



**REPÚBLICA DEL ECUADOR
UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO**

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Evaluación de la actividad antimicrobiana del cannabidiol (CBD) en distintas concentraciones, frente a cepas bacterianas ATCC multirresistentes de uso veterinario (*Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus*).

Autor:

Lisette Alexandra Alvarado Narváez

Director:

Ing. Delia Noriega Verdugo Mgtr.

Milagro, 2025

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **LISETTE ALEXANDRA ALVARADO NARVÁEZ**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, como aporte a la Línea de Investigación **PROMOCIÓN DEL DESARROLLO ECONÓMICO: ECONOMÍA VERDE** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 5 de octubre del 2025



Lisette Alexandra
Alvarado Narvaez
Time Stamping
Security Data

Lisette Alexandra Alvarado Narváez
C.I.: 0951994680

Aprobación del Director del Trabajo de Titulación

Yo, **DELIA DOLORES NORIEGA VERDUGO**, en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por **LISETTE ALEXANDRA ALVARADO NARVÁEZ**, cuyo tema es “**Evaluación de la actividad antimicrobiana del cannabidiol (cbd) en distintas concentraciones, frente a cepas bacterianas ATCC multirresistentes de uso veterinario (*acinetobacter baumannii* y *staphylococcus aureus*)**“, que aporta a la Línea de Investigación **PROMOCIÓN DEL DESARROLLO ECONÓMICO: ECONOMÍA VERDE**, previo a la obtención del Grado **Magíster en biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 5 de octubre del 2025



Delia Dolores Noriega Verdugo
C.I.: 091722221 8

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO
ACTA DE SUSTENTACIÓN
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los veintidos días del mes de octubre del dos mil veinticinco, siendo las 11:00 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, MVZ ALVARADO NARVÁEZ LISETTE ALEXANDRA, a defender el Trabajo de Titulación denominado " **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL CANNABIDIOL (CBD) EN DISTINTAS CONCENTRACIONES, FRENTE A CEPAS BACTERIANAS ATCC MULTIRRESISTENTES DE USO VETERINARIO (ACINETOBACTER BAUMANNII Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS).**" , ante el Tribunal de Calificación integrado por: Mgs VILLAVICENCIO YANOS CHRISTIAN MIGUEL, Presidente(a), Ph.D. VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO en calidad de Vocal; y, SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	60.00
SUSTENTACIÓN	40.00
PROMEDIO	100.00
EQUIVALENTE	EXCELENTE

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 12:00 horas.



Firmado electrónicamente por:
**CHRISTIAN MIGUEL
VILLAVICENCIO YANOS**
Validar únicamente con FirmaE

Mgs VILLAVICENCIO YANOS CHRISTIAN MIGUEL
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
**JUAN DIEGO
VALENZUELA COBOS**
Validar únicamente con FirmaE

Ph.D. VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO
VOCAL



Firmado electrónicamente por:
**JAIME DAVID SEVILLA
CARRASCO**
Validar únicamente con FirmaE

SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



**Lisette Alexandra
Alvarado Narváez**
Time Stamping
Security Data

MVZ ALVARADO NARVÁEZ LISETTE ALEXANDRA
MAGÍSTER

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi madre, quien, indiscutiblemente, es mi guía y mi mayor fuente de inspiración.

A mi padre, porque, a pesar de la distancia, sus palabras han sido un abrazo y bálsamo para el alma.

A mi hermano, por su apoyo constante; su existencia ilumina mi vida.

A mi amor por sostener mi mano en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi mejor amiga, que en múltiples ocasiones me repite que está orgullosa de mí.

Y a la niña que habita dentro de mí, que siempre creyó que esto era posible, incluso cuando los pensamientos de la adulta dudaban que lo lograría.

Este logro también es de ellos, quienes siempre han confiado en mis capacidades y en mi fuerza para alcanzar esta meta. Son personas fundamentales en mi vida. Nunca duden del amor que les tengo a cada uno de ustedes. Los admiro todos los días de mi vida.

Agradecimientos

Agradezco inmensamente a Dios y al universo, por darme la vida y las fuerzas necesarias de comenzar y concluir esta etapa tan importante.

A mi madre, quien jugó un papel fundamental en este proyecto. No solo fue mi madre, sino también mi guía en el laboratorio. Sin su apoyo económico, esto no habría sido posible. Gracias por tu amor, paciencia, enseñanzas y por no dudar en ayudarme en ningún momento. Me has recordado aquellos días cuando, con solo 9 años, me llevabas al laboratorio porque te gustaba mi compañía. Esta vez, desde otra perspectiva, como profesionales.

A mi hermano, que desde el primer momento en que le comenté mi intención de seguir estudiando, no dudó en apoyarme. Aunque la distancia física nos separe, de alguna manera siempre ha estado a mi lado, impulsándome a seguir adelante hasta llegar a esta meta.

A mi amor, por ser mi constante fuente de motivación, por repetirme siempre que soy capaz y que puedo lograr todo lo que me proponga. Gracias por tu fe en mí.

A mi tutora y a la UNEMI, por brindarme las herramientas académicas necesarias para alcanzar esta meta. Gracias a mi tutora por sus correcciones, enseñanzas en el aula y por acompañarme durante este proceso. Y a la UNEMI, por su constante apoyo en mi formación profesional.

A la UEES, por permitirme utilizar sus instalaciones y recursos para realizar la parte experimental de la tesis. Gracias por facilitarme todo lo necesario para llevar a cabo este proyecto de manera exitosa.

Resumen

La resistencia antimicrobiana en el ámbito veterinario exige alternativas terapéuticas seguras y eficaces. Este estudio evaluó la actividad antimicrobiana del cannabidiol (CBD) frente a cepas de referencia *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) mediante un diseño experimental factorial A×B: cuatro concentraciones de CBD (25, 50, 75 y 100 mg/ml) y dos bacterias. La prueba de difusión en disco (Kirby–Bauer) se realizó con 15 µL por disco y múltiples réplicas por tratamiento; se midieron halos (mm) a las 24 h. Se calcularon estadísticas descriptivas y se aplicó ANOVA factorial; ante incumplimiento de homogeneidad, los datos se transformaron a log y se verificaron los supuestos. La comparación de medias se efectuó con Tukey ($\alpha = 0,05$). Los resultados evidenciaron efectos significativos de concentración, bacteria e interacción ($p < 0,05$). *S. aureus* mostró mayor susceptibilidad que *A. baumannii*. Se observó un patrón dosis–respuesta no lineal, destacando que 25 mg/ml produjo halos superiores a dosis mayores, lo que sugiere limitaciones de difusión/solubilidad del CBD en agar a altas concentraciones. Las réplicas no difirieron significativamente, respaldando la consistencia experimental. Se concluye que el CBD presenta actividad antimicrobiana in vitro dependiente de la especie, y que la formulación y el método impactan la respuesta. Se recomienda avanzar hacia CMI/CBM, combinaciones con antibióticos, optimización de vehículos/formulaciones y ensayos in vitro para estimar eficacia y seguridad clínica.

Palabras clave: cannabidiol, actividad antimicrobiana, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, ANOVA factorial, Tukey.

Abstract

Antimicrobial resistance in veterinary medicine calls for safe and effective therapeutic alternatives. This study assessed the antimicrobial activity of cannabidiol (CBD) against reference strains *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) using a factorial A×B design: four CBD concentrations (25, 50, 75, and 100 mg/ml) and two bacteria. Disk diffusion (Kirby–Bauer) was performed with 15 µL per disk and multiple replicates per treatment; inhibition zones (mm) were measured at 24 h. Descriptive statistics and factorial ANOVA were conducted; due to variance heterogeneity, data were log-transformed to meet assumptions. Pairwise comparisons used Tukey's test ($\alpha = 0.05$). Significant main effects of concentration and bacterial species, as well as a concentration × species interaction, were detected ($p < 0.05$). *S. aureus* exhibited greater susceptibility than *A. baumannii*. A nonlinear dose–response emerged, with 25 mg/mL yielding larger zones than higher doses, suggesting diffusion/solubility limitations of CBD in agar at elevated concentrations. Replicate effects were not significant, supporting experimental consistency. We conclude that CBD shows in vitro antimicrobial activity with species-dependent responses and that formulation and test conditions influence outcomes. Further work should determine MIC/MBC, evaluate synergy with antibiotics, optimize vehicles/formulations, and conduct in vitro studies to define clinical efficacy and safety.

Keywords: cannabidiol, antimicrobial activity, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, factorial ANOVA, Tukey.

