

**EXTRACCIÓN DE ACEITE DE LIMONCILLO (*Cymbopogon* sp.) Y ORÉGANO  
(*Plectranthus* sp.) PARA EL CONTROL DE *Staphylococcus* sp. Y  
GARRAPATAS *Rhipicephalus* sp IN VITRO**

**VALENTINA DE JESUS GUTIERREZ FUENTES  
KAROLL MARIA FUENTES VICTOR**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR  
FACULTAD CIENCIAS BASICAS  
PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA  
VALLEDUPAR**

**2023**

**EXTRACCIÓN DE ACEITE DE LIMONCILLO (*Cymbopogon* sp.) Y ORÉGANO  
(*Plectranthus* sp.) PARA EL CONTROL DE *Staphylococcus* sp. Y  
GARRAPATAS *Rhipicephalus* sp IN VITRO**

**VALENTINA DE JESUS GUTIERREZ FUENTES  
KAROLL MARIA FUENTES VICTOR**

**Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Microbiólogo**

**DIRECTOR**

**ASLENIS EMIDIA MELO**

**PROFESION**

**MICROBIOLOGA MSc**

**CODIRECTOR**

**ABDO BARRERA**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR**

**FACULTAD CIENCIAS BASICAS**

**PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA**

**VALLEDUPAR**

**2023**

**EXTRACCIÓN DE ACEITE DE LIMONCILLO (*Cymbopogon* sp.) Y ORÉGANO  
(*Plectranthus* sp.) PARA EL CONTROL DE *Staphylococcus* sp. Y  
GARRAPATAS *Rhipicephalus* sp IN VITRO.**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

---

---

**Firma del presidente del jurado**

---

**Firma del jurado**

---

**Firma del jurado**

## **Agradecimientos**

Primeramente, quiero darle las gracias a Dios por haberme permitido subir un peldaño más en la escalera de la vida para llegar a obtener mi título profesional, también agradezco a mi alma mater la Universidad POPULAR DEL CESAR por brindarme la oportunidad de estudiar en sus instalaciones, a la facultad de ciencias básicas, al programa de microbiología, a todos los docentes del programa en general quienes con paciencia y dedicación hicieron de mí una gran profesional.

Agradezco a ASLENIS EMIDIA MELO RIOS por haber aceptado ser mi tutora y acompañarme durante todo este trabajo de investigación, trabajando juntas de la mano arduamente para sacar adelante este gran proyecto.

Finalmente agradezco a todos mis compañeros en general, quienes hicieron parte fundamental del camino que recorrí durante todos los niveles de la universidad para llegar hasta aquí, ya que con su amistad y apoyo me llenaron de fuerzas en momentos que quise desfallecer.

## **Dedicatorias**

A Dios por darme siempre las fuerzas para seguir adelante a pesar de las adversidades.

A mis amados padres Bedonis Gutiérrez & Julieth Fuentes por apoyarme siempre, por los valores que me inculcaron desde niña, por sus consejos, por motivarme cada día a seguir adelante, por depositar toda su confianza en mí cuando inicie este camino que me llevaría a ser una gran profesional; gracias a ustedes estoy aquí a un pasito de graduarme como MICROBIOLOGA a ustedes les dedico esta tesis con todo mi corazón, Los amo.

A mis familiares en general, pero especialmente a mis abuelas Lilia Zuleta (QEPD) & Eloísa Suarez por su apoyo incondicional y por estar siempre para mí.

Dedicó este trabajo de investigación a mis seres queridos, quienes han sido mi fuente de apoyo inquebrantable a lo largo de esta ardua, pero gráficante travesía académica. Agradezco a Dios Por haberme otorgado una familia maravillosa, a mi papá, mamá, hermano y abuela, quienes han creído en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio; por su amor incondicional y comprensión, a mis amigos, por su aliento constante y amistad sincera, a mis profesores y mentores, cuya sabiduría y orientación han sido fundamentales en mi formación como microbióloga.

Que este trabajo sea un tributo a la ciencia y a la búsqueda incansable del conocimiento, y que contribuya de alguna manera a mejorar nuestro entendimiento y aprecio por los microorganismos que desempeñan un papel vital en nuestro mundo.

Gracias a todos aquellos que han sido parte de este viaje, por su apoyo y motivación constante. Esta tesis es el fruto de nuestro esfuerzo colectivo y de nuestra pasión compartida por la microbiología.

## Tabla de Contenido

Resumen .....	9
1 Introducción.....	11
2 Planeamiento del problema.....	12
3 Justificación.....	14
4 Objetivos .....	16
4.1 Objetivo general .....	16
4.2 Objetivos específicos .....	16
5 MARCO TEÓRICO.....	16
5.1 Antecedentes y/o estado del arte .....	16
5.2 Bases teóricas.....	18
5.2.1 Garrapatas ( <i>Rhipicephalus</i> sp) .....	18
5.2.2 <i>Staphylococcus</i> spp.....	20
5.2.3 Aceites esenciales.....	21
5.2.4 Limoncillo ( <i>Cymbopogon</i> sp) .....	22
5.2.5 Orégano ( <i>Plectranthus</i> sp).....	23
Figura 1. Principales componentes del orégano.....	23
5.2.6 Importancia de alternativas naturales para control de insectos y microorganismos.....	24
6 Marco Legal .....	25

7	Materiales Métodos.....	26
7.1	Tipo de estudio.....	26
7.2	Población y muestra.....	26
7.3	Material vegetal.....	26
7.4	Extracción de aceites esenciales .....	26
	Figura 2. Equipo de extracción de aceite esenciales.....	27
7.5	Obtención de cepa bacteriana .....	27
7.6	Evaluación de acción insecticida.....	27
7.6.1	Aceite de limoncillo .....	28
7.6.2	Aceite de orégano.....	28
7.6.3	Aceite de limoncillo y orégano .....	28
7.7	Evaluación de acción antimicrobiana .....	28
7.7.1	Aceite de limoncillo .....	28
7.7.2	Aceite de orégano.....	29
7.7.3	Aceite de limoncillo + orégano.....	29
7.8	Análisis estadístico.....	29
8	Resultados y Discusión .....	30
8.1	Rendimiento y densidad.....	30
8.2	Evaluación de acción insecticida.....	31

Grafica 1. Determinación de diferencias significativas entre tratamiento según post-hoc de Duncan (alfa=0,05). .....	32
8.3 Evaluación de Mortalidad de las garrapatas .....	34
Grafica 2. Mortalidad de los tratamientos de limoncillo, orégano y Mixto con concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % y 10 %....	<b>Error!</b>
<b>Bookmark not defined.</b>	
8.4 Evaluación de acción antimicrobiana .....	35
Tabla 1. Inhibición del aceite de limoncillo frente a <i>Staphylococcus</i> sp.....	37
9 Conclusión .....	38
10 Recomendaciones.....	38
11 Bibliografía.....	39
12 Anexos .....	55

### Figuras

Figura 1. Principales componentes del orégano.....	23
Figura 2. Equipo de extracción de aceite esenciales.....	27

### Tablas

Tabla 1. Inhibición del aceite de limoncillo frente a <i>Staphylococcus</i> sp.....	37
---	----

### Graficas

Grafica 1. Determinación de diferencias significativas entre tratamiento según post-hoc de Duncan (alfa=0,05).....	32
--	----

## Resumen

Los aceites esenciales de orégano y limoncillo contienen compuestos como el timol y el carvacrol, que poseen propiedades antimicrobianas y acaricidas. Estas propiedades les permiten eliminar bacterias, hongos, parásitos e insectos. En animales, la garrapata actúa como vector de enfermedades que debilitan el sistema inmunológico, mientras que *Staphylococcus* sp. es oportunista. Por ello, esta investigación se planteó el objetivo de determinar la eficacia de los aceites de limoncillo y orégano contra las garrapatas *Rhipicephalus* sp. y la bacteria *Staphylococcus* spp.

En el estudio, se obtuvieron los aceites esenciales mediante destilación al vapor. Se prepararon diferentes concentraciones (0,1 % a 10 %) para tratar las garrapatas y concentraciones adicionales (12 % a 100 %) para tratar *Staphylococcus* spp. Para las garrapatas, se aplicó el aceite con ayuda de un aspersor sobre cinco ejemplares en una caja de Petri. Para *Staphylococcus* spp., se inoculó el aceite en discos distribuidos en el medio de cultivo, siguiendo una concentración de 0,5 según la escala de McFarland.

Los resultados mostraron que las garrapatas murieron a las tres horas en los tres tratamientos. El análisis estadístico (Probit, ANOVA y Duncan con un nivel de significancia de 0,05) reveló diferencias significativas en el tratamiento con aceite de limoncillo en concentraciones de 0,1 % y 10 %. También se observaron cambios en las patas de las garrapatas tratadas con aceite de orégano en comparación con otros tratamientos. Respecto a *Staphylococcus* spp., hubo inhibición total en

concentraciones del 12 % al 100 %, por lo que se concluyó que los aceites de orégano y limoncillo tienen propiedades que le permiten la eliminación de *Rhipicephalus* sp. e *Staphylococcus* spp por lo cual se puede utilizar como alternativa de control en concentraciones  $\geq 50\%$ .

### **Abstract**

Oregano and lemongrass essential oils contain compounds such as thymol and carvacrol, which have antimicrobial and acaricidal properties. These properties allow them to eliminate bacteria, fungi, parasites and insects. The tick acts as a vector of diseases that weaken the immune system, while *Staphylococcus* sp. is opportunistic. Therefore, the objective of this research was to determine the efficacy of lemongrass and oregano oils against *Rhipicephalus* sp. ticks and *Staphylococcus* spp. bacteria. In the study, the essential oils were obtained by steam distillation. Different concentrations (0.1 % to 10 %) were prepared to treat ticks and additional concentrations (12 % to 100 %) to treat *Staphylococcus* spp. For ticks, the oil was applied with the help of a sprayer on five specimens in a Petri dish. For *Staphylococcus* spp. the oil was inoculated in discs distributed in the culture medium, following a concentration of 0.5 according to the McFarland scale.

The results showed that the ticks died after three hours in the three treatments. Statistical analysis (Probit, ANOVA and Duncan at a significance level of 0.05) revealed significant differences in the lemongrass oil treatment at concentrations of 0.1 % and 10 %. Changes were also observed in the legs of ticks treated with oregano oil compared to other treatments. Regarding *Staphylococcus* spp. there was total inhibition in concentrations from 12 % to 100 %, so it was concluded that oregano and lemongrass oils have properties that allow the elimination of

*Rhipicephalus* sp. and *Staphylococcus* spp. so it can be used as a control alternative in concentrations  $\geq 50\%$ .

## 1 Introducción

*Rhipicephalus sanguineus* o comúnmente denominada garrapata marrón, es un artrópodo ampliamente distribuido a nivel mundial; se han determinado tres linajes de estas garrapatas los cuales presentan patrones geográficos y climáticos distintos estos son *Rhipicephalus* sp. I, *Rhipicephalus* sp. III y *Rhipicephalus* sp. IV y son de importancia económica, salud animal y para la salud pública debido a que son vectores de múltiples vectores (Dantas et al., 2013; Páez et al., 2021).

