crecimiento (viabilidad).
- III. **Preenrequicimiento:** después del periodo de incubación en caldo de preenriquecimiento se sembraron en agar gelosa sangre y agar sal y manitol, lo que nos permitió iniciar con la identificación microbiológica.

3.3. Identificación mediante pruebas bioquímicas.

Tras la recuperación y siembra de las bacterias en los medios previamente descritos, se llevó a cabo las pruebas bioquímicas con el objetivo de identificar la especie de *S. aureus*.

3.3.1. prueba de hemolisis en Agar Gelosa Sangre

El agar sangre permite observar la capacidad de algunas bacterias para la lisis de eritrocitos.

3.3.2. Fermentación de manitol en Agar sal y manitol (MSA).

El medio contiene manitol y rojo de fenol. La fermentación de manitol produce ácidos que cambian el color del medio de rojo a amarillo.

3.3.3. Prueba catalasa

Determina si existe la enzima catalasa, que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (forma burbujas).

3.3.4. Prueba coagulasa (usando plasma de ovino)

Evalúa la capacidad de la bacteria para producir coagulasa, es una enzima que coagula el plasma.

3.3.5. Prueba Voges-Proskauer (VP)

En este trabajo se añadieron al cultivo los reactivos clásicos entre ellos α -naftol (400 microlitros) y una solución alcalina oxidante a base de hidróxido de potasio (KOH) (175 microlitros), que produce la oxidación de acetoin a diacetilo.

La activación de la mezcla con estos reactivos favorece la conversión de acetoin, si está presente, hacia diacetilo, molécula que interactúa con componentes nitrogenados del medio originando una tonalidad rojiza que esta se interpreta como VP positivo y de lo contrario es negativo.

3.4. Siembra de bacterias en agar Müller-Hinton

Tras la recuperación de las bacterias en el cultivo de agua peptonada, se procede a la siembra en medios sólidos con el fin de aislar colonias individuales, favorecer el crecimiento bacteriano y permite la observación de características morfológicas y fisiológicas útiles para su posterior identificación.

La suspensión bacteriana se transfirió a placas de agar Müller-Hinton, con el propósito de obtener un crecimiento uniforme y adecuado para su posterior análisis.

Para la inoculación, se tomó del cultivo recuperado y se realizó una siembra por estría cruzada en el agar, utilizando un asa bacteriológica estéril. Las placas que fueron sembradas se inocularon a 35-37°C durante 18 a 24 horas, favoreciendo el crecimiento bacteriano.

Después, parte del cultivo recuperado fue resembrado en tubos de 10 ml de agar Müeller-Hinton ladeados. Con el fin de mantener cultivos almacenados y viables durante el desarrollo del estudio.

3.5. Método McFarland

Para calcular la cantidad de bacterias se puede hacer por cálculo indirecto y cálculo directo. En el cálculo directo se usa más en el conteo de número total de bacterias vivas y muertas y el cálculo indirecto solo determina las bacterias vivas. El cálculo indirecto se hace mediante la turbidimetría (turbidez) utilizando un espectrofotómetro. El método McFarland es muy utilizado en los laboratorios de microbiología como estándar de referencia visual, nos permite ajustar la turbidez de las suspensiones bacterianas (Bhakti *et al.*, 2023;). Consiste en mezclar Ácido Sulfhídrico (H_2SO_4) al 1% y Cloruro de Bario (BaCl_2), al mezclarlos se forma un precipitado insoluble se Sulfato de Bario (BaSO_4) que enturbia la solución; para este estudio se utilizó como referencia el estándar 0.5, que corresponde a una concentración de 1.5×10^8 Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml), (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2023).

La turbidez se comparó visualmente con un fondo blanco y líneas negras, que se conoce como tarjeta Wickerham (Hombach *et al.*, 2015), se colocó el tubo de referencia, al lado el tubo con solución salina y se fue inoculando *S. aureus* hasta igualar la turbidez.