Lista de Ilustraciones

Ilustración 1. Medias de halo de inhibición (mm) por concentración y bacteria.....	25
Ilustración 2. Distribución porcentual de los halos de inhibición	26
Ilustración 3. Comparación de los halos de inhibición (mm) según dosis y bacterias	27
Ilustración 4. Verificación de supuestos iniciales (distribución original).....	28
Ilustración 5. Comparación de logaritmos de los halos según dosis y bacterias	29
Ilustración 6. Interacción entre dosis y halos de inhibición.....	30
Ilustración 7. Efectos principales del halo en función de bacteria y dosis	31
Ilustración 8. Prueba de Tukey HSD para Log(Halo) y dosis.....	32
Ilustración 9. Prueba de Tukey HSD para Log(Halo) y bacterias.....	33

Lista de Tablas

Tabla 1. Factores y niveles del experimento.....	23
Tabla 2. ANOVA factorial tipo III realizado en el software InfoStat.....	24

Índice / Sumario

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN.....	1
1 CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación.....	4
1.1 Planteamiento del problema	4
1.2 Delimitación del problema	4
1.3 Formulación del problema.....	4
1.4 Preguntas de investigación.....	4
1.5 Objetivos	5
1.5.2 Objetivos específicos.....	5
1.6 Hipótesis	5
1.6.1 Hipótesis para el factor A (Variedad de concentración).....	5
1.6.2 Hipótesis para el factor B (Bacteria)	5
1.7 Justificación.....	6
1.8 Declaración de las variables (Operacionalización)	6
2 CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial.....	7
3 CAPÍTULO III: Diseño Metodológico.....	21
4 CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados	24
5 CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones	34
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
7 ANEXOS	45

INTRODUCCIÓN

En el contexto actual de la medicina veterinaria, uno de los desafíos más significativos que enfrentan los profesionales de la salud animal es el creciente problema de la resistencia antimicrobiana. Este fenómeno ampliamente documentado a nivel mundial ha cobrado especial relevancia en zonas rurales donde el acceso a medicamentos específicos es limitado y donde la automedicación, el uso empírico de antibióticos y la ausencia de protocolos diagnósticos claros han favorecido el desarrollo de cepas bacterianas resistentes. En este escenario, surge la necesidad urgente de buscar alternativas terapéuticas que no solo sean efectivas sino también seguras, accesibles y sostenibles.

La presente investigación se enmarca en la línea de salud pública veterinaria y resistencia antimicrobiana, proponiendo una evaluación experimental del cannabidiol (CBD), un componente no psicoactivo derivado de la planta *Cannabis sativa*, por su potencial actividad antimicrobiana frente a cepas bacterianas multirresistentes. La relevancia del CBD en el ámbito científico ha aumentado exponencialmente en los últimos años, gracias a diversas investigaciones que destacan sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas, ansiolíticas e incluso antimicrobianas. No obstante, su aplicación específica en medicina veterinaria, particularmente frente a cepas multirresistentes como *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus* de referencia (ATCC), ha sido escasamente abordada, constituyéndose en una brecha de conocimiento y oportunidad de innovación.

La problemática que motiva esta investigación nace de la observación directa en centros de atención veterinaria, donde se reportan infecciones recurrentes causadas por cepas resistentes, especialmente en procedimientos posquirúrgicos, casos de otitis crónica, dermatitis y abscesos. Estas patologías, al ser mal manejadas o no responder a antibióticos convencionales, incrementan los tiempos de hospitalización, los costos y el riesgo de muerte en animales, generando una preocupación tanto clínica como ética. En este contexto, el uso de compuestos naturales con potencial terapéutico, como el CBD, representa una vía

prometedora para enfrentar esta crisis sanitaria desde una perspectiva alternativa, local y biotecnológica.

El diseño metodológico propuesto responde a un enfoque cuantitativo experimental, el cual permite una medición objetiva y reproducible de la actividad antimicrobiana del CBD en diferentes concentraciones, evaluando el crecimiento bacteriano a través de la técnica de difusión en agar TCA. Para ello, se formularán diversas concentraciones puras de CBD, se aplicarán en discos sobre cultivos de *A. baumannii* y *S. aureus* ATCC, y se medirán los halos de inhibición producidos, comparándolos con controles positivos y negativos. El análisis estadístico de los resultados, mediante ANOVA y pruebas post hoc como Tukey, permitirá establecer diferencias significativas entre tratamientos y determinar la efectividad relativa de cada concentración del compuesto.

Este trabajo también posee un componente educativo y formativo. En el ámbito académico, busca fortalecer la formación de profesionales en biotecnología con una visión aplicada, crítica y orientada a la resolución de problemas reales. En lo práctico, la evaluación del CBD como agente antimicrobiano puede sentar las bases para futuras investigaciones clínicas y aplicaciones terapéuticas en medicina veterinaria, con la posibilidad de incorporar formulaciones naturales en tratamientos convencionales, siempre dentro de un marco ético y científico.

Finalmente, la estructura de esta tesis se organiza de la siguiente manera: el primer capítulo aborda el marco teórico, incluyendo antecedentes sobre resistencia antimicrobiana, características de las cepas bacterianas utilizadas, propiedades del CBD y su aplicación en medicina veterinaria. El segundo capítulo describe en detalle la metodología utilizada, desde el diseño experimental hasta las técnicas de recolección y análisis de datos. El tercer capítulo presenta los resultados obtenidos, seguidos por su análisis e interpretación. El cuarto capítulo discute los hallazgos en relación con la literatura existente, y finalmente, el quinto capítulo contiene las conclusiones y recomendaciones para investigaciones futuras.

La profundidad de la problematización se desarrollará a lo largo del documento, evidenciando la complejidad de la resistencia antimicrobiana y el potencial del CBD como

herramienta emergente en la medicina veterinaria del siglo XXI.

1 CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1 Planteamiento del problema

Las infecciones por bacterias multirresistentes en el ámbito veterinario representan un desafío creciente para la salud pública y animal, especialmente en zonas donde se emplean antibióticos sin criterios microbiológicos definidos ni diagnósticos claros. Las bacterias más comunes asociadas a infecciones complicadas o complejas de tratar en animales de compañía y animales de producción son las cepas bacterianas del *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus* debido a su alta resistencia a múltiples fármacos antimicrobianos. Bajo estas circunstancias han surgido alternativas naturales como el cannabidiol (CBD) un compuesto derivado de Cannabis sativa con potencial antimicrobiano comprobado en estudios preliminares. No obstante, su eficacia en el contexto veterinario y contra cepas bacterianas específicas aún no ha sido suficientemente estudiada, particularmente cuando se elimina la interferencia de excipientes presentes en productos comerciales. Es por ellos, que la presente investigación plantea evaluar formulaciones puras de CBD frente a cepas ATCC multirresistentes para determinar su efectividad.

1.2 Delimitación del problema

- **Ámbito geográfico:** clínicas veterinarias ubicadas en la zona litoral del Ecuador.
- **Ámbito temporal:** período julio – septiembre 2025
- **Ámbito temático:** evaluación antimicrobiana del CBD frente a cepas ATCC de uso veterinario (*A. baumannii* y *S. aureus*).

1.3 Formulación del problema

¿Cuál es el efecto inhibitorio de las concentraciones de CBD puro frente a *A. baumannii* y *S. aureus* de uso veterinario?

1.4 Preguntas de investigación

- ¿Cuál concentración del CBD puro (25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml y 100

mg/ml) genera una mayor eficacia?

- ¿Qué diferencia existe entre los halos de inhibición del CBD frente a cada cepa?
- ¿Existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones evaluadas?

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana de las diferentes concentraciones de CBD puro frente a las cepas *A. baumannii* y *S. aureus* (ATCC) de uso veterinario, usando agar TCA, para valorar su posible uso terapéutico.

1.5.2 Objetivos específicos

- Determinar la sensibilidad antimicrobiana de las cepas ATCC *A. baumannii* y *S. aureus* frente a las concentraciones de CBD.
- Cuantificar los halos de inhibición generados en cada concentración frente a un control positivo y negativo.
- Comparar estadísticamente la actividad antimicrobiana del CBD entre concentraciones y entre cepas mediante ANOVA y prueba de Tukey.
- Interpretar los resultados obtenidos para determinar si el CBD presenta un efecto antibacteriano significativo y dependiente de la concentración.

1.6 Hipótesis

1.6.1 Hipótesis para el factor A (Variedad de concentración)

H0: La variedad de concentraciones del CBD no influyen en el empleo de las cepas bacterianas ATCC multirresistentes de uso veterinario.

Ha: La variedad de concentraciones del CBD influyen en el empleo de las cepas bacterianas ATCC multirresistentes de uso veterinario.

1.6.2 Hipótesis para el factor B (Bacteria)

H0: El efecto inhibitorio del CBD no afecta a las cepas bacterianas ATCC multirresistentes de uso veterinario.

Ha: El efecto inhibitorio del CBD afecta a las cepas bacterianas ATCC multirresistentes de uso veterinario.

1.7 Justificación

Desde el punto de vista teórico, este estudio puede aportar más evidencia sobre cómo actúa el CBD contra bacterias resistentes, relacionando sus mecanismos moleculares con los efectos visibles en cultivos. A nivel metodológico, emplear la formulación de las concentraciones nos permite una mayor confiabilidad en los resultados dado que no habría la interferencia de excipientes presentes y a su vez nos permite evaluar el potencial terapéutico del CBD en contextos veterinarios mediante los datos reproducibles para la comparación del uso controlado de las cepas ATCC.

En lo educativo, este trabajo busca aportar a la formación de profesionales en biotecnología con una mirada aplicada a problemas actuales de salud animal. Y en lo práctico, puede ser el primer paso hacia nuevas alternativas para tratar infecciones difíciles, sobre todo con productos naturales que tienen grandes potenciales antimicrobianos o inhibidores.

Esta investigación es necesaria por múltiples aspectos, primero para validar el uso del CBD puro en formulaciones veterinarias. Además, también nos permite eliminar interferencias experimentales derivadas de excipientes y generar evidencia aplicable a la práctica clínica. También, responde al objetivo de promover terapias innovadoras, sostenibles y de bajo impacto ambiental.

1.8 Declaración de las variables (Operacionalización)

Variable independiente: Concentración de CBD (25 mg/ml, 50mg/ml, 75mg/ml y 100 mg/ml).

Variable dependiente: Actividad antimicrobiana (inhibitoria) medida en mm de halo de inhibición frente a cepas ATC.