En salud animal enfatizando en los caninos las garrapatas son vectores que transmiten bacterias del género *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Rickettsia* (Borras et al., 2019; Vargas et al., 2012); algunas de estas enfermedades son de interés zoonótico como *Rickettsia massiliae* causante de la fiebre manchada la cual se ha encontrado presente en los humanos, el valor de prevalencia de esta bacteria en *Rhipicephalus sanguineus* es de 2 al 20% (Borras et al., 2019).

Los piodermas son lesiones presentes en la piel de los caninos las cuales pueden ser generadas bacterias del género *Staphylococcus* sp. la cual forma parte del microbiota normal de los caninos, es considerado un patógeno oportunista que solo genera enfermedad cuando el animal de encuentra con el sistema inmune débil, su control con antimicrobianos se ve limitado debido a que es multirresistentes en presencia de antibióticos como Oxacilina, Erytromicina, Clidamicina, Trimetoprima, Ciprofloxacino, Cloranfenicol (Giacoboni et al., 2017).

A causa del daño ambiental que genera el uso de productos químicos, la resistencia a los acaricidas y resistencia a antibióticos generados por la búsqueda del control

de las garrapatas y bacterias como *Staphylococcus* sp. Los aceites esenciales nacen como alternativa sostenible que puede ser efectiva para el control de estas dos problemáticas que afectan la salud animal, medio ambiente, la economía y la salud pública (Klafke et al., 2013; Páez et al., 2021); el limoncillo y el orégano son aceites esenciales cuyas propiedades son antiinflamatorias, antibacterianas, insecticidas, antivirales y antioxidativas, esto se debe a su contenido de carvacrol, timol, terpenos, pineno y terpineno los cuales pueden ser la alternativa que limite los usos de acaricidas y antibióticos. (Semante, 2022). Por lo descrito se plantea determinar la Efectividad de los aceites de limoncillo y orégano sobre garrapatas *Rhipicephalus* sp. y *Staphylococcus* spp.

## 2 Planeamiento del problema

Los patógenos son microorganismos que tienen la capacidad de generar daño o enfermedad al huésped, estos se dividen en 4 grupos: bacterias, parásitos, hongos y virus; Estos pueden ser transmitidos por las garrapatas consideradas ectoparásitos hematófagos y un vector. *Rhipicephalus sanguineus* o conocida como garrapata marrón se encuentra distribuida a nivel mundial, es un artrópodo de importancia económica y en salud pública (Páez et al., 2021; Šlapeta et al., 2021).

Las garrapatas de la familia *Ixodidae* ocupan el primer lugar como vectores transmisores de patologías de interés veterinario siendo *Rhipicephalus sanguineus* la especie que mayormente es encontrada en caninos y transmite patógenos como: *Babesia* sp, *Rickettsia* sp, *Theileria* spp, *Anaplasma* sp, *Ehrlichia* spp, *Hepatozoon* spp, *Bartonella* spp, etc (Gondard et al., 2020; Defaye et al., 2022).

El cambio climático ha impulsado el crecimiento y más de un 50% de expansión de la población de garrapatas y así mismo la transmisión de patógenos, que al no ser controladas causaran la afectación de la salud de los animales y en el peor de los casos su muerte (Álvarez et al., 2020; Maggi y Krämer, 2019; Cortés, 2010), la OMS (2020), describe que el 17% de las enfermedades son causales más de 700000 muertes por año y en animales, después de la realización de pruebas diagnósticas de 144 animales muestreados el 19,44% fueron positivos para hemoparásitos los cuales no presentaban sintomatología (Quinche et al., 2020), causando pérdidas económicas mundiales por garrapatas fueron estimadas en US\$7 billones y de esos, un billón de dólares corresponde a Latinoamérica (Castro et al. 2010).

No obstante, para prevenir esas pérdidas se ha recurrido el uso de vacunas contra garrapatas, garrapaticidas como el uso exagerado de ixodicidas, bajo un esquema de erradicación, genera mayor susceptibilidad a la anaplasmosis y tal vez la presencia de mayor número de cargas parasitarias, cuando la población de garrapatas aumenta por cualquier razón. Por lo cual, el desarrollo de la resistencia a los ixodicidas aumenta los costos requeridos para el control de las garrapatas, bien sea porque exige la asociación de productos o bien porque se deben utilizar dosis mayores. El método de control tradicional mediante el uso de acaricidas químicos, como es el caso de la ivermectina, aunque ha sido exitoso, ha traído serios problemas de contaminación (Rodríguez, C y Pulido, N., 2015)

De la misma forma, las bacterias transmitidas por garrapatas, los animales se enfrentan a bacterias que están ampliamente distribuidas en el ecosistema como *Staphylococcus* sp. (Chaudhry y Patil, 2020), uno de los causantes de la pioderma y otitis canina, infecciones que pueden generar lesiones las cuales sean base para

el inicio de afecciones secundarias que al no ser tratadas pueden generar un daño permanente o la muerte del animal, además, en los últimos años se ha observado como *Staphylococcus* sp. y otras bacterias que participan en la infección logran resistencia a los antibióticos, esto se debe al mal uso de los mismo al realizar tratamientos en casa sin la guía o asesoría de un médico veterinario, solo basados en sus conocimientos empíricos (Álvarez et al., 2020b; Daza et al., 2020).

Por lo anteriormente descrito se genera la necesidad de un bioinsumo que tenga la capacidad de generar el control y eliminación de garrapatas y *Staphylococcus* sp de forma segura y amigable con el medio ambiente por lo cual se genera el siguiente interrogante ¿la unión de aceite de limoncillo y orégano tendrá la capacidad de controlar y eliminar patógenos como *Rhipicephalus sanguineus* y *Staphylococcus* spp. causantes de patologías de interés veterinario?

### 3 Justificación

Para el control de patologías causadas por hemoparasitos, hay que centrarse en el vector que la transmite, muchos de los propietarios no tienen conocimiento acerca de estas patologías pero desconocen las causas, síntomas y tratamiento de las mismas, siendo esto la principal causa de muerte de muchos caninos, simultáneamente se tiene que los propietarios de los animales no lo llevan al veterinario o al llevarlos la enfermedad está avanzada y no se logra salvar la vida del animal (Ramírez, 2020), por ende es importante la elaboración de un bioinsumo que tenga la capacidad de utilizarse como prevención, y que sea eficaz, no toxico para el animal, ni el medio ambiente y seguro para quien lo aplique.

Además, que la capacidad de acción de ese insumo no sea limitada a un objetivo, y es aquí donde se puede lograr una diferencia entre nuestra investigación y los

medicamentos químicos disponibles en el mercado, logrando que el producto resultante de la investigación tenga alcance al control de garrapatas y bacterias como *Staphylococcus* spp. causantes de patologías de interés veterinario como pioderma y otitis canina que deben ser tratadas de forma preventiva debido a que la lesión puede verse afectada por otros microorganismos que aumentan la gravedad de la infección (Rodríguez et al., 2020; Tinoco, 2022; Álvarez et al., 2020). En diferentes investigaciones, se ha podido lograr una inhibición entre 50 y 100% de inhibición de insectos en distintos estados de crecimiento de acuerdo con su ciclo biológico a bajas concentraciones como 0,61 y 1,96 y lo cual hace que los aceites esenciales sean una alternativa viable para el control de garrapatas (Torres et al., 2021; Costa et al., 2020) lo cual es corroborado en el estudio realizado por Gil et al, (2013) en el que hacen uso de aceite esencial de lippia para el control de ovoposición y producción de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplu* logrando el 50 % de la mortalidad de las garrapatas al aplicar aceite esencial al 1 %.

Por ende, para lograr el objetivo se necesita materia prima con la capacidad de ejercer control sobre los organismos patógenos, y encontramos que el orégano y limoncillo son plantas aromáticas de interés económico debido a las características de sus aceites esenciales que son utilizados en la industria farmacéutica, agropecuaria y de alimentos; el aceite de orégano y limoncillo, tienen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, insecticidas, antivirales y antioxidativas, esto se debe a su contenido de carvacrol, timol, terpenos, pineno y terpineno que incluso a bajas concentraciones su accionamiento sigue siendo eficiente y está siendo usada como una alternativa para reducir el uso de antibióticos debido al gran margen de

resistencia que han desarrollado algunos microorganismos (Loeza et al., 2019; Flores et al., 2011 y Carhuallanqui et al., 2020; Alvis et al., 2012).

## 4 Objetivos

### 4.1 Objetivo general

Evaluar la efectividad de los aceites de limoncillo y orégano sobre garrapatas *Rhipicephalus* sp. y *Staphylococcus* spp in vitro.

### 4.2 Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento de la hidrodestilación de aceites esenciales a partir de las hojas de limoncillo y orégano
- Demostrar la actividad insecticida y antimicrobiana de los aceites de forma individual y conjunta.

## 5 MARCO TEÓRICO

### 5.1 Antecedentes y/o estado del arte

Durán et al. (2020), estudió la actividad insecticida de aceites esenciales extraídos de *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis* y el componente mayoritario Limoneno, y aceites esenciales *Piper* spp., *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale* y *Rosmarinus officinalis*, se obtuvieron niveles de mortalidad de 0 a 90% que los aceites esenciales del género *citrus* quien tuvo un mejor potencial como insecticida siendo una alternativa eficiente para el control de larvas de primer instar de *H. armígera*.

Ponce et al. (2020), evaluó el efecto insecticida de *Bursera graveolens*, *Lepechinia meyeri* y *Myrtus communis* sobre huevos y larvas del primer instar de *Chrysoperla externa*, *Chrysoperla asoralis* y *Ceraeochrysa cincta*, obteniendo una mortalidad de

86 al 100 % de la eclosión de los huevos, además no se encontró diferencia significativa entre las concentraciones evaluadas.

Flórez y Castro, (2018), determinaron la efectividad inhibitoria de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* frente al fitopatógeno *Fusarium oxysporum* presente en tomate, la inhibición se evaluó con concentraciones de 1000, 1500 y 2000 ppm entre las cuales no hubo diferencia significaba siendo el porcentaje de inhibición del patógeno de un 100%.

Baños et al. (2021), determinó la capacidad de control y eliminación de *Thymus vulgaris* (KD107) y *Piper auritum* sobre *Drosophila suzukii*, logrando obtener como resultado el control del 100% de *Drosophila suzukii* con una concentración de 1 µl/ml en 24 horas de exposición.

Huaman y Silva (2020), utilizaron aceite esencial de *Schinus molle* como alternativa de control del *Varroa destructor*, utilizaron concentraciones de 5; 10; 15; 25; 50; 75 y 100% utilizando como diluyente Tween 80, el tratamiento con concentración de 15% presento una efectividad promedio de 92,3, afirmando la viabilidad del potencial insecticida que poseen los aceites esenciales.