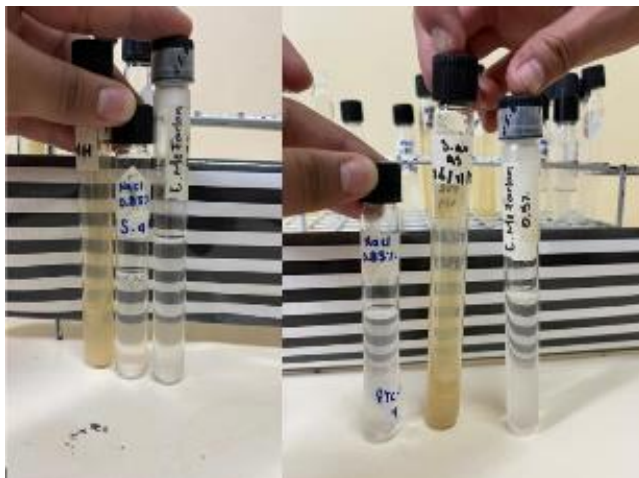


Figura 2. Ajuste de la turbidez de la suspensión bacteriana de *S. aureus* al estándar 0.5 de McFarland, utilizado para estandarizar la concentración del inóculo antes de las pruebas microbiológicas.

3.6. Método Kirby-Bauer

Este método consiste en colocar discos de papel impregnados con concentraciones conocidas de antibióticos sobre la superficie de un agar, previamente inoculado con el microorganismo que es objeto de investigación. Las bacterias van a crecer en toda la placa excepto en las zonas donde hay una concentración de antibióticos que afecte su viabilidad y es ahí donde se formaran “halos de inhibición”, que es el espacio en el que no hay presencia de crecimiento bacteriano y se van a medir en milímetros (*Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023*). Los discos que se utilizaron para impregnarlos de carotenoides en sus diferentes diluciones, se hicieron con papel filtro utilizando una perforadora y después se esterilizaron quedando así listos para la preparación.

3.7. Dilución; carotenoides de hidrosolubles.

Para hacer las diluciones se utilizaron frascos de 10 ml con tapa de rosca con 5 ml de agua tridestilada estéril donde se realizaron diluciones de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 y 1/256, teniendo como base un control positivo, solución madre (SM) y un control negativo, agua (CN). Todo el proceso se efectuó utilizando pipetas eppendorf calibradas, con el fin de garantizar precisión en los volúmenes transferidos (**figura 3**). Se transfirieron 600 µl de cada dilución a los tubos

correspondientes, asegurando que cada disco se impregnara homogéneamente para poder así evaluar la actividad antimicrobiana (**figura 4**).



Figura 3. Proceso de filtración del extracto hidrosoluble (izquierda) y preparación de las diluciones seriadas desde 1/256 hasta 1/2, incluyendo el medio sin muestra (SM), utilizadas para la evaluación de la actividad antimicrobiana.

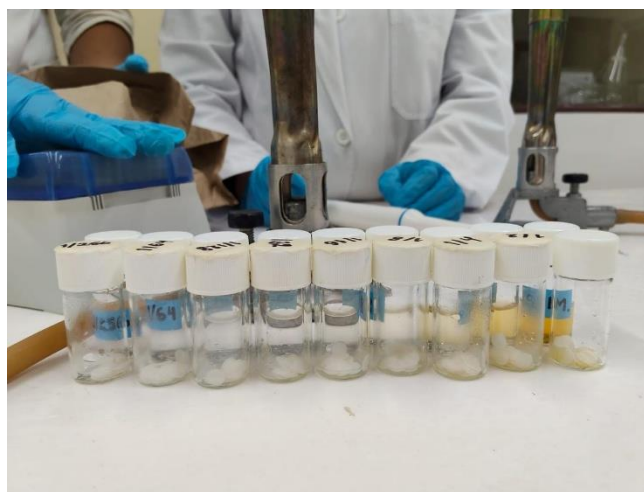


Figura 4. Impregnación de discos de papel filtro estériles con extracto hidrosoluble para la evaluación de la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco.

3.8. Dilución; carotenoides liposolubles.

Las diluciones se realizaron en frascos de 10 ml con tapa de rosca, estos frascos se esterilizaron para poder iniciar con las diluciones, en el caso de los carotenoides liposolubles utilizamos alcohol absoluto para poder hacer las diluciones, estas se hicieron a una concentración de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 y 1/256; SM y CN. Todo el proceso se efectuó utilizando pipetas eppendorf calibradas, con el fin de garantizar precisión en los volúmenes transferidos. Se transfirieron 600 µl de

cada dilución a los tubos correspondientes, asegurando que cada disco se impregnara homogéneamente y poder realizar la prueba de sensibilidad – resistencia a los carotenoides liposolubles.