2 CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

2.1. Antecedentes Referenciales

Diversos estudios han demostrado que el CBD posee actividad antimicrobiana in vitro frente a bacterias gram positivas y algunas gram negativas (Burbano-Vasquez et al., 2025). En estudios con *Staphylococcus aureus*, el CBD mostró un efecto bacteriostático y bactericida, dependiendo de la concentración empleada (Pila et al., 2023). En Ecuador, los estudios sobre uso de compuestos naturales en salud veterinaria son muy pocos y por ende no se han encontrado investigaciones locales que evalúen específicamente formulaciones puras de CBD frente a cepas ATCC relevantes en el contexto veterinario.

2.2. Marco Conceptual

El *Cannabis* es una planta asiática de la familia *Cannabaceae*, dividida comúnmente en dos tipos de plantas la una es alta y poco ramificada (*Cannabis sativa*) y la planta más densa y baja (*C. indica*) dependiendo de su concentración de THC, puede clasificarse como cáñamo ($\leq 0.3\%$ de THC) o marihuana ($> 0.3\%$ de THC). El cáñamo se cultiva legalmente para fines industriales, alimentarios y de bienestar, mientras que la marihuana es usada por su efecto psicoactivo, y generalmente está sujeta a mayores restricciones legales (De Briyne et al., 2021). Según el estudio realizado por De Briyne et al. (2021) en EE. UU. y la UE, el cáñamo industrial debe contener $\leq 0.3\%$ de THC en peso seco, y su cultivo está permitido bajo licencias específicas, por otro lado, la marihuana es considerada una droga controlada en la mayoría de países, aunque su uso recreativo o medicinal se ha legalizado en algunos (De Briyne et al., 2021).

Los cannabinoides son compuestos químicos activos de la planta de cannabis; se han reconocido más de 480 cannabinoides entre ellos el THC mismo que genera los efectos psicoactivos, y el CBD el cual es un cannabinoide no psicoactivo con propiedades terapéuticas. Sin embargo, existen diferencias entre el THC y el CBD ya que el THC se encuentra en mayor concentración en los tricomas de las flores femeninas mientras que el

CBD, extraído mayormente de *Cannabis sativa* L., ha demostrado utilidad en el tratamiento de ansiedad, náuseas, epilepsia y trastornos del sueño (De Briyne et al., 2021).

La resina de cannabis o también conocida como hachís y sus extractos poseen una mayor concentración de THC que la marihuana seca (De Briyne et al., 2021).

Al-Khazaleh et al. (2024) define al cannabidiol (CBD) como un compuesto no psicoactivo derivado del *Cannabis sativa* con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antimicrobianas (Al-Khazaleh et al., 2024).

El antibiótico natural según la investigación realizada por Calvo y Martínez-Martínez (2009) es una sustancia producida o derivada de fuentes naturales que inhibe el crecimiento de microorganismos (Calvo & Martínez-Martínez, 2009).

Las cepas ATCC según Campaña (2021) son cepas bacterianas certificadas por el American Type Culture Collection, utilizadas como estándar experimental. Mismas que son cruciales para el control de calidad en laboratorios de microbiología, ya que permiten verificar la precisión de los métodos de prueba, asegurar la calidad de los medios de cultivo y validar los procedimientos experimentales (Campaña, 2021).

Balouiri et al. (2015) define al halo de inhibición como una zona clara que indica la efectividad antimicrobiana de una sustancia alrededor de un disco aplicado sobre un cultivo bacteriano (Balouiri et al., 2015).

2.3. Marco Teórico

El cannabidiol (CBD): definición, propiedades y mecanismos de acción

Laaboudi et al. (2024) define al cannabidiol (CBD) como uno de los principales compuestos no psicoactivos presentes en la planta *Cannabis sativa*. A diferencia del THC, el CBD no genera efectos psicotrópicos y ha sido reconocido por sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas, ansiolíticas y antimicrobianas incluyendo su aplicación en la medicina humana y veterinaria (Laaboudi et al., 2024).

Analizando el CBD desde un punto de vista molecular de acuerdo a la investigación

realizada por Soria-Lara et al. (2019) explica que el CBD interactúa con el SEC (sistema endocannabinoide) presente en humanos y animales, sobre todo con los receptores CB1 y CB2, controlando así las funciones neurológicas e inmunológicas. También señala que el CBD no tiene influencia en los receptores TRPV1, GPR55 y PPARy (Soria-Lara et al., 2019).

Además, Martínez et al. (2023) señala que, aunque el interés científico y comercial ha surgido nuevamente por los cannabinoides no tóxicos como el CBD, su cultivo decayó por el apareamiento de fibras sintéticas y el estigma del THC (Martínez et al., 2023).

Ruiz et al. (2023) estima que entre un 20% a 40% de la población mundial sufre dolor crónico. Sin embargo, en América Latina los datos sobre la prevalencia del dolor crónico, así como los estudios sobre su epidemiología son escasos, es por ello que la comunidad científica ha centrado su interés en emplear plantas como el cannabis para el manejo del dolor (Ruiz et al., 2023).

Fundamento químico y farmacológico del CBD

El CBD posee una estructura química caracterizada por una cadena lateral alquilada que le otorga propiedades lipofílicas. En el metabolismo hepático, el CBD es procesado principalmente por las enzimas CYP3A4 y CYP2C19, lo cual influye en su biodisponibilidad (Barrales-Cureño et al., 2020). De acuerdo al estudio realizado por Barrales-Cureño et al. (2020) en el ámbito farmacológico, el CBD ha demostrado efectos neuroprotectores, inmunomoduladores y citotóxicos en ciertos tipos celulares. Estas propiedades lo han posicionado como una alternativa terapéutica de interés tanto en enfermedades crónicas como en infecciones resistentes a tratamientos convencionales Barrales- (Barrales-Cureño et al., 2020).

Actividad antimicrobiana del CBD: antecedentes científicos

En la actualidad, de acuerdo al estudio realizado por Sholler et al. (2020) detalla que el campo de la medicina veterinaria y el empleo del CBD está aún en fase exploratoria, sin

embargo, se han encontrado grandes avances (Sholler et al., 2020).

El interés por los fitocannabinoides como el CBD ha crecido ante la necesidad de nuevas terapias antimicrobianas. El mecanismo del CBD se ha asociado con la alteración de membranas celulares bacterianas y la inhibición de la síntesis proteica (Al-Khazaleh et al., 2024). El uso de cepas ATCC proporciona un modelo experimental válido para medir de forma reproducible el efecto de agentes antimicrobianos. Estudios como los de Pila et al. (2023) evidencian un efecto positivo del CBD frente a *S. aureus*, incluso en cepas resistentes a meticilina. No obstante, se requiere investigación adicional que determine dosis efectivas y diferencie el efecto del CBD puro frente al de productos comerciales con excipientes (Pila et al., 2023).

Revisión de investigaciones previas

Hernández-Barrera et al. (2017) en su estudio explica que la resistencia a los antimicrobianos es una problemática global impulsada principalmente por el uso excesivo de antibacterianos en la medicina humana y la ganadería, lo que genera impactos en la salud pública, el ambiente y la economía, al favorecer la persistencia de residuos en el entorno y sus efectos sobre la fauna silvestre (Hernández-Barrera et al., 2017).

Camacho-Silvas et al. (2021) en su estudio “Multirresistencia, resistencia extendida y panresistencia a antibacterianos en el norte de México” señala que la resistencia antimicrobiana (RAM) es una amenaza global impulsada por el uso inadecuado de antibióticos en la ganadería lo que favorece la diseminación de bacterias multirresistentes como *E. coli* y *S. aureus*, además se requiere un diagnóstico microbiológico preciso y una vigilancia integrada bajo el enfoque Una Salud para enfrentar este desafío (Camacho-Silvas et al., 2021).

El interés científico por la búsqueda de métodos de extracción del CBD más sostenibles, por ende, Rodríguez et al. (2023) en su estudio evaluó disolventes eutécticos

profundos (DES) como alternativa verde al etanol para extraer fitocannabinoides. De los 19 DES probados, el compuesto Mentol: Ácido octanoico (3:1) logró el mayor rendimiento (32.42 %) usando ultrasonido, el proceso optimizado demostró ser eficiente, ecológico y prometedor para aplicaciones industriales, medicinales y cosméticas (Rodríguez et al., 2023).

Bacterias multirresistentes en medicina veterinaria

Las bacterias multirresistentes se han convertido en un reto significativo para la salud animal. En particular, *Staphylococcus aureus* es un agente frecuente en infecciones dérmicas, de oído y posquirúrgicas. Su resistencia a antibióticos como penicilinas y cefalosporinas es ampliamente documentada. Por su parte, *Acinetobacter baumannii*, aunque menos común en veterinaria, ha ganado importancia como patógeno oportunista con resistencia a múltiples fármacos (Pila et al., 2023).

En el estudio realizado por Martinenghi et al. (2020) se observó un gran efecto antimicrobiano contra bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* la cual es resistente a la meticilina (SARM), siendo visto como un prometedor agente alternativo ante infecciones bacterianas multirresistentes (Martinenghi et al., 2020).

En un estudio realizado por Ostapczuk et al. (2021) explica que la actividad antimicrobiana del HSO (semilla de cáñamo) influye significativamente en el crecimiento de la cepa bacteriana *S. aureus* siendo los compuestos principales el CBD, β -cariofileno y el limoneno (Ostapczuk et al., 2021).

Rodriguez-Buenahora et al. (2016) en su estudio explica que la *Acinetobacter baumannii* es un patógeno hospitalario gram negativo altamente resistente, con múltiples mecanismos de defensa frente a antimicrobianos y gran capacidad de supervivencia en ambientes clínicos, lo que exige un manejo terapéutico basado en la localización de la infección y protocolos institucionales de control y prevención rigurosos (Rodriguez-Buenahora et al., 2016).