Manrique et al. (2019), en su investigación, evalúa la actividad antimicrobiana de aceite esencial extraído de hojas de *Clinopodium pulchellum* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, usaron concentraciones de 100, 75, 50 y 25% lo inocularon por difusión en agar Müller Hilton, obteniendo diámetros de inhibición de 9 a 35 mm, determinando que *Clinopodium pulchellum* posee actividad antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus*.

Párraga & Vergara (2022), realizaron la evaluación de la capacidad controladora de aceite de neem (*Azadirachta indica*) sobre garrapatas presentes en caninos, para lo cual prepararon concentraciones de 5, 10 y 15% de aceite de neem, pasado 21 días del tratamiento, se presentó una morbilidad del 77,70% siendo el tratamiento de concentración 15% la de mayor efectividad.

Rizo et al. (2019), evaluó la capacidad acaricida de aceite esencial de semilla de *Jatropha curcas* frente a larvas de garrapatas de *Rhipicephalus*, para eso elaboraron concentraciones 0,5; 1,75; 2,5; 5 and 10 mg/mL de aceite diluido en Tween 80, todas las concentraciones mostraron una eficiencia mayor al 93%, obteniendo un mejor control con la concentración 10 mg/mL con una actividad acaricida de 97,72%.

## **5.2 Bases teóricas**

### **5.2.1 Garrapatas (*Rhipicephalus* sp)**

Las garrapatas son ácaros macroscópicos, pertenecientes al orden *Acarina*, se diferencian de los demás insectos por tener la cabeza, el abdomen y el tórax formando un cuerpo el cual no es segmentado, las garrapatas adultas cuentan con cuatro pares de patas y carecen de antenas, poseen quelíceros bucales, la mayoría de las garrapatas son succionadoras de sangre (obligadas), por lo que son de gran interés médico y veterinario por transmitir importantes enfermedades en personas y animales domésticos (perros y gatos) (Wing, 2015). En cuanto a su morfología y fisiología el cuerpo de la garrapata se encuentra cubierto por un exoesqueleto formado por una capa (cuticular), la cual está dividida en una porción anterior y una posterior, separada por un surco circuncapilar, en cuanto a su dieta tiene una líquida por lo que carecen de mandíbulas (Team, 2020).

Las garrapatas juegan un papel fundamental en el ámbito epidemiológico como transmisoras de más de 50 patologías infecciosas. Lo interesante es que estos ácaros patógenos logran aprovechar para su transmisión distintas especies de garrapatas pertenecientes a diferentes géneros. En efecto podría estar concomitante con la extensa distribución de las garrapatas y su limitada o especificidad en los huéspedes. El eventual contagio de estos ácaros se ve a menudo en asenso debido a que las hembras de las garrapatas los transmiten a los huevos, contagiando así por este medio a la próxima generación de garrapatas (Ej. genero *Babesia*) (Wing, 2015).

#### **5.2.1.1 Aspectos epidemiológicos de las garrapatas**

La propagación de estos agentes patógenos (virus, bacterias, rickettsias, anaplasmas, protozoos y nematodos) se llevan a cabo durante la picadura de las garrapatas. La picadura no consiste en punzar diminutas arterias, como la mayoría de los demás parásitos hematófagos, sino que cavan diminutas fosas valiéndose de su hipostoma provisto de garfios. Dicha fosa es saturada de sangre mientras se cumple el proceso alimentan (que puede tardar minutos o incluso días) de estas garrapatas. La epidermis de las garrapatas es tan flexible, que su intestino lleno de sangre logra incrementar varias veces su superficie corporal normal. Esto manifiesta la acción de que incluso los hospedadores de gran tamaño pueden ser afectados (Anemia) cuando son parasitados por un gran número de garrapatas, de las cuales ambos sexos dan todas sus etapas son hematófagas. Los animales que presentan dichas anemias están expuestos a enfermedades infecciosas. Dichos parásitos contaminan junto con la saliva, que cuenta con sustancias anticoagulantes, sustancias de acción neurotóxica, logrando varias especies causar una parálisis

creciente. La parálisis inicia en los miembros posteriores y luego trasciende a los miembros inferiores. Causando la muerte del hospedador si alcanza los músculos respiratorios. (Wing, 2015).

#### **5.2.1.2 Daños al hospedador**

El parasitismo por ácaros como las garrapatas establemente carga consigo prejuicios que su magnitud depende de la cantidad y ubicación de los parásitos. Los daños que se suelen encontrar son:

Acción mecánica con destrucción causada por los apéndices y sobre todo por las respuestas dirigidas contra esos apéndices, cemento y componentes salivales. En efecto es la formación de una apostema y la hinchazón de los tejidos que se encuentran a los lados del punto de fijación. Los resultados de la hinchazón dependen de la zona afectada: dolor, cojera, trastornos visuales y auditivos, pérdida de pelo por rascaduras, infección de las apostemas por bacterias y larvas de moscas. (Monje et al., 2016)

Parálisis y acciones tóxicas causadas por algunas sustancias salivales. Las sustancias de actividad paralizante parecen ser que bloquean las transmisiones del impulso nervioso motores aferentes (Nava et al., 2017).

Pérdida de sangre (acción hematófaga y expoliatriz como consecuencia de la alimentación de los parásitos, lo que explica las anemias agudas que frecuentemente se observan en animales con infestaciones intensas. (Nava et al., 2017).

#### **5.2.2 *Staphylococcus* spp.**

El género *Staphylococcus* engloba una gran diversidad de especies bacterianas que se encuentran ampliamente compartidas en la naturaleza colonizando mamíferos y

aves. Hace parte también del microbiota natural de la piel, del tracto respiratorio, del trato urogenital y del tracto digestivo ya que esta transita por el tanto en los animales como en el hombre (Fernandes et al., 2021; Gustaw et al., 2023).

Esta bacteria se caracteriza por ser coco Grampositivo, catalana positiva, oxidada negativa, halófila, presenta también un metabolismo fermentativo, resistente a las altas temperaturas, sequedad y desinfección, son facultativos y no esporulados. (Bannoehr y Guardabassi, 2019). Este género bacteriano cuenta con más de 45 especies y 21 subespecie que son calificadas en dos grupos teniendo en cuenta su capacidad de producir la enzima coagulasa: estafilococos coagulasa negativos (CoNS) y estafilococos coagulasa positivos (CoPS) logrando ser los dos potenciales patógenos zoonóticos de interés en medicina veterinaria e incluso humana. (Bergeron et al., 2011; Couto et al., 2016; de Godoy et al., 2016)

Por lo tanto, esta bacteria en la garrapata, la especie *Staphylococcus saprophyticus* le provoca una enfermedad llamada pico amarillo, esta infección, produce un exudado amarillento en las hembras del artrópodo, que bloquea el poro genital impidiendo la oviposición resultando en la muerte de la garrapata (Miranda-Miranda et al., 2010). Pero, presenta un sistema inmunológico con amplia variedad de mecanismos de protección, convirtiéndose en vector de esta bacteria a otro ser vivo. Asimismo, el incremento y propagación al medio de estos dos microorganismos resistentes a antibióticos es uno de los problemas actuales de mayor relevancia en medicina veterinaria (Miranda-Miranda et al., 2010).

### **5.2.3 Aceites esenciales**

Los aceites esenciales hacen parte de la historia de la civilización, teniendo una predominancia de un 80% a nivel mundial a la amplia aplicación de sus

componentes en distintos campos como la industria alimentaria, agropecuaria y farmacéutica; después de la segunda guerra mundial, la aparición de productos sintéticos disminuyó su uso debido a que la efectividad de los mismos era alta, lo cual al pasar el tiempo ha sido contraproducente, siendo estos productos sintéticos los culpables de la esterilidad y compactación de los suelos, desequilibrio del ecosistema y daños a la salud pública y animal (Durofil et al., 2021; OMS 2016; Acero et al., 2019).

Por ende, cada día, se hace indispensable el uso de alternativas en reemplazo de las sustancias sintéticas y es donde los aceites esenciales juegan un papel esencial, siendo portadores de propiedades químicas que les confieren la capacidad de ejercer actividad antimicrobiana, insecticida, acaricida, desparasitario, antiinflamatorio, etc. (Durofil et al., 2021; OMS 2016).

#### **5.2.4 Limoncillo (*Cymbopogon sp*)**

El limoncillo (*Cymbopogon citratus*) es una hierba perenne, correspondiente a la familia de las *poaceae*. Es reconocida como una planta medicinal usada comúnmente en América Latina, por sus diversos usos terapéuticos y su rica fragancia a limón (Armando 2012)

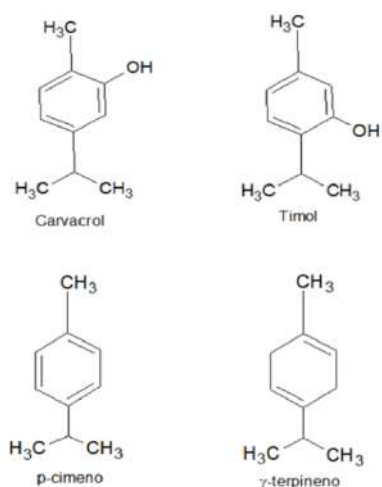
Recientemente, se ha encontrado que los aceites esenciales de limoncillo (LG) y la canela contienen algunas propiedades antifúngicas y poder antioxidante siendo utilizadas en plátanos (Mehdi y Alderson, 2010). Además, el limoncillo ha demostrado su actividad como antiinflamatorios ya que pueden estar involucrados en los efectos inhibidores por la producción de citoquinas, como también, diuréticos, antisépticos, actividades neuroconductuales, antimicrobianos y fungistático; el extracto de limoncillo ejerce una acción antiinflamatoria ya que pueden estar

involucrados. Bachiega y Sforcin (2011) reportan que el extracto de limoncillo puede ser un posible factor de inhibición del factor de transcripción NF-B.

### 5.2.5 Orégano (*Plectranthus* sp)

Pertenece a *Lamiaceae* y es originaria de la región mediterránea y Eurasia occidental, es conocida por sus propiedades terapéuticas, antimicrobiana e insecticidas, es mayormente conocida como orégano francés y es utilizado como condimento, es una planta aromática, con una altura promedio de un metro, sus hojas son verdes grisáceas, con flores que puede ser blancas o purpuras además, tiene capacidad de crecer en climas templados y cálidos con baja humedad relativa y sus principales componentes químicos son: carvacrol, timol, terpenos, pineno y terpineno (Loeza et al., 2019; Muzzio et al., 2021).

**Figura 1.** Principales componentes del orégano.



### **5.2.6 Importancia de alternativas naturales para control de insectos y microorganismos.**

Debido a múltiples eventualidades que se presentan a diario como: la resistencia de microorganismos a los antibióticos y las resistencias a insecticidas; se ha generado la búsqueda de nuevas alternativas de control e eliminación de agentes patógenos. La resistencia a los antibióticos e insecticidas resulta de la adaptación de las bacterias e insectos a los mismos, lo que les permite crecer a un en presencia de estos productos, es decir, las bacterias e insectos han mejorado su respuesta celular a tal nivel que el antibiótico o sustancia controladora que les causaba la muerte, ahora no representa impedimento para seguir creciendo y causar daño, esa resistencia va ligada al uso frecuente de los antibióticos e insecticidas, y eso es algo que va en aumento debido al uso empírico, sin el respectivo asesoramiento de una entidad especializada (OMS 2012; OMS 2016; Bermúdez et al., 2019).