Figura 5. Preparación de las diluciones seriadas del extracto liposoluble utilizadas para la evaluación de la actividad antimicrobiana.

3.9. Procedimiento experimental.

Para iniciar con el procedimiento experimental se utilizó Agar Mueller Hinton en caja Petri, una vez pasada la prueba de esterilidad, se inocularon los *S.aureus* tomados del tubo donde se llevó a una turbidez de 0.5 de acuerdo con la escala McFarland, con un hisopo. Se dejó reposar por un minuto para después depositar los discos impregnado a las diferentes concentraciones.

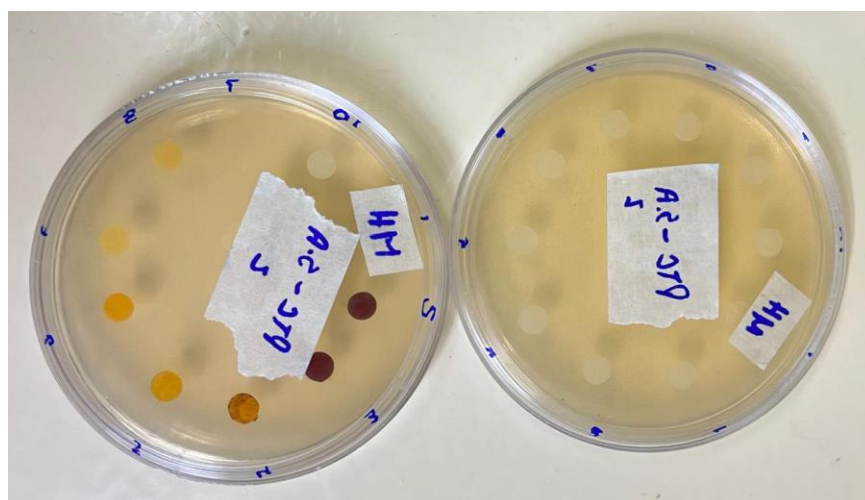


Figura 6. impregnación de los discos en la placa Petri con el método kirby-Bauer

Utilizamos de referencia el método Kirby-Bauer, impregnando los discos con carotenoides (hidrosolubles y liposolubles) a diferentes concentraciones; 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 y 1/256; SM y CN. Después se llevó a incubar a una temperatura de 35°C con una variación de 2° y se tomó lectura a las 24, 48 y 72 horas.

4. RESULTADOS.

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los carotenoides hidrosolubles y liposolubles frente a *S. aureus* mediante la técnica Kirby-Bauer. Los halos de inhibición fueron medidos a las 24, 48 y 72 horas después de iniciada la incubación, utilizando las diluciones ya mencionadas de los carotenoides en sus dos presentaciones, hidrosolubles y liposolubles. Los resultados obtenidos, los halos de inhibición se midieron con una regla y los resultados, que se muestran a continuación, la unidad de medida fue en milímetros (mm). Las cajas Petri de los carotenoides hidrosolubles y liposolubles se identificaron como Proyecto de Tesis Carotenoides *S. aureus* (PTC-SA); para tener la certeza de la respuesta (sensibilidad - resistencia) se hicieron cuatro repeticiones de cada una de las presentaciones de los carotenoides, quedando la identificación: Proyecto de Tesis Carotenoides *S. aureus*, primera repetición (PTC-SA 1), Proyecto de Tesis Carotenoides *S. aureus*, segunda repetición (PTC-SA 2), etc. Los resultados obtenidos en este proyecto se presentan en las Tablas 1 a 6.

Tabla 1. Lectura a las 24 horas de C. Hidrosoluble.

PTC-SA Hidrosoluble										
Caja Petri	CN	1/256	1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	SM
PTC-SA 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A las 24 horas de incubación, ninguna de las concentraciones evaluadas del extracto hidrosoluble presentó actividad inhibitoria frente a *S. aureus*. En las cuatro

repeticiones analizadas (PTC-SA 1, PTC-SA 2, PTC-SA 3 y PTC-SA 4), los diámetros de los halos de inhibición fueron de 0 mm en todas las diluciones ensayadas (1/256, 1/128, 1/64, 1/32, 1/16, 1/8, 1/4 y 1/2).

Asimismo, el control negativo (CN) y en la solución madre (SM) tampoco mostraron halos de inhibición, registrándose valores de 0 mm en todas las repeticiones.