Pandey et al. (2023) explica que el uso recurrente e indiscriminado de antimicrobianos de amplio espectro en animales ha contribuido a la selección de cepas resistentes, las cuales pueden transferir resistencia a humanos mediante contacto directo o consumo de productos animales (Pandey et al., 2023).

Pandey et al. (2023) también explica que el uso excesivo de antibióticos en la ganadería contribuye significativamente a la aparición de bacterias multirresistentes (ARA II), como *Staphylococcus aureus*, que amenazan la salud pública al transmitirse al ambiente y a los humanos; se requiere más investigación para comprender y controlar este fenómeno desde una perspectiva One Health (Pandey et al., 2023).

Otros estudios, como el realizado por Coelho et al. (2025) explica que los cannabinoides, compuestos bioactivos del cannabis, han mostrado un prometedor potencial antimicrobiano, actuando mediante disrupción de membranas, modulación inmunitaria e interferencia con la virulencia bacteriana, y podrían representar una estrategia innovadora frente a infecciones resistentes, especialmente en combinación con antibióticos convencionales (Coelho et al., 2025).

Ribeiro et al. (2024) explica que el CBD ha demostrado propiedades antimicrobianas frente a diversas bacterias, incluidos patógenos multirresistentes como *Staphylococcus aureus* y algunas cepas Gram negativas, siendo esto una prueba sobre su acción con la alteración de la membrana celular bacteriana y la inhibición de biopelículas (Ribeiro et al., 2024).

Formulaciones de CBD y excipientes: impacto en los resultados experimentales

Montero et al. (2025) nos redacta que el cannabidiol (CBD) puede oxidarse a cannabidiol-quinona (CBD-Q), un compuesto citotóxico, incluso a bajas concentraciones (10 μ M) y en disolventes comunes como etanol o DMSO (Montero et al., 2025).

En estudios con células HUVEC según la investigación realizada por Montero et al.

(2025), explica que esta oxidación generó toxicidad celular significativa. En contraste, un análogo modificado, el diacetato de cannabidiol (CBD-DA), mostró mayor estabilidad y menor toxicidad, estos resultados permitieron destacar la importancia de controlar la formulación y concentración del CBD para evaluar sus riesgos potenciales en aplicaciones terapéuticas Montero et al. (2025).

En resumen, algunas de las investigaciones realizadas por Martinenghi et al. (2020), el CBD demostró una acción potente contra bacterias gram positivas. Otros estudios, como los de Ostapczuk et al. (2021), han explorado su uso en formulaciones tópicas para heridas infectadas, mostrando resultados prometedores. Sin embargo, la mayoría de estos ensayos han sido desarrollados con extractos comerciales de CBD mismos que contienen excipientes que pueden interferir con la interpretación de los resultados.

Métodos para evaluar actividad antimicrobiana

El estudio realizado por Monton et al. (2019) en el cual realizaron la maceración del *Cannabis sativa* con etanol a 40 °C durante 30 minutos optimizando simultáneamente la obtención de cannabidiol (CBD) y Δ 9-tetrahidrocannabinol (THC), demostrando que temperaturas bajas y tiempos cortos favorecen la conservación de estos compuestos bioactivos (Monton et al., 2019).

El empleo del cannabis ha ido en aumento, no obstante, el control de calidad y la estandarización de los productos derivado no son lo que se esperaría es por ello que en el estudio de Herrera et al. (2024) se abordaron temas como los métodos cromatográficos y espectroscópicos para analizar cannabinoides, así como herramientas químio métricas aplicadas al control y monitoreo de productos y cultivos, buscando mejorar la precisión y confiabilidad en la industria del cannabis medicinal (Herrera et al., 2024).

Uno de los métodos cualitativos mayormente empleados es el método Kirby-Beauer o mayormente conocido como método de difusión en disco, ya que es el más adecuado para el

crecimiento rápido de microorganismos, este método se basa en el empleo de discos impregnados con antibióticos con diferentes concentraciones en placas de agar inoculadas con el microorganismo que está en prueba. Por lo general, se espera un aproximado de 18 horas para el crecimiento y poder observar los resultados, dado que cada combinación de microorganismo-antibiótico tiene diferentes diámetros se los clasifican como susceptible (S), intermedia (I) y (R) de resistente (Montero-Recalde et al., 2018).

Otro de los métodos más empleados en microbiología experimental para evaluar la actividad antimicrobiana es el método de dilución en caldo, de acuerdo al estudio realizado por Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher (2021) explican que la CMI es la concentración más baja de un agente antibacteriano la cual puede ser expresada en mg/L ($\mu\text{g/mL}$), la misma que en condiciones in vitro controladas se puede prevenir por completo el crecimiento de una cepa bacteriana de prueba de un organismo. También, nos explican que se emplean dos tipos de métodos siendo los primeros los métodos de dilución los cuales se realizan en agar o en un medio líquido y los segundos son los métodos de gradiente en el cual se emplean tiras impregnadas con un gradiente de concentración previamente definido de cierto antibiótico (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

Impacto social y ambiental del uso de cannabinoides en salud animal

La intoxicación por cannabis en pequeños animales según el estudio realizado por Mondino et al. (2019) detalla que existen diferentes presentaciones para el empleo del *Cannabis* entre estas tantas se encuentran la resina, aceites concentrados, galletas, bebidas, ungüentos, cremas, entre otros. También, explica que se ha aumentado el empleo de cannabinoides sintéticos, mismo que pueden provocar intoxicaciones en animales tal como se dio en EE.UU. Dado que en animales pequeños suele ser accidental también se han dado casos de manera intencional un claro ejemplo de ello es al compartir alimentos o por exposición al humo. Uno de los tantos estudios ha revelado que el 95% de los casos por intoxicación canina se dieron por ingestión accidental de material vegetal o cigarrillos siendo

afectados perros menores de un año, la ASPCA, señala que el 96% de estas intoxicaciones sucede en perros, el 3% en gatos y existe el 1% en otras especies (Mondino et al., 2019).

Mondino et al. (2019) también redacta en su estudio que la sintomatología que presentan los animales al intoxicarse por Cannabis son principalmente signos neurológicos mismos que presentan somnolencia, ataxia, depresión, tambaleo, marcha, agitación, vocalización; en los ojos presentan pupilas dilatadas y ojos inyectados en sangre; gastrointestinal presentan vómitos y salivación; también suelen presentar sensibilidad al sonido o a la luz, micción inapropiada, frecuencias cardíacas rápidas o lentas y temperatura corporal baja. Aunque estos síntomas parecen graves realmente la tasa de letalidad es muy baja, además para diagnosticar este tipo de intoxicación se emplean técnicas específicas y sensibles como es la espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases dado que actualmente no existe un antídoto específico por lo que el tratamiento debe ser sintomático, recomiendan que los médicos veterinarios informen a los propietarios sobre los riesgos y promuevan medidas preventivas. También consideran fundamental generar un ambiente de confianza con los dueños, de modo que puedan comunicar abiertamente cualquier sospecha de exposición, facilitando así una anamnesis precisa y un diagnóstico oportuno (Mondino et al., 2019).

El estudio titulado “Farmacocinética, seguridad y eficacia clínica del tratamiento con cannabidiol en perros con osteoartritis” realizado por Gamble et al. (2018) su objetivo era la evaluación farmacocinética, seguridad y eficacia analgésica del aceite de cannabidiol (CBD) en perros con osteoartritis (OA) el cual se obtuvo como resultado que la vida media de eliminación del CBD fue de 4.2 horas, además no se presentaron efectos secundarios relevantes y si se observó una disminución significativa del dolor y un incremento de la actividad en los perros que fueron tratados con CBD. Además, se detectó un aumento en los niveles de fosfatasa alcalina en suero y llegaron a la conclusión que para observar buenos resultados en el tratamiento la dosis administrar es de 2 mg/kg de CBD dos veces al día (Gamble et al., 2018).

Por otro lado, Verrico et al. (2020) empleo un tratamiento completamente diferente dividiendo en cuatro grupos, siendo el placebo; 20 mg/día (0,5 mg/kg) de CBD puro, 50 mg/día (1,2 mg/kg) de CBD puro y 20 mg/día de CBD liposomal. Siendo su objetivo el respaldar la seguridad y el potencial del CBD derivado del cáñamo para ayudar con el dolor artrítico obteniéndose como que, resultado la disminución significativa del dolor y el aumento de la movilidad, también se registró que el CBD liposomal es decir la dosis que se empleó de 20 mg por día fue tan eficaz como la dosis más alta del CBD no liposomal es decir los 20 mg por día. Sin embargo, se demostró que el CBD posee de propiedades antiinflamatorias robustas y cuantificables en sistemas experimentales (Verrico et al., 2020).

Mejía et al., (2021) por su parte logro proporcionar datos que describieran la seguridad y el efecto del CBD para el alivio de los signos clínicos asociados a la osteoartritis canina donde obtuvo datos basales por un periodo de 4 semanas mediante la asignación aleatoria al grupo placebo o al grupo que tenía el tratamiento con CBD durante 6 semanas. También, señalan que no se observaron diferencias entre los grupos de estudio en ninguna de las medidas dado que los efectos adversos asociados con la administración del CBD incluyeron un aumento de las enzimas hepáticas y vómitos (Mejía et al., 2021).