Por lo anterior, la búsqueda de alternativas competentes en la función de controlar e eliminar microorganismos e insectos como las garrapatas que son fuentes de riesgo veterinario y para la salud pública se vuelve sumamente importante y aún más cuando la OMS dicta que el proceso de resistencia va en aumento, por lo cual nos enfocamos en las plantas aromáticas, que han desarrollado la capacidad de producir sustancias que controlan y eliminan de forma natural sin alterar el ecosistema, a aquellos agentes que representan un peligro para su desarrollo (Bermúdez et al., 2019).

## 6 Marco Legal

existen leyes la cuales dictan medidas para regular el maltrato animal y van enfocadas en los que estén como animales domésticos, callejeros, resguardos, silvestres y en cautiverio.

Ley No.1995 del 2019 “pacto por Colombia, pacto por la equidad” en el artículo 324 “política de protección y bienestar de animales domésticos y silvestres” en el cual se plantean lineamiento que permitan eliminar la violencia, crueldad, tráfico y comercio de animales, además impulsa la creación de normativas, programas y estrategias que permitan el cumplimiento de esta ley.

Ley 2054 del 2020 artículo 1 “Atenuar las consecuencias sociales, de maltrato animal y de salud pública derivadas del abandono, la pérdida, la desatención estatal y la tenencia irresponsable de los animales domésticos de compañía, a través del apoyo a refugios o fundaciones legalmente constituidas que reciban, rescaten, alberguen, esterilicen y entreguen animales en adopción, mientras los distritos o municipios crean centros de bienestar para los animales domésticos perdidos, abandonados, rescatados, vulnerables, en riesgo o aprehendidos por la policía” y el artículo 2 Apoyo a entidades sin ánimo de lucro donde se expone que frente a la inexistencia de lugares propios del municipio como centro de resguardo animal, el municipio deberá apoyar a las fundaciones o lugares de paso que estén habilitadas para la labor de cuidado animal.

Resolución 000153 del 2019 donde describe la creación del consejo nacional de bienestar animal, con el objetivo mejorar las condiciones fitosanitarias y de inocuidad.

## **7 Materiales Métodos**

### **7.1 Tipo de estudio**

Se desarrolló un estudio experimental de corte transversal, enmarcado en la línea de investigación Bioprospección del programa de microbiología.

### **7.2 Población y muestra**

La recolección se llevó a cabo en la fundación callejeritos ubicada en la calle 16 #3-12 barrio alta gracia de la ciudad de Valledupar, se tuvo como criterios de exclusión e inclusión: Caninos sin medicación previa y que no fueron bañados, con el fin de poder encontrar garrapatas; posterior a la recolección, se realizó reconocimiento de las características fenotípicas para identificación del género.

### **7.3 Material vegetal**

Se realizó la recolección de hojas de limoncillo de 2 años ubicada a 7,9 km de la pedregosa en Valledupar-Cesar, además, se realizó la siembra de plantas de orégano para la recolección de sus hojas las cuales se recolectaron a los seis meses de su siembra.

### **7.4 Extracción de aceites esenciales**

La extracción se llevó a cabo en un equipo de hidrodestilación (figura 1).

La extracción se realizó a partir de las hojas, las cuales se cortaron para reducir su tamaño, el equipo cuenta con un sistema de calentador donde se encuentran las hojas y agua, causando que se caliente el medio y se produzca la evaporación instantánea del agua y simultáneamente el aceite esencial, ese vapor posteriormente se condensó y la separación del agua y aceite se dio por diferencia de densidad (Martínez y Arrazola, 2012; Torrenegra et al., 2015; Arango et al., 2012).

**Figura 2.** Equipo de extracción de aceite esenciales



Para calcular el porcentaje de rendimiento se utilizó la formula:

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{V_{a.e}}{m_{MV}} \times 100$$

Donde  $V_{a.e}$  es la masa del aceite esencial y  $m_{MV}$  es la masa del material vegetal (Ovares, 2016); además, se utilizó la ecuación  $d = m/v$  donde  $d$  es la densidad,  $m$  es la masa y  $v$  es el volumen.

### 7.5 Obtención de cepa bacteriana

La bacteria *Staphylococcus* spp. fue suministrada por el cerapio del laboratorio de microbiología de la Universidad Popular del Cesar.

### 7.6 Evaluación de acción insecticida

La evaluación se realizó acorde a lo descrito por Rodríguez et al. (2021).

### **7.6.1 Aceite de limoncillo**

El aceite de limoncillo se diluyó en aceite vegetal a concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % y 10 %; seguidamente en una caja de Petri estéril se depositaron 5 garrapatas a las cuales se les vertió el aceite por aspersión con ayuda de un espray. Por cada concentración se realizó 3 repeticiones (Rodríguez et al., 2021).

### **7.6.2 Aceite de orégano**

El aceite de orégano se diluyó en aceite vegetal a concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % y 10 %; Seguidamente en una caja de Petri estéril se depositaron 5 garrapatas a las cuales se les se les vertió el aceite por aspersión con ayuda de un espray. Por cada concentración se realizó 3 repeticiones (Rodríguez et al., 2021).

### **7.6.3 Aceite de limoncillo y orégano**

El aceite de limoncillo + orégano, se diluyó en aceite vegetal a concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % y 10 %; seguidamente en una caja de Petri estéril se depositarán 5 garrapatas a las cuales se les vertió el aceite por aspersión con ayuda de un espray. Por cada concentración se realizó 3 repeticiones (Rodríguez et al., 2021).

## **7.7 Evaluación de acción antimicrobiana**

Las evaluaciones se realizaron acorde a lo planeado por Ramírez y Marín (2012).

### **7.7.1 Aceite de limoncillo**

El aceite de limoncillo se diluyó en aceite vegetal a concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 10 %, 12 %, 13.5 %, 15 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 100 %; Seguidamente en medio Müller Hilton, se inocularon por difusión 100 µl de

suspensión de *Staphylococcus* spp. de 0,5 del estándar de la escala de McFarland, posteriormente se inocularon discos de papel filtro de 9 mm impregnado con aceite esencial de limoncillo (Ramírez y Marín, 2012).

### **7.7.2 Aceite de orégano**

El aceite de orégano se diluyó en aceite vegetal a concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 10 %, 12 %, 13.5 %, 15 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 100 %; Seguidamente en medio Müller Hilton, se inocularon por difusión 100 µl de suspensión de *Staphylococcus* spp. de 0,5 del estándar de la escala de McFarland, posteriormente se inocularon discos de papel filtro de 9 mm impregnado con aceite esencial de limoncillo (Ramírez y Marín, 2012).

### **7.7.3 Aceite de limoncillo + orégano**

El aceite de limoncillo + orégano, se diluyeron en aceite vegetal a concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 10 %, 12 %, 13.5 %, 15 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 100 %; Seguidamente en medio Müller Hilton, se inocularon por difusión 100 µl de suspensión de *Staphylococcus* spp. de 0,5 del estándar de la escala de McFarland, posteriormente se inocularon discos de papel filtro de 9 mm impregnado con aceite esencial de limoncillo + orégano (Ramírez y Marín, 2012).

## **7.8 Análisis estadístico**

Se determinó las diferencias estadísticas de cada test, utilizando el análisis de varianza (ANOVA, alfa = 0,05), seguido de la prueba post-hoc de Duncan (alfa = 0,05), procesado en el paquete estadístico SPSS versión 27.

## 8 Resultados y Discusión

### 8.1 Rendimiento y densidad

El aceite esencial de limoncillo extraído presentó un color amarillo tenue, con un aroma concentrado y una leve picazón en la piel; el rendimiento fue de 0,2 % y su densidad de 0,891 g/ml y el aceite de orégano presentó un rendimiento de 0,1 % y su densidad fue de 0,913 g/ml.

$$\text{Rendimiento (Lim)} = \frac{2 \text{ g}}{1000 \text{ g}} (100 \%) = 0,2 \%$$

$$\text{Densidad (Lim)} = \frac{0,891 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 0,891 \text{ g/ml}$$

$$\text{Rendimiento (Oreg)} = \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ g}} (100 \%) = 0,1 \%$$

$$\text{Densidad (Oreg)} = \frac{0,913 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 0,913 \text{ g/ml}$$

El rendimiento de aceites esenciales descrito en algunos estudios oscila entre 0,29 % y 1,22 % (Pérez et al., 2017; Mendoza y Taborda, 2010) por lo cual el rendimiento obtenido en esta investigación es bajo, aunque se encuentre en el rango de rendimiento mínimo que es 1 %.

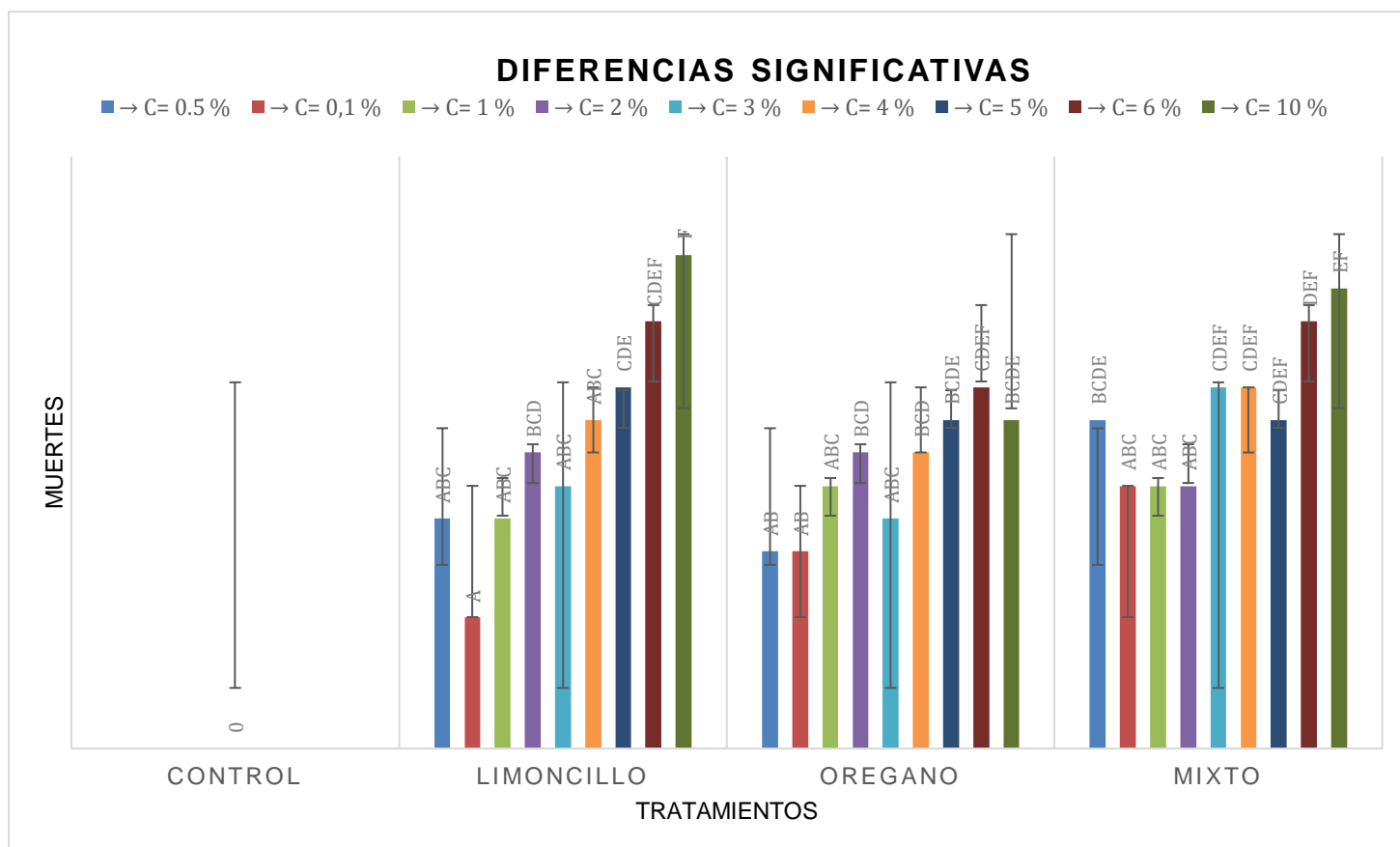
En base a lo estudiado, existen factores que generan variaciones en el rendimiento de aceite esenciales como el método de extracción, tipo de planta y equipo de extracción. El bajo rendimiento del aceite de orégano puede estar influenciado por el estado joven del orégano utilizado el cual tenía en promedio cuatro meses de crecimiento o en defecto el estado de vejez como se presentó con el limoncillo que era de dos años y presentaba marchitez, la afectación que tiene la edad sobre la extracción de aceite fue estudiada por Delgado et al. (2015) el cual logró evidenciar la reducción de aceite y componentes del mismo mediada por la