Estos resultados indican que, bajo las condiciones experimentales empleadas y durante las primeras 24 horas de incubación, el tratamiento PTC no ejerció un efecto antimicrobiano detectable contra *S. aureus*, ya que no se observó inhibición del crecimiento bacteriano en ninguna de las concentraciones evaluadas.

Tabla 2. Lectura a las 24 horas de C. Liposoluble.

PTC-SA Liposoluble										
Caja Petri	CN	1/256	1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	SM
PTC-SA 1	0	0	3 mm	0	0	1 mm	0	0	.5 mm	0
PTC-SA 2	0	1 mm	.1 mm	.1 mm	.1 mm	1 mm	.1 mm	0	0	0
PTC-SA 3	0	0	1 mm	.5 mm	.1 mm	.5 mm	.5 mm	0	0	0
PTC-SA 4	0	.5 mm	1 mm	1 mm	0	.5 mm	.1 mm	0	0	0

A las 24 horas de incubación, el extracto liposoluble mostró una actividad inhibitoria variable frente a *S. aureus*, dependiendo de la dilución evaluada. En general, los diámetros de los halos de inhibición fueron pequeños, oscilando entre 0 y 3 mm.

La mayor actividad antimicrobiana se observó en la repetición PTC-SA 1 a la dilución 1/128, donde se registró un halo de inhibición de 3 mm. En esta misma repetición también se observaron halos de 1 mm en la dilución 1/16 y de 0.5 mm en la dilución 1/2.

En la repetición PTC-SA 2 se detectaron halos de inhibición de 1 mm en las diluciones 1/128 y 1/16, mientras que en las diluciones 1/64, 1/32, y 1/8 se registraron halos de 0.1 mm. No se observó inhibición en el resto de las concentraciones evaluadas.

La repetición PTC-SA 3 presentó un halo de 1 mm en la dilución 1/128, halos de 0.5 mm en las diluciones 1/64, 1/16 y 1/8, y en la 1/32 se presentó un punto de inhibición de .1 mm y ausencia de inhibición en las demás diluciones.

Por su parte, la repetición PTC-SA 4 mostró halos de 1 mm en las diluciones 1/64 y 1/128, un halo de 0.5 mm en las diluciones 1/256 y 1/16, y un halo de 0.1 mm en la dilución 1/8.

El control negativo (CN) y en la solución madre (SM) no presentaron halos de inhibición en ninguna de las repeticiones, indicando ausencia de actividad antimicrobiana en estos tratamientos. En términos generales, la dilución 1/64 fue la que mostró la mayor actividad inhibitoria, mientras que las demás concentraciones produjeron halos reducidos o nulos, lo que sugiere una actividad antimicrobiana limitada bajo las condiciones evaluadas.

Tabla 3. Lectura a las 48 horas de C. Hidrosoluble.

PTC-SA Hidrosoluble										
Caja Petri	CN	1/256	1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	SM
PTC-SA 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

En las 48 horas de incubación, no se observó actividad antimicrobiana del extracto hidrosoluble frente a *S. aureus* en ninguna de las concentraciones evaluadas. Las cuatro repeticiones analizadas (PTC-SA 1, PTC-SA 2, PTC-SA 3 y PTC-SA 4) presentaron halos de inhibición de 0 mm en todas las diluciones ensayadas (1/256, 1/128, 1/64, 1/32, 1/16, 1/8, 1/4 y 1/2). Igual en la CN y en la SM también se observaron 0 mm en todas las repeticiones.

En conjunto, los resultados obtenidos a las 48 horas indican que el extracto hidrosoluble no produjo un efecto inhibitorio detectable sobre el crecimiento de *S. aureus* bajo las condiciones experimentales evaluadas. Además, la ausencia de

halos de inhibición en todas las concentraciones sugiere que el incremento del tiempo de incubación de 24 a 48 horas no modificó la respuesta bacteriana ni favoreció la aparición de actividad antimicrobiana.

Tabla 4. Lectura a las 48 horas de C. Liposoluble.

PTC-SA Liposoluble										
Caja Petri	CN	1/256	1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	SM
PTC-SA 1	0	0	3 mm	.1 mm	.1 mm	1 mm	0	0	.5 mm	0
PTC-SA 2	0	1 mm	.1 mm	.1 mm	.1 mm	1 mm	.1 mm	0	0	0
PTC-SA 3	0	0	1 mm	.5 mm	.1 mm	.5 mm	.5 mm	0	0	0
PTC-SA 4	0	.5 mm	1 mm	1 mm	0	.5 mm	0	0	0	0

La lectura a las 48 horas de incubación, el extracto liposoluble presentó actividad antimicrobiana variable frente a *S. aureus*, observándose halos de inhibición de entre 0.1 y 3 mm dependiendo de la dilución y la repetición analizada.