Bases legales y éticas del uso de cannabinoides

De Briyne et al. (2021) da ejemplos de las bases legales de diferentes países tales como Europa (UE) misma que en el 2018, la inversión en el cannabis fue mayor a los 500 millones de euros con aproximadamente un mercado de 2400 millones de euros para el 2024 empleándose únicamente en el ámbito medicinal. Aunque más de 22 países permiten cannabis medicinal, la UE no posee un marco regulatorio armonizado, ya que varios medicamentos están aprobados por la EMA o agencias nacionales. Además, algunos productos con THC >0,2% están regulados por normas de seguridad alimentaria, y el uso de CBD en suplementos para animales está restringido: no se permiten afirmaciones terapéuticas sin aprobación oficial. En cuanto

a la alimentación animal la EFSA permite ciertos derivados del cáñamo como materia prima para pienso, con límites específicos por especie y los suplementos para mascotas y equinos son comercializados con fines terapéuticos es ilegal si no están registrados como medicamentos (De Briyne et al., 2021).

Otro de los países que menciona De Briyne et al. (2021) en su estudio es Estados Unidos y esto dado que en el 2019 alcanzó 13.6 millones USD y en el 2018 mediante la Ley Agrícola el cáñamo ($\leq 0,3\%$ THC) fue desclasificado como sustancia controlada, pero aún se requieren regulaciones federales para su uso legal. No obstante, la confusión entre normas federales y estatales ha sido la causante de la comercialización ilegal de varios productos con fines terapéuticos no aprobados. La FDA ha aprobado Epidiolex (CBD) para epilepsia, y derivados sintéticos del THC (Cesamet, Marinol), todos solo para uso humano. Sin embargo, no hay productos aprobados por la FDA para uso veterinario, aunque en algunos estados como California, Nevada o Michigan se han establecido normas específicas para su discusión veterinaria. En cuanto a la alimentación animal, no hay productos aprobados con cáñamo o cannabis, aunque se ha solicitado su inclusión en dietas avícolas, aún no se ha autorizado (De Briyne et al., 2021).

Finalmente, De Briyne et al. (2021) habla de Canadá país que en el 2018 legalizó el cannabis recreativo con aproximadamente más de 7000 millones de dólares en ventas. Sin embargo, no existen productos aprobados específicamente para animales con fines terapéuticos dado que solo se permiten los llamados Productos Veterinarios de Salud (VHP) con niveles muy bajos de THC (<10 ppm), dirigidos a perros, gatos y caballos. Además, bajo el Reglamento del Cáñamo Industrial, solo ingredientes derivados de semillas no viables, tallos sin flor ni hoja, o derivados sin THC detectable pueden ser incluidos en productos naturales para la salud (NHP). Para finalizar el estudio menciona que, en cuanto a la alimentación animal, la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos (ACIA) no ha aprobado productos del cáñamo como ingredientes en alimentos para ganado porque se requiere una evaluación y aprobación independiente por producto (De Briyne et al., 2021).

En cuanto a la comercialización ilegal De Briyne et al. (2021) menciona que la comercialización de productos con aceite de CBD, tanto para humanos como para animales, presenta importantes desafíos regulatorios. En Estados Unidos, la FDA ha sancionado a empresas que venden productos con afirmaciones terapéuticas no autorizadas, incluyendo aquellos destinados al uso veterinario. Esta situación se agrava en contextos de expansión acelerada del mercado y de escaso conocimiento sobre el marco legal vigente. Sin embargo, países como la Unión Europea el etiquetado de productos con CBD está regulado por normas estrictas (Reglamentos (UE) n.º 1169/2011, 178/2002 y 1924/2006) mismos que exigen precisión total y respaldo científico para cualquier afirmación. No obstante, la falta de control sobre muchos productos, especialmente los destinados a animales, ha generado preocupación entre los profesionales veterinarios, quienes podrían observar efectos adversos inesperados o respuestas psicoactivas debido a productos mal formulados o etiquetados incorrectamente ya que un problema recurrente en todas las regiones es la inexactitud en el etiquetado, tanto en la identidad como en la potencia de los ingredientes activos, lo cual complica la dosificación y aumenta el riesgo de toxicidad. Mientras que en Europa solo la composición del cannabis medicinal está estandarizada y controlada, en EE. UU. la situación varía según el estado: solo algunos cuentan con sistemas sólidos de trazabilidad y análisis de calidad. La inconsistencia en los métodos de prueba y los compuestos analizados aumenta el riesgo de exposición a contaminantes no previstos. Hay que considerar que hay muy poca evidencia científica sobre la seguridad y tolerancia del CBD en animales, y algunos estudios han reportado efectos tóxicos asociados al uso de productos etiquetados ilegalmente para uso veterinario generando así un vacío legal que muchos pueden usar a su favor (De Briyne et al., 2021).

En Ecuador de acuerdo a Proaño (2025) se ha observado una evolución legal del cannabis dado que en el 2019 la Asamblea Nacional del Ecuador aprobó reformas al Código Orgánico Integral Penal (COIP), despenalizando el uso del cannabis para fines medicinales y terapéuticos, así como el cáñamo industrial incluyendo productos con bajo nivel de THC.

Posteriormente, en el 2020 el Ministerio de Agricultura y Ganadería emitió el Acuerdo Ministerial No. 109 mismo que regula la siembra, cosecha, procesamiento, comercialización y exportación de cannabis no psicoactivo o cáñamo, con un contenido de THC inferior al 1% en peso seco. Actualmente existen más de 800 productos que contienen cannabis con registro sanitario la mayoría contienen menos del 1% de THC lo cual limita su eficacia para enfermedades específicas y dado que no existen medicamentos legales que contengan más del 1% de THC los pacientes optan por obtener las medicinas de manera ilegal. Existen aproximadamente 705 empresas registradas en Guayas y Pichincha mismas que generan aproximadamente 30.000 empleos directos y 144.000 indirectos con aproximadamente 300.000 consumidores a nivel nacional. No obstante, de acuerdo al manual de Agrocalidad publicado en julio del 2024 para el registro de productos veterinarios con THC menos al 1% con CBD no psicoactivo deben ser analizados las concentraciones de cannabinoides y la licencia agraria solo así se podrían vender con receta por otro lado, los productos que contienen THC mayor al 1% con sustancias fiscalizables mismos que requieran de alguna regulación del Ministerio también se venden bajo receta (Proaño, 2025).

Síntesis del marco teórico

El presente trabajo busca marcar diferencia por formular concentraciones puras de CBD, con el fin de evaluar directamente su acción antimicrobiana sin interferencia de otros compuestos fortaleciendo así la validez del estudio y creando una vía para el desarrollo de tratamientos naturales personalizados. Cabe recalcar que este proyecto se fundamenta en los principios de la microbiología clínica, la farmacología de productos naturales y la biotecnología aplicada. La elección del CBD se realizó en base a sus propiedades antimicrobianas previamente documentadas y la necesidad de explorar alternativas no convencionales para enfrentar la resistencia antimicrobiana. Considerándose también las ventajas como la baja toxicidad, posibilidad de producción local, y potencial uso en combinación con otros antimicrobianos. Este enfoque se alinea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), específicamente con el objetivo 3 (salud y bienestar) y el

objetivo 12 (producción y consumo responsables), al promover prácticas terapéuticas sostenibles en medicina veterinaria.

3 CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

3.1. Tipo y diseño de investigación

El presente estudio se enmarcó en un enfoque cuantitativo, de tipo experimental puro, con un diseño completamente aleatorizado. La variable independiente correspondió a las concentraciones de cannabidiol (CBD), mientras que la variable dependiente fue el diámetro del halo de inhibición bacteriana. El experimento se desarrolló bajo condiciones controladas de laboratorio, siguiendo un diseño comparativo entre grupos.

3.2. La población y la muestra

La población estuvo constituida por cepas bacterianas de referencia internacional: *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La muestra experimental consistió en cultivos bacterianos estandarizados sobre agar Mueller-Hinton, a los cuales se aplicaron discos de papel impregnados con CBD en diferentes concentraciones (25mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml y 100 mg/ml). Cada tratamiento se replicó en diez ocasiones con el fin de asegurar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados.

3.3. Los métodos y las técnicas

Se emplearon técnicas microbiológicas convencionales para el análisis de la actividad antimicrobiana. Las cepas bacterianas liofilizadas fueron activadas en agar TSA e incubadas a 37 °C durante 24 h. Posteriormente, se realizaron subcultivos en el mismo medio con el fin de obtener colonias aisladas. A partir de estas, se preparó el inóculo bacteriano mediante suspensión en solución salina estéril, ajustada a la turbidez equivalente al patrón de McFarland 0.5.

La técnica empleada para la evaluación de la actividad antimicrobiana fue la difusión en disco de Kirby-Bauer. Se impregnaron discos estériles con 15 µL de las soluciones de CBD preparadas en DMSO al 10 % en cuatro concentraciones (25, 50, 75 y 100 mg/ml).

Las placas de agar Mueller-Hinton fueron inoculadas mediante el método de extensión en superficie con asa de Drigalsky, utilizando 100 µL del inóculo bacteriano

estandarizado. Posteriormente, se colocaron los discos impregnados con CBD y los controles en la superficie del agar, y las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 h.

Al finalizar el periodo de incubación, se midieron los diámetros de los halos de inhibición en milímetros mediante regla milimetrada. Los datos obtenidos fueron registrados en hojas de cálculo, calculándose promedios y desviaciones estándar para cada tratamiento.