humedad presente en las hojas y no por la edad, lo cual permite deducir que la extracción de aceite en fresco será menor a cuando se somete el material vegetal con un secado previo, además también se tiene que la pérdida de vapor durante el proceso de extracción ocasiona bajo rendimiento según lo descrito por Marjoram. (2011) y que fue evidenciado durante la extracción de este estudio por defecto del cierre del equipo utilizado.

## **8.2 Evaluación de acción insecticida**

Los resultados obtenidos del efecto insecticida de los aceites esenciales de limoncillo, orégano y su acción conjunta lograron causar la muerte de las garrapatas en menor tiempo respecto a los controles realizados con agua destilada y aceite de oliva (Grafica 1) en los cuales el tiempo en el que inicia la muerte de las garrapatas es de 42 horas para el control de agua destilada y 36 horas para el control de aceite de oliva mientras que en los tratamientos con aceites esenciales se presentaron muertes a partir de las tres horas de la aplicación.

**Grafica 1.** Determinación de diferencias significativas entre tratamiento según post-hoc de Duncan (alfa=0,05).



Nota. Determinación de diferencias significativas en la aplicación de aceites esenciales de aceite de limoncillo, aceite de orégano y combinación del aceite de limoncillo con aceite de orégano en concentraciones de 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % y 10 %.

En la gráfica 1, en primera instancia, a las 6 horas se obtuvo el tiempo letal medio (TL50) de cada uno de los tratamientos y mediante el test post hoc de Duncan se logró la comparación de las medias para la obtención de las diferencias significativas existentes entre los tratamientos.

Por lo tanto, en la gráfica 1, se observó diferencias significativas en el tratamiento de aceite de limoncillo en concentraciones de 0,1% y 10%; las diferencias significativas nos indican que, en la repetición del estudio los datos recolectados de los tratamientos con aceite de orégano y mixto pueden variar de forma positiva o negativa y a si mismo con las concentraciones de 0,5 %, 1 %,2 %, 3 %, 4 %, 5 % y 6 % del tratamiento con aceite de limoncillo. Asimismo, tener diferencias significativas nos permite aceptar que el aceite de limoncillo tiene actividad para el control de las garrapatas como lo evidencia los autores Martínez, R et al., (2015), que al usar los aceites esenciales para reducir o controlar larvas de garrapatas del género *Rhiphcephalus (Boophilus) microplus* en mínimas concentraciones del aceite esencial de una planta *Lamiaceae (Hesperozygis ringens)*, inhiben la ovoposición en un 95% y también reducen el número de huevos de las garrapatas en un 30%. Las diferencias que se presentan entre los tratamientos pueden asociarse a la composición química de los aceites, Scalvenzi et al. (2016) y Meza y Vargas. (2013) realizaron el estudio de la composición química del aceite de limoncillo y logró la determinación de 26 compuestos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC-MS), de estos compuestos geraniol,  $\beta$  – pineno,  $\beta$  - citral (Neral) y  $\alpha$ - citral (Geranial), tuvieron una mayor área relativa de concentración, respectivamente 8%, 32,23%, 32,23 %, 21,09 % y 21,02 %.

Asimismo, el aceite de orégano presenta variaciones en sus compuestos acorde a la especie, según Acevedo et al. (2013) existen tres tipos de orégano, quimiotipo A, quimiotipo B y quimiotipo C que presentan variación en la concentración y presencia de compuestos como el timol, carvacrol, monoterpenos, sesquiterpenos, etc. Los

cuales generan cambios en las propiedades antimicrobianas y antifungicas de sus extractos.

### 8.3 Evaluación de Mortalidad de las garrapatas

Se logró obtener un porcentaje de mortalidad del 100 % en los tratamientos con aceite de limoncillo, orégano y mixto y sus 9 concentraciones.

$$tasa\ de\ mortalidad = \frac{405\ garrapatas\ muertas}{405\ garrapatas\ vivas} (100\ %) = 100\%$$

Durante el registro de mortalidad se logró observar que el estado post mortem de las garrapatas varia acorde al tratamiento, logrando visualizar que las garrapatas del tratamiento con orégano y limoncillo + orégano, presentaban sus patas totalmente estiradas en comparación a las garrapatas del tratamiento con limoncillo cuyas patas estaban pegadas al cuerpo. Como lo menciona el autor Rodríguez, C y Pulido, N., (2015), los extractos etanólicos de esta planta (*Cymbopogon citratus*), sobre la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, se encontró una mortalidad de 40,3 %, 41,5 % y 46,6 % durante los días 3, 7 y 14 post tratamiento al respecto.

Como lo menciona el autor Rodríguez, C y Pulido, N., en el año 2015, los extractos etanólicos de esta planta (*Cymbopogon citratus*), sobre la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, se encontró una mortalidad de 40,3 %, 41,5 % y 46,6 % durante los días 3, 7 y 14 post tratamiento al respecto.

Las propiedades de insecticida frente a garrapatas, coleópteros, himenópteros, isópteros, etc, se debe a la presencia a la presencia de eugenol el cual monoterpenoide fenólico, que tiene (Price y Berry, 2006; Acevedo et al., 2013); el eugenol tiene un efecto específico sobre los receptores de octopamina y ejerce sus

propiedades insecticidas a través de esta acción, la octopamina es una monoamina neurohormona, neuromodulador y neurotransmisor en invertebrados (Farooqui, 2007).

Según Enan. (2001) en su estudio observó que la exposición de las cucarachas alemanas y hormigas carpinteras a esta sustancia causó hiperextensión de las piernas y el abdomen, lo cual es similar a lo descrito por Price y Berry. (2006) el cual evaluó los efectos neurofisiológicos de los aceites esenciales en dos especies de cucarachas y se percató de los efectos sobre el aumento o reducción de la octopamina y la alteración de procesos que generan un desbalance en el sistema nervioso, cardíaco, etc. y que explican el estado de los cuerpos de las garrapatas post mortem las cuales

#### **8.4 Evaluación de acción antimicrobiana**

De acuerdo con lo observado para las concentraciones 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % y 10 % la actividad antimicrobiana de los tratamientos es nula evidenciándose el crecimiento de *Staphylococcus* spp. sobre toda la superficie de la caja (Tabla 1).

En diversos estudios se presentan los extractos de limoncillo y orégano como una alternativa viable para el control y eliminación de microorganismos patógenos en las cuales la concentración del aceite es fundamental para inhibición, Cabezas. (2021) basó su estudio en la evaluación de la actividad antimicrobiana del limoncillo sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en este obtuvieron la inhibición del crecimiento bacteriano en concentraciones de 50 % y 75 % obteniendo en promedio halos de 23 mm a 26 mm, además se logra observar que la actividad antimicrobiana tiene mayor efectividad al estar puro el aceite esencial; en base a lo

descrito se permite establecer la importancia de la concentración del aceite esencial frente a la efectividad antimicrobiana, por lo cual las concentraciones estudiadas no son las indicadas para la evaluación de la actividad antimicrobiana, esto es confirmado por Goncalves et al. (2013) quienes evaluaron concentraciones de 0,39 % a 6 % y no obtuvieron la inhibición de los microorganismos y Medrano y Medrano, (2021) los cuales evaluaron la actividad antimicrobiana del orégano con concentraciones de 20 %, 40 %, 80 % y 100 % obteniendo halos de inhibición de 8 mm, 8mm, 9,3 mm y 14,7 mm respectivamente. Por lo descrito se puede deducir que las concentraciones utilizadas en el estudio para la inhibición no son las indicadas para obtener un resultado positivo además, la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales son dependientes de la composición y concentración de los compuestos químicos, Carhuallanqui et al. (2020) en base su estudio de caracterización de compuestos químicos en aceite esencial de orégano y la actividad antimicrobiana de este sobre *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, hace referencia a los porcentajes de concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB), los cuales varían de 1 % a 4 % son bajos debido a la concentración de timol y carvacrol presentes en los extractos.

De la misma forma, Espinel, A., en el año 2020, explica que los aceites esenciales son efectivos agentes antimicrobianos tanto en su fase vapor como por contacto directo contra numerosas bacterias patógenas, Gram negativos y Gram positivos, como mohos, levaduras e incluso mohos productores de micotoxinas. Dichas propiedades se deben a los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, siendo los monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos los responsables de las propiedades antioxidantes, aromáticas y antimicrobianas.

Debido a que no se presenció la inhibición bacteriana y que la literatura mencionada relaciona la importancia de las concentraciones altas, se realizó la prueba antimicrobiana con concentraciones de 12 %, 13,5 %, 15 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 % y 100 % las cuales lograron la inhibición total del crecimiento de *Staphylococcus* sp. (Tabla1) lo cual permite discutir que la actividad antimicrobiana es proporcional a la concentración del aceite esencial similar a los resultados de Bermúdez et al. (2019) logró obtener la inhibición de *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Choleraesuis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis* de un 26,7 - 100 % con la aplicación de *Cymbopogon citratus* al 100 %.