La mayor actividad inhibitoria se registró en la repetición PTC-SA 1 a la dilución 1/128, donde se observó un halo de inhibición de 3 mm. En esta misma repetición también se detectaron halos de 1 mm en la dilución 1/16, de 0.5 mm en la dilución 1/2 y de 0.1 mm en las diluciones 1/64 y 1/32.

La repetición PTC-SA 2 presentó halos de 1 mm en las diluciones 1/256 y 1/16, mientras que las diluciones 1/128, 1/64, 1/32 y 1/8 mostraron halos de 0.1 mm. No se observó inhibición en las restantes concentraciones.

En la repetición PTC-SA 3, se registró un halo de 1 mm en la dilución 1/128, halos de 0.5 mm en las diluciones 1/64, 1/16 y 1/8, y un halo de 0.1 mm en la dilución 1/32. Las demás concentraciones no mostraron actividad inhibitoria.

Por su parte, la repetición PTC-SA 4 presentó halos de 1 mm en las diluciones 1/128 y 1/64, halos de 0.5 mm en las diluciones 1/256 y 1/16, y ausencia de inhibición en las demás concentraciones evaluadas.

Los controles negativos CN y en la SM no presentaron halos de inhibición en ninguna de las repeticiones, lo que confirma que la inhibición observada se atribuye exclusivamente al tratamiento evaluado.

Tabla 5. Lectura a las 72 horas de C. Hidrosoluble.

PTC-SA Hidrosoluble										
Caja Petri	CN	1/256	1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	SM
PTC-SA 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PTC-SA 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

También a las 72 horas de incubación, el tratamiento PTC no presentó actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* en ninguna de las concentraciones evaluadas. En las cuatro repeticiones analizadas (PTC-SA 1, PTC-SA 2, PTC-SA 3 y PTC-SA 4), los diámetros de los halos de inhibición fueron de 0 mm para todas las diluciones ensayadas (1/256, 1/128, 1/64, 1/32, 1/16, 1/8, 1/4 y 1/2). Asimismo, en la CN y SM se registraron valores de 0 mm en todas las repeticiones.

No se observaron halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas de incubación en ninguna de las concentraciones evaluadas, lo que indica ausencia de actividad antimicrobiana en el extracto hidrosoluble frente a *S. aureus*.

Tabla 6. Lectura a las 72 horas de C. Liposoluble.

PTC-SA Liposoluble										
Caja Petri	CN	1/256	1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	SM
PTC-SA 1	0	0	3 mm	.1 mm	.1 mm	1 mm	0	0	.5 mm	0
PTC-SA 2	0	1 mm	.1 mm	.1 mm	.1 mm	1 mm	.1 mm	0	0	0
PTC-SA 3	0	0	1 mm	.5 mm	.1 mm	.5 mm	.5 mm	0	0	0
PTC-SA 4	0	.5 mm	1 mm	1 mm	0	.5 mm	0	0	0	0

A las 72 horas de incubación, el extracto liposoluble presentó actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, aunque los halos de inhibición observados fueron de tamaño reducido y variaron entre las diferentes repeticiones y diluciones evaluadas.

La mayor actividad inhibitoria se registró en la repetición PTC-SA 1 a la dilución 1/128, donde se observó un halo de inhibición de 3 mm. En esta misma repetición también se detectaron halos de 1 mm en la dilución 1/16, de 0.5 mm en la dilución 1/2 y de 0.1 mm en las diluciones 1/64 y 1/32.

En la repetición PTC-SA 2, se observaron halos de 1 mm en las diluciones 1/256 y 1/16, mientras que las diluciones 1/128, 1/64, 1/32 y 1/8 presentaron halos de 0.1 mm. No se registró inhibición en las demás concentraciones.

La repetición PTC-SA 3 mostró un halo de 1 mm en la dilución 1/128, halos de 0.5 mm en las diluciones 1/64, 1/16 y 1/8, y un halo de 0.1 mm en la dilución 1/32. En las concentraciones restantes no se observó inhibición del crecimiento bacteriano.