Para el desarrollo experimental se emplearon equipos de laboratorio como autoclave, incubadora, cabina de flujo laminar, balanza analítica, micropipetas, vortex y agitador magnético. Los principales reactivos utilizados fueron agar tripticasa de soya (TSA), agar Mueller-Hinton, solución salina al 0.9 %, estándar de turbidez McFarland 0.5, dimetilsulfóxido (DMSO) estéril y aislado de CBD certificado para uso de laboratorio.

La validez y confiabilidad de la investigación se garantizaron mediante el uso de cepas ATCC de referencia, la preparación estandarizada de las soluciones de CBD y la replicación de cada tratamiento en dieciocho ocasiones.

3.4. Procesamiento estadístico de la información

El diseño experimental correspondió a un análisis factorial AxB, donde el factor A representó las concentraciones de CBD (25, 50, 75 y 100 mg/ml) y el factor B representó la bacteria (*A. baumannii* y *S. aureus*). Los datos recolectados fueron tabulados en Microsoft Excel y analizados en el software infoSat y minitab 17.

Se calcularon estadísticas descriptivas media y desviación estándar y se aplicó un análisis de varianza ANOVA factorial. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

- Factores y niveles del experimento

Tabla1. Factores y niveles del experimento

Factores	Código	Niveles
Concentración de CBD	A	$a_0 = 25 \text{ mg/ml}$
		$a_1 = 50 \text{ mg/ml}$
		$a_2 = 75 \text{ mg/ml}$
		$a_3 = 100 \text{ mg/ml}$
Bacterias	B	$b_0 = A. baumannii$
		$b_1 = S. aureus$

Fuente: Elaboración propia

4 CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1. Análisis e Interpretación de Resultados

Se emplearon 10 réplicas por tratamiento empleado en el diseño experimental (10 réplicas por combinación tratamiento $\times$ cepa en la hoja principal de datos). Los halos se midieron en milímetros mediante regla milimetrada después de 24 h de incubación a 37 °C y las soluciones de CBD se prepararon en DMSO 10 % y se depositaron 15 μ L por disco (correspondiente a 375, 750, 1125 y 1500 μ g por disco para 25, 50, 75 y 100 mg/ml, respectivamente). Por otro lado, no se observaron valores atípicos evidentes fuera de los rangos esperados para el método de difusión disco.

Análisis ANOVA para el diseño experimental AxB

Tabla 2. ANOVA factorial tipo III realizado en el software InfoStat

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	1181,00	16	73,81	7,46	<0,0001	
TRAT.	345,14	3	115,05	11,63	<0,0001	
REP.	110,51	9	12,28	1,24	0,2870	
CEPA o BACTERIA	632,81	1	632,81	63,95	<0,0001	
TRAT.*CEPA o BACTERIA	92,54	3	30,85	3,12	0,0323	
Error	623,39	63	9,90			
Total	1804,39	79				

Fuente: Elaboración propia

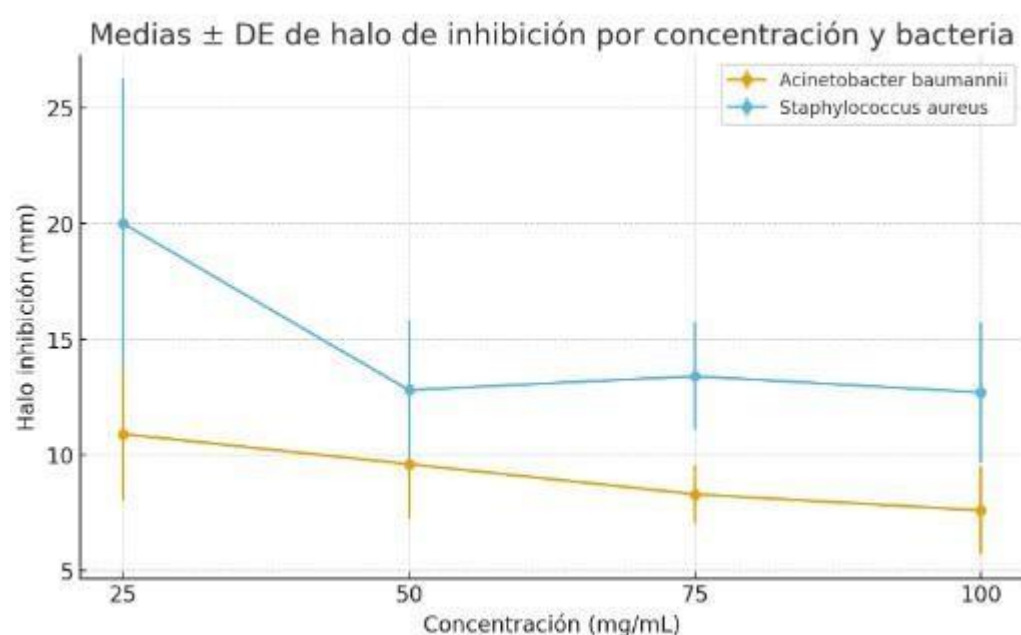
El análisis de varianza de tipo III la cual se observa en la Tabla 2 permitió evaluar la influencia de los factores concentración de CBD (TRAT.), cepa bacteriana (CEPA), su interacción, y la repetición sobre la variable dependiente: el diámetro del halo de inhibición. De acuerdo a esos resultados se obtuvo que el modelo general resultó altamente significativo ($F = 7,46$; $p < 0,0001$), lo que indica que las variaciones observadas en el halo no son producto del azar, sino de los factores considerados.

Es decir, el factor tratamiento (TRAT.), correspondiente a las distintas concentraciones de CBD, mostró un efecto significativo ($F = 11,63$; $p < 0,0001$), lo que demuestra que las diferentes dosis evaluadas influyen en el tamaño del halo de inhibición. Además, el factor cepa bacteriana (CEPA) presentó un efecto altamente significativo ($F = 63,95$; $p < 0,0001$),

evidenciando que la respuesta antimicrobiana varía de forma marcada entre las diferentes cepas *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter baumannii*. Por otro lado, la interacción TRAT.CEPA también resultó significativa ($F = 3,12$; $p = 0,0323$), indicando que el efecto de la concentración sobre el halo depende del tipo de bacteria; es decir, las bacterias no responden de forma similar ante las mismas dosis. Sin embargo, el factor repetición (REP.) no mostró diferencias significativas ($F = 1,24$; $p = 0,2870$), lo que confirma la consistencia y estabilidad experimental de las mediciones.

Estadística descriptiva

Ilustración 1. Medias de halo de inhibición (mm) por concentración y bacteria



Fuente: Elaboración propia

En la Figura 1 se presentan las medias de halo de inhibición (mm) para las distintas concentraciones de CBD (25, 50, 75 y 100 mg/mL) evaluadas frente a las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter baumannii*, junto con sus respectivas desviaciones estándar, también es posible observar una tendencia clara de mayor sensibilidad en *S. aureus*, la cual exhibe valores de halo superiores en todas

las concentraciones analizadas. En contraste, *A. baumannii* muestra halos menores y menos variables, evidenciando una respuesta más uniforme y reducida frente al CBD.

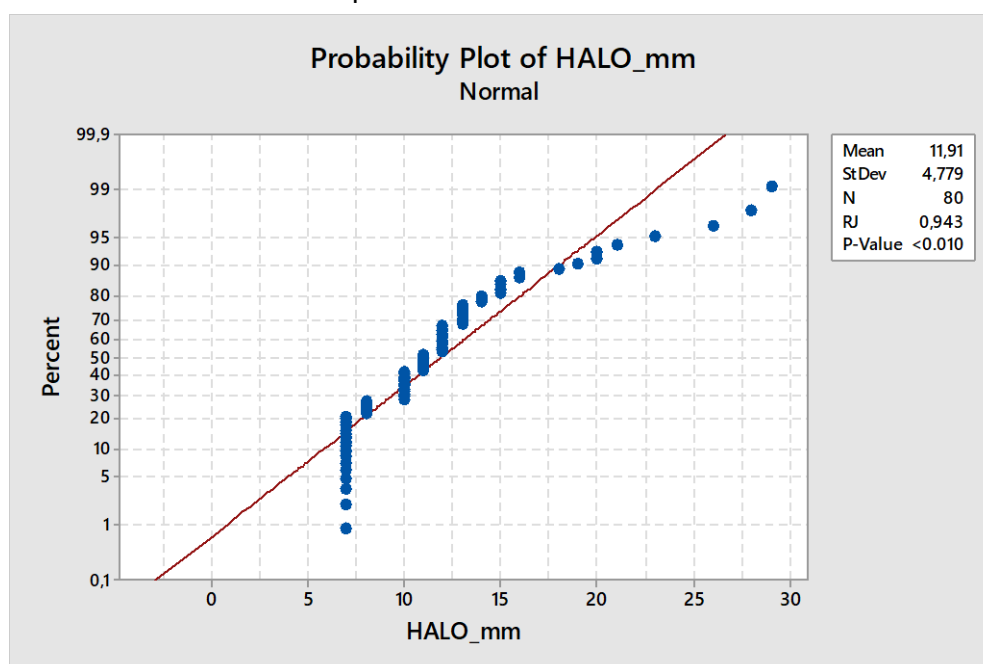
Por otro lado, en el efecto de la concentración, se evidencia que en la cepa *S. aureus*, la concentración de 25 mg/m produjo el mayor diámetro de halo promedio ($20,0 \pm 6,25$ mm), mientras que las concentraciones más altas (50–100 mg/mL) mostraron una reducción gradual del halo. En cambio, en la cepa *A. baumannii*, el halo promedio también disminuye ligeramente con el aumento de la dosis, desde $10,9 \pm 2,85$ mm a $7,6 \pm 1,90$ mm.