Aún más concretamente Alarcón y Alarcón. (2022) en la evaluaron la actividad antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100% aplicadas a agua de estanques, logran resultados similares a los de esta investigación, observando la capacidad antimicrobiana acorde a cada concentración, siendo 25 % hasta <75 % las concentraciones con menor actividad y de 75% en adelante obteniendo reducción de la población microbiana mayor al 50 %.

**Tabla 1.** Inhibición del aceite de limoncillo frente a *Staphylococcus* sp.

Concentraciones	Inhibición
0,1	Crecimiento
0,5	Crecimiento
1	Crecimiento
2	Crecimiento
3	Crecimiento
4	Crecimiento
5	Crecimiento
6	Crecimiento

10	Crecimiento
12	Sin crecimiento
13,5	Sin crecimiento
15	Sin crecimiento
20	Sin crecimiento
40	Sin crecimiento
60	Sin crecimiento
80	Sin crecimiento
100	Sin crecimiento

## 9 Conclusión

- El aceite esencial de limoncillo es una alternativa sostenible para el control de *Rhipicephalus* sp. y *Staphylococcus* sp. debido a su efectividad in vitro en concentraciones bajas.
- La concentración sugerida para la realización de un producto es del 12 % con la cual se asegura el control de *Rhipicephalus* sp. y *Staphylococcus* sp.

## 10 Recomendaciones

- Realizar el estudio que permita determinar los componentes del aceite esencial y la concentración en que están presente cada compuesto.
- Ampliar el número de bacterias de estudio relacionadas a enfermedades en caninos
- Evaluar el efecto insecticida sobre las garrapatas en cada uno de los estados de ciclo de vida.
- Evaluar métodos de dilución y aplicación de aceite esencial para determinación de su actividad antimicrobiana in vitro.
- Estudiar distintas técnicas de obtención de aceite esenciales para determinación de la metodología y estado de la materia prima que permita

un mejor rendimiento y obtención de compuestos con actividad antimicrobiana, acaricida, etc.

## 11 Bibliografía

1. Acero-Godoy, Jovanna, Guzmán-Hernández, Tomas, & Muñoz-Ruiz, Carlos. (2019). Revisión documental de uso de los aceites esenciales obtenidos de *Lippia alba* (Verbenaceae), como alternativa antibacteriana y antifúngica. *Revista Tecnología en Marcha*, 32(1), 3-11. <https://dx.doi.org/10.8845/tm.v32.i1.4114>
2. Acevedo, Diofanor, Navarro, Mario, & Monroy, Luis. (2013). Composición Química del Aceite Escencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). *Información tecnológica*, 24(4), 43-48. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000400005>. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s0718-07642013000400005&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s0718-07642013000400005&script=sci_arttext)
3. Alarcón Rico, L. S., & Alarcón Rico, L. K. (2022). Extracción por arrastre de vapor del aceite esencial limonaria *cymbopogon citratus* y evaluación preliminar de la actividad antimicrobiana in vitro de frente a microorganismos de agua dulce. *con-ciencia y técnica*, 4(1), 93–95. Disponible en: <https://revistas.sena.edu.co/index.php/conciencia/article/view/4588>
4. Álvarez V, Luis, Siuce M, Juan, Palomino F, Joel, Gonzales M, Sofía, Sedano S, André, & Calle E, Sonia. (2020b). Detección molecular de *Staphylococcus pseudintermedius* en piodermas caninas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3), e18734. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18734>

5. Álvarez, D. O., Corona-González, B., Rodríguez-Mallón, A., Rodríguez González, I., Alfonso, P., Noda Ramos, A. A., Díaz-Sánchez, A. A., González Navarrete, M., Rodríguez Fernández, R., Méndez Mellor, L., Catanese, H. N., Peláez, M., Gainza, Y. A., Marrero-Perera, R., Roblejo-Arias, L., Lobo-Rivero, E., Silva, C. B., Fonseca, A. H., López, E. R., & Cabezas-Cruz, A. (2020). Ticks and Tick-Borne Diseases in Cuba, Half a Century of Scientific Research. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 9(8), 616. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080616>
6. Alvis, Armando, Martínez, Walter, & Arrazola, Guillermo. (2012). Obtención de Extractos Hidro-Alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como Antioxidante Natural. *Información tecnológica*, 23(2), 3-10. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000200002>
7. Arango B, Oscar, Bolaños, Felipe, Villota, Oscar, Hurtado B, Andrés, & Toro, Inés. (2012). Optimización del rendimiento y contenido de timol de aceite esencial de orégano silvestre obtenido por arrastre con vapor. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), 217-226. Retrieved November 05, 2022, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612012000200025&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612012000200025&lng=en&tlng=es)
8. Bachiega, T. F., & Sforcin, J. M. (2011). Lemongrass and citral effect on cytokines production by murine macrophages. *Journal of ethnopharmacology*, 137(1), 909-913. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.021>

9. Bannoehr, J., Guardabassi, L. (2019). *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Vet Dermatol*, 23(4), 253-66
10. Baños, H. L., Eben, A., Vogt, H., Pino, O., & Gross, J. (2021). Toxicidad de dos aceites esenciales en la *Drosophila* de alas manchadas. *Revista De Protección Vegetal*, 36(3). Recuperado a partir de <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/1168>
11. Bermúdez-Vásquez, M. J., Granados-Chinchilla, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. *Agronomía mesoamericana*, 147-163. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v30n1/2215-3608-am-30-01-00147.pdf>
12. Bergeron, M., Dauwalder, O., Gouy, M. (2011). Species identification of *Staphylococcus* by amplification and sequencing of the *tufA* gene compared to the *gap* gene and by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 30(3), 343-54.
13. Bermúdez-Vásquez, M. J., Granados-Chinchilla, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 147-163. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.33758>
14. Borrás, Pablo, Sanchez, Juliana, Guillemi, Eliana, De La Fourniere, Sofía, Abadia, Mercedes, Farber, Marisa, & Santini, María Soledad. (2019). Detección de bacterias de los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Rickettsia* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* s.l en Pergamino, Argentina. *Revista*

- Argentina de Salud Pública, 10(41), 8-13. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-810X2019000400008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-810X2019000400008&script=sci_arttext)
15. Cabezas Sandoval, M. A. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis* y *Cymbopogon citratus* frente a cepas ATCC (Bachelor's thesis, Quito: UCE). Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/23566>
16. Carhuallanqui Pérez, Andrea, Salazar Salvatierra, Maria Elena, & Ramos Delgado, Daphne. (2020). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*.. Revista de Investigaciones Altoandinas, 22(1), 25-33. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.530>
17. Carhuallanqui Pérez, Andrea, Salazar Salvatierra, Maria Elena, & Ramos Delgado, Daphne. (2020). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*.. Revista de Investigaciones Altoandinas, 22(1), 25-33. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.530>. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572020000100025&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572020000100025&script=sci_arttext)
18. Castro, J.; Rifran, G.; Piaggio, G.; Schumaker, T. 2010. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to Fipronil in Uruguay evaluated by in vitro bioassays. Vet Parasitol. 7:169-172.

19. Chaudhry, V., & Patil, P. B. (2020). Evolutionary insights into adaptation of *Staphylococcus haemolyticus* to human and non-human niches. *Genomics*, 112(2), 2052-2062.
20. Cicuttin, G. L., De Salvo, M. N., & Nava, S. (2017). Two novel *Ehrlichia* strains detected in *Amblyomma tigrinum* ticks associated to dogs in peri-urban areas of Argentina. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 53, 40-44. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.07.001>
21. Cortés, J. A. (2010). Cambios en la distribución y abundancia de las garrapatas y su relación con el calentamiento global. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 57(1), 48-57. Tomado de: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-29522010000100005&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522010000100005&lng=en&tlng=es).
22. Costa-Becheleni, Franciyelli Regina, Toro-Sánchez, Carmen Lizette Del, Wong-Corral, Francisco Javier, Robles-Burgueño, María Del Refugio, Cárdenas-López, José Luis, & Borboa-Flores, Jesús. (2020). Essential oils for the control of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) and effect on the quality of the corn grain *Zea mays* Linnaeus (Poales: Poaceae). *Revista chilena de entomología*, 46(4), 639-652. <https://dx.doi.org/10.35249/rche.46.4.20.10>
23. Couto, N., Monchique, C., Belas, A., Marques, C., Gama, L.T., Pomba, C. (2016). Trends and molecular mechanisms of antimicrobial resistance in clinical *Staphylococcus isolated* from companion animals over a 16 year period. *J Antimicrob Chemother*, 71(6), 1479-87.

24. Dantas-Torres, F., Latrofa, M.S., Annoscia, G., Giannelli A., Parisi A., y Otranto, D. (2013). Diversidad morfológica y genética de *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* del Nuevo y Viejo Mundo. *Vectores de parásitos* 6, 213 (2013). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-213>. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-6-213#citeas>
25. Daza Bolaños, A., Celis Enríquez, A., Chantre Gonzalez, D., & Gaviria Bejarano, E. (2020). Perfil de sensibilidad “in vitro” de *Staphylococcus* spp. aislados de muestras en pioderma canino en la ciudad de Popayán. *Spei Domus*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.16925/2382-4247.2020.01.02>
26. de Godoy, I., Moraes da Silva, D., Camara, L., Assunção, J., Kagueyama, F., da Silva, A., Dutra, V., Nakazato, L. (2016). Antimicrobial susceptibility profiles of *Staphylococcus* spp. from domestic and wild animals. *Ciência Rural*, 46(12), 2148-2151.
27. Delgado Ospina, J., Sánchez Orozco, M. S., & Bonilla Correa, C. R. (2016). Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) NE Br. ex Britton & P. Wilson y *Lippia organoides* Kunth. *Acta Agronómica*, 65(2), 170-175. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v65n2/v65n2a10.pdf>
28. Defaye, B., Moutailler, S., Pasqualini, V., & Quilichini, Y. (2022). Distribution of Tick-Borne Pathogens in Domestic Animals and Their Ticks in the Countries of the Mediterranean Basin between 2000 and 2021: A Systematic Review. *Microorganisms*, 10(6), 1236. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061236>

29. Durán Aguirre, Cristhian Eliseo, Pratisoli, Dirceu, Carvalho, José Romário de, Pacheco Damascena, Aixelhe, Araujo Junior, Luis Moreira de, & Bolsoni Zago, Hugo. (2020). Actividad insecticida de aceites esenciales sobre *Helicoverpa armígera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Idesia* (Arica), 38(4), 59-64. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292020000400059>
30. Durofil, A., Radice, M., Blanco-Salas, J., & Ruiz-Téllez, T. (2021). *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. L'huile essentielle de *Piper aduncum*: un insecticide, acaricide et antiparasitaire prometteur. Une synthèse. *Parasite* (Paris, France), 28, 42. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021040>
31. Enan E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology* : CBP, 130(3), 325–337. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(01\)00255-1](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(01)00255-1)
32. Espinel, A. (2020). Actividad antimicrobiana del aceite esencial de tres especies de Citrus Limon contra *Echerichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Tesis Pregrado. Universidad Agraria del Ecuador, <http://181.198.35.98/Archivos/ESPINEL%20OBREGOSO%20ANDREA%20JUDITH.pdf>).
33. Farooqui T. (2007). Octopamine-mediated neuromodulation of insect senses. *Neurochemical research*, 32(9), 1511–1529. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9344-7>.
34. Fernandes Queiroga Moraes, Gustavo, Cordeiro, Laísa Vilar, & de Andrade Júnior, Francisco Patricio. (2021). Main laboratory methods used for the