Por su parte, la repetición PTC-SA 4 presentó halos de 1 mm en las diluciones 1/128 y 1/64, halos de 0.5 mm en las diluciones 1/256 y 1/16, y ausencia de inhibición en las demás concentraciones evaluadas.

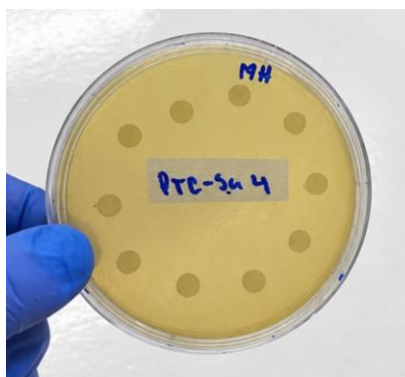


Figura 7. Lectura de la actividad antimicrobiana del extracto hidrosoluble frente a *S. aureus* en la caja Petri PTC-SA 4 a las 72 horas de incubación.



Figura 8. Lectura de la actividad antimicrobiana del extracto liposoluble frente a *S. aureus* en la caja Petri PTC-SA 1 a las 72 horas de incubación.

5. DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron que los carotenoides hidrosolubles, a las concentraciones utilizadas: SM, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 y 1/256, no presentan actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, ya que, en todas las concentraciones evaluadas, y durante los tres tiempos de incubación (24, 48 y 72 horas), no presentaron inhibición alguna, es decir, los halos de inhibición fueron de 0.0 mm, esto bajo condiciones experimentales in vitro.

Por otro lado, el extracto liposoluble mostró una actividad antimicrobiana limitada, las concentraciones utilizadas: SM, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 y 1/256, observándose halos de inhibición pequeños que oscilaron entre 0.1 y 3 mm. El mayor halo de inhibición se registró en la dilución 1/128, donde se observó un halo de 3 mm en una de las repeticiones. Sin embargo, la respuesta no fue uniforme entre las repeticiones, ni en concentraciones evaluadas, lo que indica una baja actividad inhibitoria de este producto frente a *S. aureus*. Estos resultados coinciden parcialmente con investigaciones que señalan que algunos carotenoides, especialmente el licopeno y el β -caroteno, poseen propiedades antimicrobianas asociadas a su capacidad antioxidante y a la alteración de procesos celulares bacterianos (Yun y Lee, 2017). No obstante, la magnitud del efecto observado en este estudio fue reducida, posiblemente debido a factores como la concentración utilizada, la estabilidad de los compuestos o la resistencia intrínseca de la cepa bacteriana evaluada. En este contexto, aunque los carotenoides mostraron cierto

potencial inhibitorio en su forma liposoluble, los resultados obtenidos indican que su actividad es insuficiente para considerarlos como una alternativa terapéutica única frente a infecciones causadas por este microorganismo.

6. CONCLUSIÓN

El presente estudio permitió evaluar el efecto antimicrobiano de los carotenoides sobre cepas de *S. aureus*, aisladas de casos asociados a dermatosis canina, los resultados evidenciaron que los carotenoides hidrosolubles no presentaron capacidad inhibitoria frente al crecimiento de *S. aureus*, mientras que el extracto liposoluble mostró actividad antimicrobiana, aunque reducida. reflejada en halos de inhibición de escasa magnitud.

Estos hallazgos indican que, bajo las condiciones experimentales utilizadas, los carotenoides evaluados, aparentemente no fueron suficientemente efectivos para inhibir de manera significativa el desarrollo de *S. aureus*. Sin embargo, la presencia de halos de inhibición en algunas diluciones del extracto liposoluble sugiere que ciertos carotenoides podrían poseer actividad biológica capaz de afectar parcialmente el crecimiento bacteriano.