Esta tendencia no lineal indica que el aumento de concentración no se traduce en mayor inhibición, lo cual sugiere una posible limitación en la difusión del CBD a concentraciones elevadas, o bien la presencia de un efecto inverso asociado a la saturación del disco o a características fisicoquímicas del compuesto. Sin embargo, las barras de error ($\pm$ DE) muestran mayor dispersión en *S. aureus*, lo que podría atribuirse a una mayor variabilidad en la respuesta entre réplicas, posiblemente por diferencias en la interacción del CBD con la pared celular de las bacterias gram positivas.

Estos resultados visuales coinciden con el análisis estadístico (ANOVA), el cual mostró efectos significativos tanto para la concentración ($p < 0.0001$) como para la bacteria ($p < 0.0001$), y una interacción significativa entre ambos factores ($p = 0.0323$).

Análisis descriptivo de los resultados obtenidos en Minitab

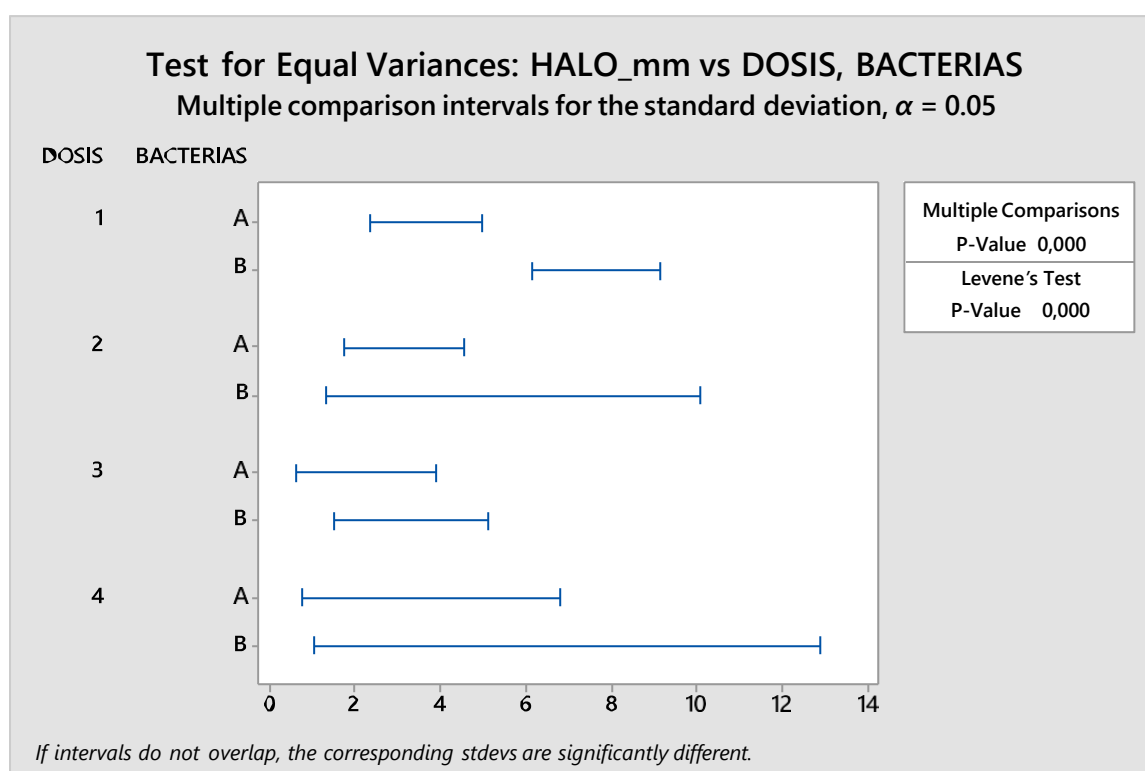
Ilustración 2. Distribución porcentual de los halos de inhibición



Fuente: Elaboración propia

Esta figura muestra la frecuencia relativa (%) de los diámetros de halo observados en las distintas combinaciones de tratamientos, además se observa una distribución heterogénea de los datos, donde la mayor proporción se concentra en valores intermedios (10–15 mm), reflejando la variabilidad en la respuesta antimicrobiana de las cepas frente al CBD. Sin embargo, la presencia de porcentajes más altos en rangos específicos nos indica que, aunque existe actividad, los efectos no son uniformes entre bacterias ni concentraciones. Esta variabilidad justifica la aplicación de pruebas de normalidad y la transformación de los datos para cumplir con los supuestos del análisis inferencial.

Ilustración 3. Comparación de los halos de inhibición (mm) según dosis y bacterias

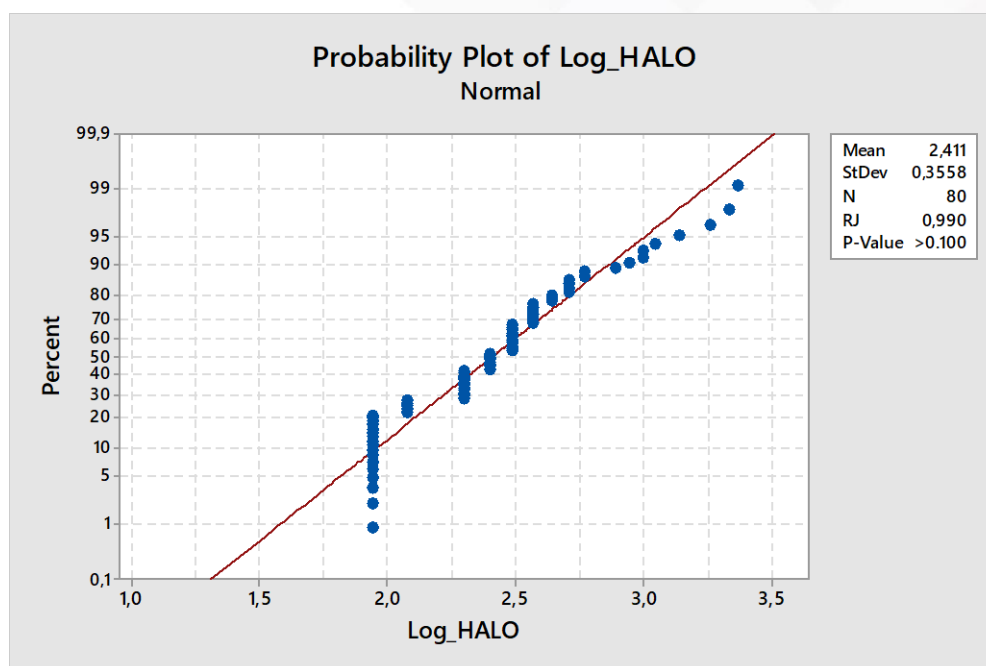


Fuente: Elaboración propia

En esta figura se comparan directamente los diámetros promedio de halo (mm) para cada dosis (25, 50, 75 y 100 mg/mL) en ambas bacterias (*A. baumannii* y *S. aureus*) donde se evidencia que *S. aureus* presenta halos de inhibición mayores que *A. baumannii* en todas las concentraciones. Además, se observa que el incremento de la dosis no se traduce necesariamente en un aumento del halo, destacando que la menor concentración, es decir los 25 mg/mL mostró en promedio valores mayores. Esta tendencia sugiere que la relación

entre concentración y respuesta no es lineal, posiblemente por limitaciones de difusión del compuesto en el agar.

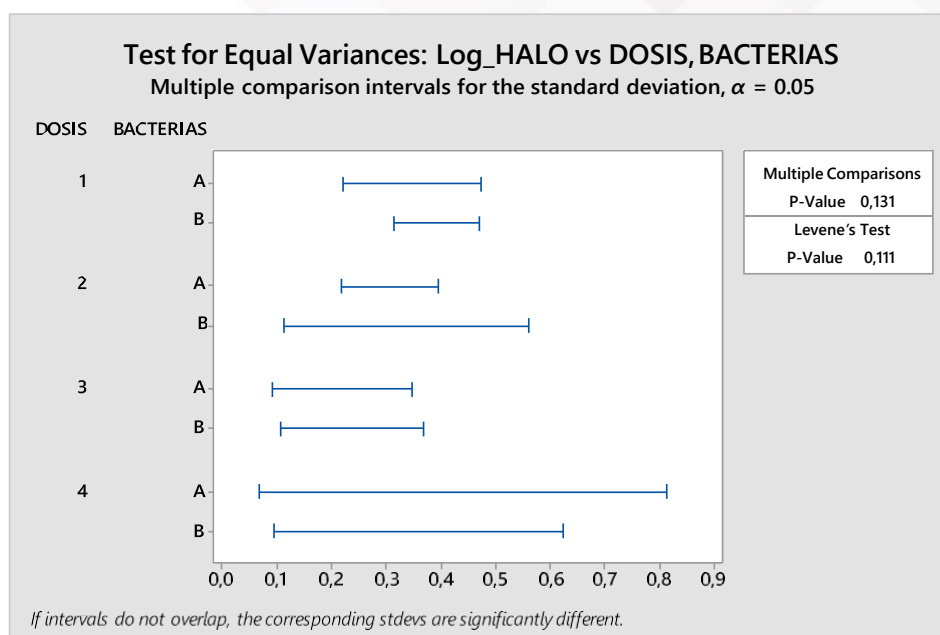
Ilustración 4. Verificación de supuestos iniciales (distribución original)



Fuente: Elaboración propia

La figura 4 representa la evaluación de los supuestos estadísticos iniciales (normalidad y homogeneidad de varianzas) sobre los valores originales de halo (en mm). En el gráfico se pueden observar desviaciones respecto a la normalidad, evidentes en la dispersión de los residuales y la forma asimétrica de la distribución. Debido a estas desviaciones, los datos no cumplían con los supuestos requeridos para aplicar un ANOVA paramétrico, por lo cual se decidió realizar una transformación logarítmica (Log10) de las medidas de halo.