- isolation and identification of *Staphylococcus* spp. Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas, 50(1), 5-28. Epub October 27, 2021. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v50n1.95444>
35. Flores Hernández, Arnoldo, Hernández Herrera, José Antonio, López Medrano, J. Ignacio, Valenzuela Núñez, Luis Manuel, Martínez Salvador, Martín, & Madinaveitia Ríos, Héctor. (2011). Producción y extracción de aceite de orégano (*Lippia graveolens* Kunth) bajo cultivo en la Comarca Lagunera. Revista mexicana de ciencias forestales, 2(3), 113-120. Recuperado en 05 de noviembre de 2022, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11322011000100009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322011000100009&lng=es&tlng=es).
36. Flórez Bermúdez, W., & Castro Salazar, H. (2018). Evaluación de la actividad fungicida del limoncillo (*Cymbopogon citratus*) en el tomate (*Lycopersicon esculentum*) in vitro. Ciencia E Ingeniería, 5(1), e066. Tomado de <http://revistas.uniguajira.edu.co/rev/index.php/cei/article/view/118>
37. Giacoboni, G., Vinocur, F., Fauret, N., Grandinetti, J., & Manzuc, P. (2017). Detección de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes a meticilina ya otros antimicrobianos de uso habitual en la clínica en piodermias caninas. Analecta Veterinaria, 37(2), 012-012. Disponible en: <https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/article/download/4177/4085>
38. Goncalves, C. L., Schiavon, D. B. A., Mota, F. V., Faccin, A., Schubert, R. N., Schiedeck, G., & Schuch, L. F. D. (2013). Actividad antibacteriana de los extractos de *Cymbopogon citratus*, *Elionurus* sp. y *Tagetes minuta* contra

- bacterias que causan mastitis. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3), 487-494.
39. Gondard, M., Delannoy, S., Pinarello, V., Aprelon, R., Devillers, E., Galon, C., Pradel, J., Vayssier-Taussat, M., Albina, E., & Moutailler, S. (2020). Upscaling the Surveillance of Tick-borne Pathogens in the French Caribbean Islands. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 9(3), 176. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030176>
40. Gustaw M. Szafraniec , Piotr Szeleszczuk y Beata Dolka (2023) Revisión sobre los trastornos esqueléticos causados por *Staphylococcus*spp. en aves de corral, *Veterinary Quarterly*, 42:1, 21-40, DOI:10.1080/01652176.2022.2033880
41. Hernández, F. (2005). El manejo integrado en el control de garrapatas. Manual de ganadería doble propósito. Maracaibo, Venezuela: Universidad del Zulia. p, 384-391.
42. Huamán, N., & Silva, G. (2020). Efecto acaricida de aceite esencial de molle (*Schinus molle*) en el control de *Varroa destructor* en colmenas de abejas (*Apis mellifera*). *Agroindustrial Science*, 10(2), 145-151. Tomado de: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience>
43. Klafke, G., Texeira, T., Reck, J., & Martins, J. (2013). La multiresistencia a los acaricidas y el control integral de garrapatas en Brasil. In III Simposio Internacional de Resistencia a los pesticidas en artrópodos. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Guilherme-Klafke/publication/328583371\\_La\\_multiresistencia\\_a\\_los\\_acaricidas\\_y\\_el\\_control\\_integral\\_de\\_garrapatas\\_en\\_Brasil\\_Multiresistance\\_to acaricides\\_an](https://www.researchgate.net/profile/Guilherme-Klafke/publication/328583371_La_multiresistencia_a_los_acaricidas_y_el_control_integral_de_garrapatas_en_Brasil_Multiresistance_to acaricides_an)

[d the integrated control of cattle ticks in Brazil/links/5bd766c592851c6b27972cc0/La-multiresistencia-a-los-acaricidas-y-el-control-integral-de-garrapatas-en-Brasil-Multiresistance-to-acaricides-and-the-integrated-control-of-cattle-ticks-in-Brazil.pdf](https://www.researchgate.net/publication/358127972/La-multiresistencia-a-los-acaricidas-y-el-control-integral-de-garrapatas-en-Brasil-Multiresistance-to-acaricides-and-the-integrated-control-of-cattle-ticks-in-Brazil.pdf)

44. Ley No. 2054. (2022). Modificación la ley 1801 de 2016 y se dictan otras disposiciones. Disponible en: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=141480>
45. Ley No. 1995 (2019). Plan Nacional de desarrollo 2018-2022 “pacto por Colombia, pacto por la equidad”. Disponible en: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Ley1955-PlanNacionaldeDesarrollo-pacto-por-colombia-pacto-por-la-equidad.pdf>
46. Loeza-Concha, H., Salgado-Moreno, S., Ávila-Ramos, F., Gutiérrez-Leyva, R., Domínguez-Rebolledo, A., Ayala-Martínez, M., & Escalera-Valente, F. (2019). Revisión del aceite de orégano spp. en salud y producción animal. *Abanico Agroforestal*, 2. <http://dx.doi.org/10.37114/abaagrof/2020.1>
47. Maggi, R. G., & Krämer, F. (2019). A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. *Parasites & vectors*, 12(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3407-x>
48. Marjoram, E. O. (2011). PRODUCCIÓN Y EXTRACCIÓN DE ACEITE DE ORÉGANO (*Lippia graveolens* Kunth) BAJO CULTIVO EN LA COMARCA LAGUNERA. *Antes Ciencia Forestal en México*, 113. Disponible en: [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/75884491/POCAS\\_DE\\_COLECTA\\_Y\\_TRATAMIENTOS\\_PARA\\_ENR20211207-7924-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/75884491/POCAS_DE_COLECTA_Y_TRATAMIENTOS_PARA_ENR20211207-7924-)

11avype.pdf?1638894123=&response-content-  
 disposition=inline%3B+filename%3DEPOCAS\_DE\_COLECTA\_Y\_TRATAM  
 IENTOS\_PARA\_EN.pdf&Expires=1693165814&Signature=BzFkz~SbKaE0  
 XNFOoE6kzt~onvX9ESqvxp9UqOaDvFeZVnMIDvmgq6URKz67Y91a8FYn  
 e6iUJCPNT8dX7OcfzKvqa3R72uXxh8a5iW685V4jw6zQpwKmeSYPKXjQn  
 DT8IBJLsRo8EKffMYygCyEwWN6oA4yg8Tp8TIhSsHjXFO8fszwWBlapS2  
 hHnrALWd01Yhh34V8mXUaU6lwwj-  
 IRBNq0vPxHjEw8QpADPlihN7ojGzOopJDL0~22Rr2NUbAVOK98ijPZkO9q  
 8j7nxruE5AKQJ347BjviY2ZhcpgNnegs5fhiHWY1y30h91zzrpczs3tGTpiX6ho  
 0gEFFL70gA\_\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA#page=114

49. Manrique, E. T., Castillo, B. R., Luna, A. C., Figueroa, M. C., Yalli, C. Q., & Márquez, D. V. (2019). Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panizara», frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. *Cultura: Revista de la Asociación de Docentes de la USMP*, (33).  
<https://doi.org/10.24265/cultura.2019.v33.22>
50. Martínez, R. M., Cerrilla, M. E. O., Haro, J. G. H., Garza, J. R. K., Ramos, J. Z., & Soriano, R. R. (2015). Uso de aceites esenciales en animales de granja. *Interciencia*, 40(11), 744-750.
51. Medrano Sucari, E. J., & Medrano Sucari, D. J. (2021). Actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L.(orégano) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/375>

52. Mehdi, M., Asgar, A., & Alderson, P. G. (2010). Effect of cinnamon oil on incidence of anthracnose disease and postharvest quality of bananas during storage. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12(4), 516-520.
53. Meza Angos, K. L., & Vargas Duque, G. G. (2013). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hierba luisa (*cymbopogon citratus* (dc) stapf), poaceae en una formulación cosmética con finalidad antiacnéica (Bachelor's thesis). Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6005/1/UPS-QT03735.pdf>
54. Mendoza Meza, Dary Luz, & Taborda, Manuel. (2010). Composición química y actividad acaricida del aceite esencial de *cymbopogon citratus* stapf contra el acaro intradomiciliario *dermatophagoides farinae* (Acari:Pyroglyphidae). *Biosalud*, 9(2), 21-31. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1657-95502010000200004&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502010000200004&lng=en&tlng=es).
55. Miranda-Miranda, E., Cossio-Bayugar, R., Quezada-Delgado, M. D. R., Sachman-Ruiz, B., & Reynaud, E. (2010). *Staphylococcus saprophyticus* is a pathogen of the cattle tick *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. *Biocontrol Science and Technology*, 20(10), 1055-1067. <https://doi.org/10.1080/09583157.2010.505325>
56. Monje, L. D., Linares, M. C., & Beldomenico, P. M. (2016). Prevalence and infection intensity of *Rickettsia massiliae* in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks from Mendoza, Argentina. *Microbes and Infection*, 18(11), 701-705. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.06.008>

57. Muzzio Villafuerte, M. D., Segovia Llor, K. M., & Manzano Santana, P. (2021). Bioprospección de especies con actividad antimicrobiana In vitro contra patógenos de cacao y banano (Doctoral dissertation, ESPOL. FCNM). Tomado de: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/54379/1/T-110338%20-%20MARCELA%20MUZZIO%20Y%20KAREN%20SEGOVIA%20.pdf>
58. OMS. (2020). Enfermedades transmitidas por vectores. Tomado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
59. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2012). Plan mundial para el manejo de la resistencia a insecticidas en los vectores de malaria: resumen ejecutivo. Organización Mundial de la Salud. Tomado de: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/78097>
60. Organización Mundial de la salud (OMS). (2016). Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. Tomado de: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255204/9789243509761-spa.pdf>
61. Ovaros Rodríguez, J. (2016). Determinación de los rendimientos y caracterización de aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación a partir de *Lippia alba* y *Rosmarinus officinalis*. Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/5569/1/40655.pdf>
62. Pérez-Cordero, Alexander, Chamorro-Anaya, Leonardo, Vitola-Romero, Deimer, & Hernández-Gómez, Jesús. (2017). Actividad antifúngica de