Los carotenoides podrían considerarse compuestos de interés para futuras investigaciones, especialmente en combinación con otros antimicrobianos o utilizando métodos de extracción y formulación que incrementen su biodisponibilidad y eficacia antimicrobiana. Considerando la creciente problemática de la resistencia antimicrobiana en medicina veterinaria, los resultados obtenidos aportan información valiosa sobre el potencial de los compuestos naturales como alternativa complementaria para el control de bacterias patógenas. Se recomienda realizar estudios complementarios que permitan determinar con mayor precisión la CMI y evaluar otros mecanismos de acción frente a cepas clínicas resistentes de *S. aureus*. Cabe hacer mención que en este trabajo se utilizaron microorganismos (*S. aureus*) obtenidos de animales con problemas recurrentes de dermatosis, por lo tanto, estas poblaciones ya habían sido expuesta a tratamiento farmacológico y la probabilidad de haber adquirido resistencia, es muy elevada.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Arora, P., Mukhopadhyay, C. S., y Kaur, S. (2024). Comparative genome wise analysis of codon usage of *Staphylococcus* Genus. *Current genetics*, 70(1), 10. <https://doi.org/10.1007/s00294-024-01297-3>
- Ávila Morocho, C. A., y Cando Barreto, B. E. (2024). Estandarización de una microtécnica de cuantificación de carotenoides en matrices vegetales y microbianas. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/45885>
- Azqueta, A., y Collins, A. R. (2012). Carotenoids and DNA damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 733(1-2), 4-13. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.03.005>
- Bhakti, T. S., Porwanti, R., Pribadi, P., y Rahmawati, D. (2023). Total Plate Number Test at 0.5 McFarland Standard in *Escherichia coli* Culture. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 25(2), 94–97. <https://doi.org/10.14710/bioma.2023.52057>
- Bustos-Martínez, J. A., Hamdan-Partida, A., y Gutiérrez-Cárdenas, M. (2006). *Staphylococcus aureus: La reemergencia de un patógeno en la comunidad*. Revista Biomédica, 17(4), 287–305. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v17i4.467>
- Caneschi, A., Bardhi, A., Barbarossa, A., y Zaghini, A. (2023). The Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine, a Complex Phenomenon: A Narrative Review. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(3), 487. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030487>
- Cervantes-García, E., García-González, R., y Salazar-Schettino, P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1), 28–40. <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., y Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>

- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (11th ed., CLSI standard M07). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (33rd ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Collins, A. R., Olmedilla, B., Southon, S., Granado, F., y Duthie, S. J. (1998). Serum carotenoids and oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Carcinogenesis*, 19(12), 2159-2162. <https://doi.org/10.1093/carcin/19.12.2159>
- Crupi, P., Faienza, M. F., Naeem, M. Y., Corbo, F., Clodoveo, M. L., y Muraglia, M. (2023). Overview of the potential beneficial effects of carotenoids on consumer health and well-being. *Antioxidants*, 12(5), 1069. <https://doi.org/10.3390/antiox12051069>
- Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infection and drug resistance*, 3903-3910. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>
- Escandón Mantilla, M. M. (2024). *Extracción, purificación e identificación de carotenos del bagazo de la zanahoria y su aplicación en un producto alimenticio* (Bachelor's thesis, Riobamba).
- Espinosa Castaño, I., Báez Arias, M., Hernández Fillor, R. E., López Dorta, Y., Lobo Rivero, E., y Corona-González, B. (2019). Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: desafíos para su contención desde el laboratorio. *Revista de salud animal*, 41(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2019000300008
- Fernandes, Â. R., Rodrigues, A. G., y Cobrado, L. (2024). *Effect of prolonged exposure to disinfectants in the antimicrobial resistance profile of relevant micro-organisms: A systematic review*. *Journal of Hospital Infection*, 151, 45–59. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2024.04.017>

- Fernández, L., Breidenstein, E. B., y Hancock, R. E. (2011). Creeping baselines and adaptive resistance to antibiotics. *Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 14(1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2011.01.001>
- Fernández, L., y Hancock, R. E. (2012). Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical microbiology reviews*, 25(4), 661–681. <https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12>
- Flemming H.-C., Wingender J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., y Kjelleberg, S. (2016). *Biofilms: An emergent form of bacterial life*. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>
- Foster T. J. (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS microbiology reviews*, 41(3), 430–449. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux007>
- Foster, T. J., Geoghegan, J. A., Ganesh, V. K., y Höök, M. (2014). *Adhesion, invasion and evasion: The many functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3161>
- Galgano, M., Pellegrini, F., Catalano, E., Capozzi, L., Del Sambro, L., Sposato, A., Lucente, M. S., Vasinioti, V. I., Catella, C., Odigie, A. E., Tempesta, M., Pratelli, A., y Capozza, P. (2025). Acquired Bacterial Resistance to Antibiotics and Resistance Genes: From Past to Future. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 14(3), 222. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030222>
- Holmes, A. H., Moore, L. S., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., ... y Piddock, L. J. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 387(10014), 176–187. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00473-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00473-0)
- Hombach, M., Maurer, F. P., Pfiffner, T., Böttger, E. C., y Furrer, R. (2015). *Standardization of operator-dependent variables affecting precision and accuracy of the disk diffusion method for antibiotic susceptibility testing*.