- Cymbopogon citratus contra Colletotrichum gloeosporioides. Agronomía Mesoamericana, 28(2), 465-475. <https://dx.doi.org/10.15517/ma.v28i2.23647>. Disponible en: [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1659-13212017000200465&script=sci\\_abstract](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1659-13212017000200465&script=sci_abstract)
63. Páez-Triana, L., Muñoz, M., Herrera, G. Moreno, D., Tafur, G., Montenegro, D., Patarroyo, M., Paniz, A. y Ramírez, J. (2021). Diversidad genética y estructura poblacional de *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* en diferentes regiones de Colombia. Vectores parásitos 14 , 424 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04898-w>. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13071-021-04898-w#citeas>
64. Párraga Quiroz, G. D., & Vergara Macías, M. M. (2022). Efecto del extracto de las hojas de NEEM (azadirachta indica) para el control de garrapatas en perros (Bachelor's thesis, Calceta: ESPAM MFL). Tomado de: <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1786/1/TTMV49D.pdf>
65. Ponce, H., Iannacone, J., Alvariño, L., & Carhuapoma, M. (2020). Toxicidad de los aceites esenciales de *Bursera graveolens*, *Lepechinia meyenii* y *Myrtus communis* sobre *Chrysoperla asoralis*, *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae). Revista Campus, 25(29). <https://doi.org/10.24265/campus.2020.v25n29.03>
66. Price, D. N., & Berry, M. S. (2006). Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. Journal of insect physiology, 52(3), 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.11.010>

67. Quinche, F. S. G., Guamán, D. E. S., & Pincay, Á. E. G. (2020). Prevalencia de hemoparásitos en bovino de carne en la Comunidad Cocha del Betano, Ecuador. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, 5(2), 131-143. Tomado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7609082>
68. Ramírez Aristizabal, L. S., & Marín, D. (2012). Evaluación de la actividad antibacteriana de aceites esenciales y extractos etanólicos utilizando métodos de difusión en agar y dilución en pozo. *Scientia Et Technica*, XVII(50),152-157. ISSN: 0122-1701. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84923878022>
69. Ramirez Valderrama, L. D. (2020). Protocolo Preventivo de Hemoparásitos Transmitidos por Garrapatas en Caninos. Tomado de: <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/d6502b24-9f62-4fd7-addd-f47c48d1d843/content>
70. Rizo-Borrego, Alberto, Soca-Pérez, Mildrey, García-Marrero, Danny E., Fuentes-Castillo, Alier, Giupponi-Cardoso, Patricia, Arece-García, Javier, & Cepero-Casas, Luis. (2019). Actividad acaricida del aceite de las semillas de *Jatropha curcas* L. en larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Pastos y Forrajes*, 42(3), 202-206. Recuperado en 13 de noviembre de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942019000300202&lng=es&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942019000300202&lng=es&tlng=pt).
71. Rodríguez Molano, C. E., & Pulido Suárez, N. J. (2015). Eficacia de extractos vegetales sobre la garrapata adulta *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y su oviposición. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(4), 0-0.

72. Rodríguez-Vivas, R. I., Bolio-González, M. E., Rosado-Aguilar, J. A., Guitérrez-Ruíz, E., Torres-Acosta, F., Ortega-Pacheco, A. & Aguilar-Caballero, A. (2020). Uso de isoxazolinas: alternativa para control de pulgas, ácaros y garrapatas en perros y gatos. *Bioagrocencias*, 12(2).
73. Scalvenzi Foglia, L., Yaguache Camacho, B. D., Guerrini, A., Radice, M., & Chiurato, M. (2016). Efectos de los aceites esenciales amazónicos de *Citrus limon* y *Cymbopogon citratus* sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos. *Revista Amazónica. Ciencia Y Tecnología*, 5(3), 206–217. Disponible en: <https://revistas.uea.edu.ec/index.php/racyt/article/view/70>
74. Šlapeta, J., Chandra, S. y Halliday, B. (2021). El “linaje tropical” de la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato identificado como *Rhipicephalus linnaei* (). *Revista internacional de parasitología* , 51 (6), 431-436. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.02.001>
75. Team, R. C. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. tomado de: <http://www.R-project.org/>.
76. Tinoco Valarezo, T. N. (2022). Evaluación de la efectividad del inmunógeno GAVAC y el uso racional de acaricidas como alternativa de un programa integrado de control de garrapatas (Bachelor's thesis, Quito: UCE). Tomado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/27697/1/UCF-FMVZ-SUB-TINOCO%20TANIA.pdf>
77. Torrenegra, Miladys E, Granados, Clemente, Osorio, María R, & León, Glicerio. (2015). Comparación de la Hidro-destilación Asistida por Radiación de Microondas (MWHD) con Hidro-destilación Convencional (HD) en la

Extracción de Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Información tecnológica, 26(1), 117-122. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000100013>

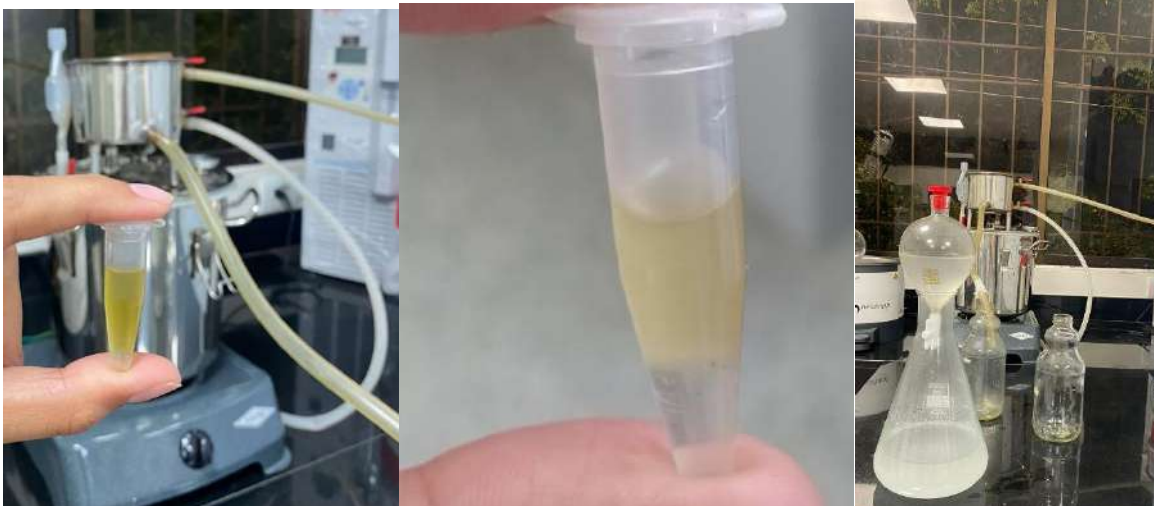
78. Torres, L. M. R., Huanca, B. R., & Quispe, L. S. (2021). Actividad insecticida del aceite esencial de Pampa Anís (*Tagetes filifolia* Lag.) sobre el gorgojo del maíz (*Pagiocerus frontalis*). Revista de Investigaciones de la Escuela de Posgrado de la UNA PUNO, 10(3), 186-197. DOI: <https://doi.org/10.26788/riepg.v10i3.2329>
79. Vargas, X. S. (2006). Efecto de fipronil y selamectina, sobre ovoposición y muerte de garrapatas adultas *Rhipicephalus sp.* Mediante un test in vivo en perros (Doctoral dissertation). UNAN – LEON. Nicaragua.
80. Vargas-Hernández, G., André, M. R., Faria, J. L. M., Munhoz, T. D., Hernandez-Rodriguez, M., Machado, R. Z., & Tinucci-Costa, M. (2012). Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. Veterinary parasitology, 186(3-4), 254-260. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401711007266>
81. Wing Ching JR. 2015. Extracción manual de garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* en caninos como estrategia de control. Nutr Anim Trop 9: 88. doi: 10.15517/NAT.V9I1.19393

## 12 Anexos

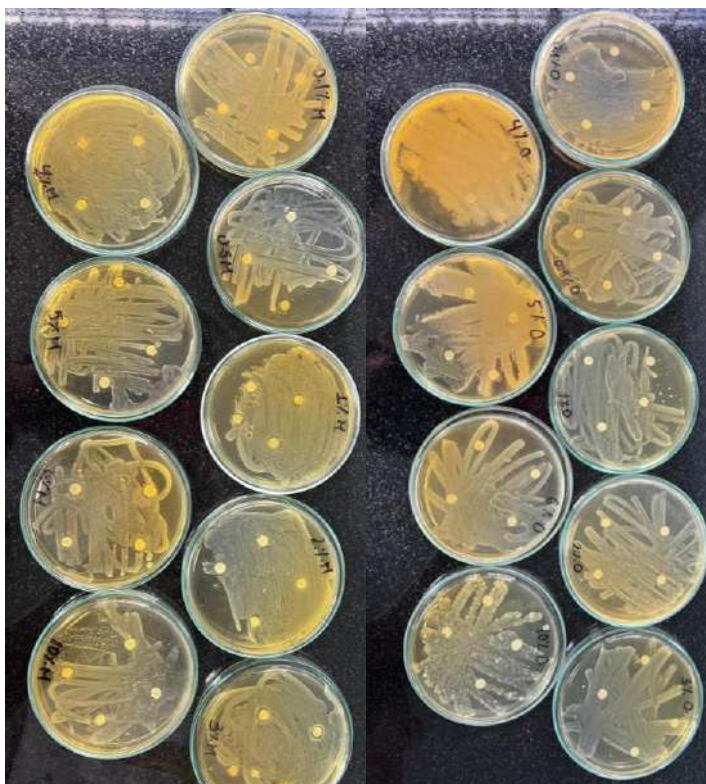
### Obtención de materia prima

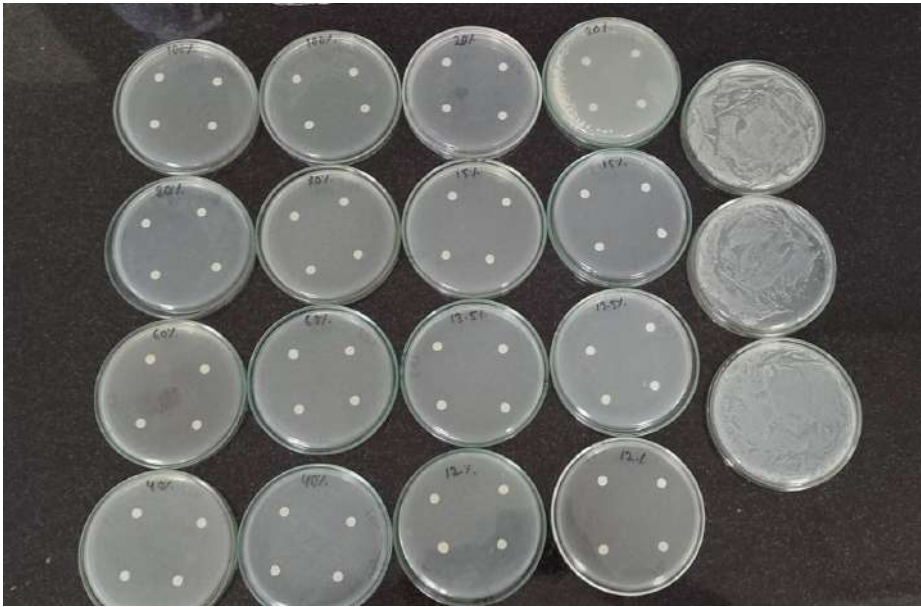


### Extracción



### Tratamientos





**Tratamientos Garrapatas**