- Journal of Clinical Microbiology*, 53(12), 3864–3869.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02351-15>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2024). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI. Portal oficial del INEGI.
<https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=889463921820>
- Jiménez-Velásquez, S., Pacheco-Montealegre, M. E., Torres-Higuera, L., Uribe-Gutiérrez, L., Burbano-David, D., Dávila-Mora, L. L., Renjifo-Ibáñez, C., y Caro-Quintero, A. (2024). Genus-targeted markers for the taxonomic identification and monitoring of coagulase-positive and coagulase-negative *Staphylococcus* species. *World journal of microbiology & biotechnology*, 40(11), 333. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04121-9>
- Kamboj, A., Nad, S., Tripathi, T., y Konar, U. (2021). Pharmacological effects of lycopene-A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 70(2), 305-313.
<https://doi.org/10.47583/IJPSRR.2021.V70I02.037>
- Kołodziejczyk, A. M., y Karwowski, B. (2025). Anti-DNA damage mechanisms and the role of carotenoids, Vitamin A, and its derivatives. *Nutrients*, 17(17), 2721.
<https://doi.org/10.3390/nu17172721>
- Liu, H. Y., Prentice, E. L., y Webber, M. A. (2024). *Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms*. NPJ Antimicrobials and Resistance, 2(27).
<https://doi.org/10.1038/s44259-024-00046-3>
- Lloyd, D. H., y Page, S. W. (2018). Antimicrobial Stewardship in Veterinary Medicine. *Microbiology spectrum*, 6(3), 10.1128/microbiolspec.arba-0023-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0023-2017>
- Milani, A., Basirnejad, M., Shahbazi, S., y Bolhassani, A. (2017). Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *British journal of pharmacology*, 174(11), 1290-1324. <https://doi.org/10.1111/bph.13625>

- Peterson, E., y Kaur, P. (2018). Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Relationships Between Resistance Determinants of Antibiotic Producers, Environmental Bacteria, and Clinical Pathogens. *Frontiers in microbiology*, 9, 2928. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02928>
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., y Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and global health*, 109(7), 309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
- Rao, AV y Rao, LG (2007). Carotenoides y salud humana. *Investigación farmacológica*, 55 (3), 207-216. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>
- Russo, T. P., Borrelli, L., Minichino, A., Fioretti, A., y Dipineto, L. (2024). Occurrence and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Healthy Pet Rabbits. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 24(3), 135–140. <https://doi.org/10.1089/vbz.2023.0066>
- Stahl, W., y Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345-351. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)
- Szafraniec, G. M., Szeleszczuk, P., y Dolka, B. (2022). Review on skeletal disorders caused by *Staphylococcus* spp. in poultry. *Veterinary Quarterly*, 42(1), 21-40. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2033880>
- Tam, K., y Torres, V. J. (2019). *Staphylococcus aureus* secreted toxins and extracellular enzymes. *Microbiology Spectrum*, 7(2). <https://doi.org/10.1128/MicrobiolSpec.GPP3-0039-2018>
- Viana, G. G. F., Cardozo, M. V., Pereira, J. G., y Rossi, G. A. M. (2025). Antimicrobial Resistant *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* spp. in Food Handlers: A Global Review of Persistence, Transmission, and Mitigation Challenges. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 14(5), 496. <https://doi.org/10.3390/pathogens14050496>

- Xie Lu, H., Liu, Y., Hu, G., Lian, S., Liu, J., Pang, S., Zhu, G. y Ding, X. (2025). Revelando los mecanismos de resistencia bacteriana y sus contramedidas. *Patógenos*, 14 (11), 1085. <https://doi.org/10.3390/pathogens14111085>
- Yun, D. G., y Lee, D. G. (2017). *Antimicrobial effects and applications of lycopene*. En *Lycopene: Advances in Research and Applications* (pp. 63–81). Nova Science Publishers.
- Zendejas-Manzo, G. S., Ávalos-Flores, H., y Soto-Padilla, M. Y. (2014). *Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación*. *Revista Biomédica*, 25(3), 129–143. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v25i3.42>