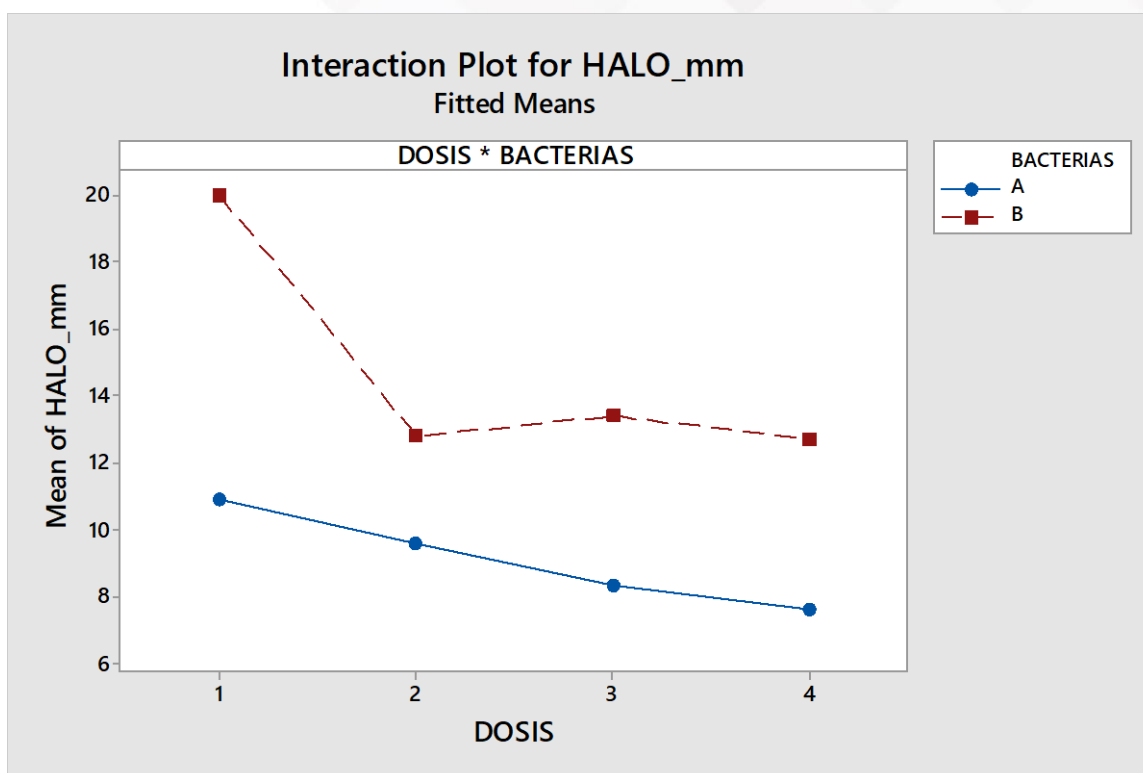
Ilustración 5. Comparación de logaritmos de los halos según dosis y bacterias



Fuente: Elaboración propia

Tras la transformación logarítmica, la figura 5 muestra la comparación entre las medias del Log(Halo) por dosis y bacterias, donde se observa una distribución más homogénea y simétrica, lo que indica que la transformación mejoró el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad. La tendencia general se mantiene: *S. aureus* conserva valores logarítmicos mayores que *A. baumannii*, confirmando una mayor sensibilidad, aunque las diferencias entre dosis se tornan más consistentes estadísticamente.

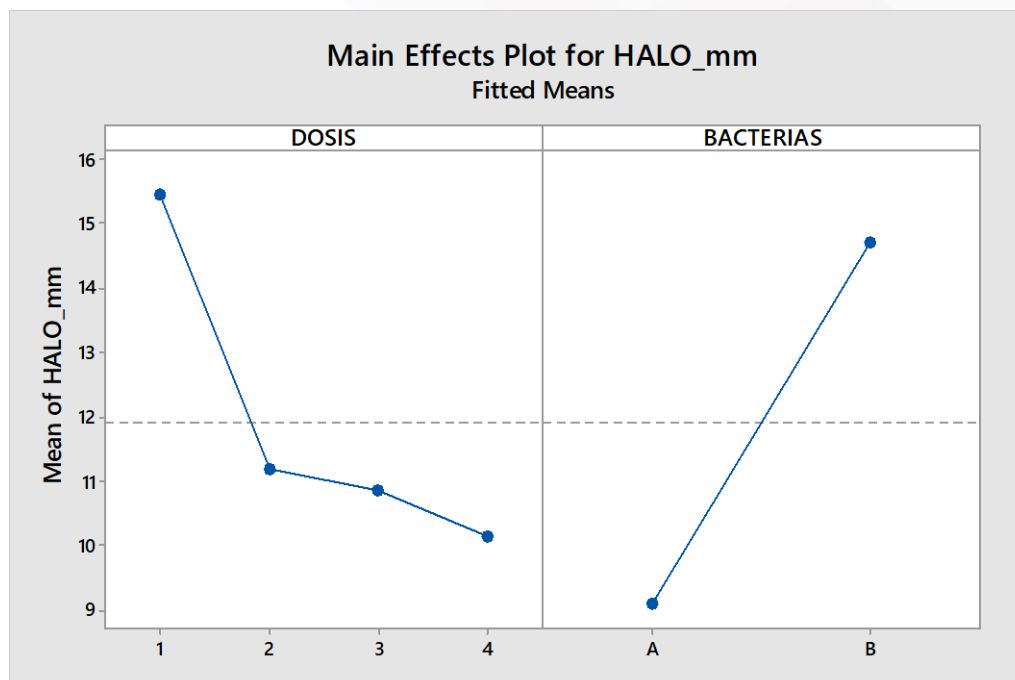
Ilustración 6. Interacción entre dosis y halos de inhibición



Fuente: Elaboración propia

Esta figura 6 muestra el diagrama de interacción entre los factores concentración (dosis) y bacteria, considerando el halo de inhibición (transformado). Se observan que las líneas no paralelas indican que existe una interacción significativa entre los factores: el efecto de la concentración varía dependiendo de la especie bacteriana. En *S. aureus* se observa una disminución del halo con el aumento de la dosis, mientras que en *A. baumannii* los cambios son menos marcados. Esto sugiere que la respuesta del halo depende del tipo de bacteria y no solo de la cantidad de CBD aplicada.

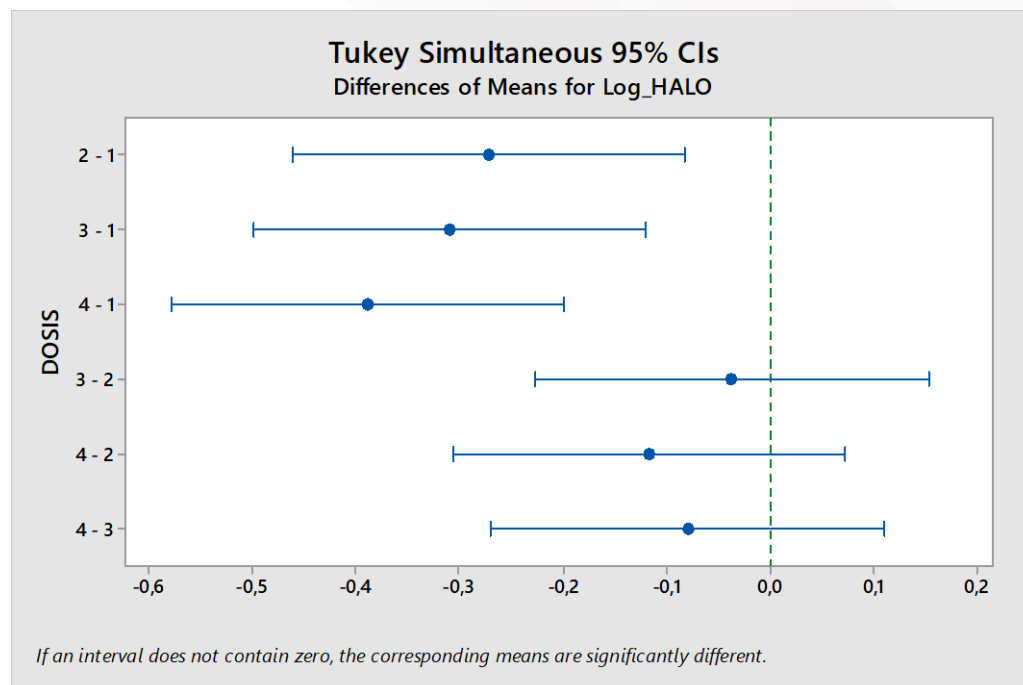
Ilustración 7. Efectos principales del halo en función de bacteria y dosis



Fuente: Elaboración propia

La figura de efectos principales presenta el comportamiento promedio del halo (Log) para cada nivel de los factores principales. En el grafico 7 se observa al lado izquierdo de las bacterias, se confirma que *S. aureus* exhibe valores promedio superiores, reflejando mayor inhibición. En el panel de dosis, se observa que la concentración de 25 mg/mL presenta el efecto promedio más alto, reforzando la observación de que las dosis mayores no incrementan proporcionalmente la inhibición. Esta representación evidencia los efectos independientes de cada factor sobre la variable de respuesta.

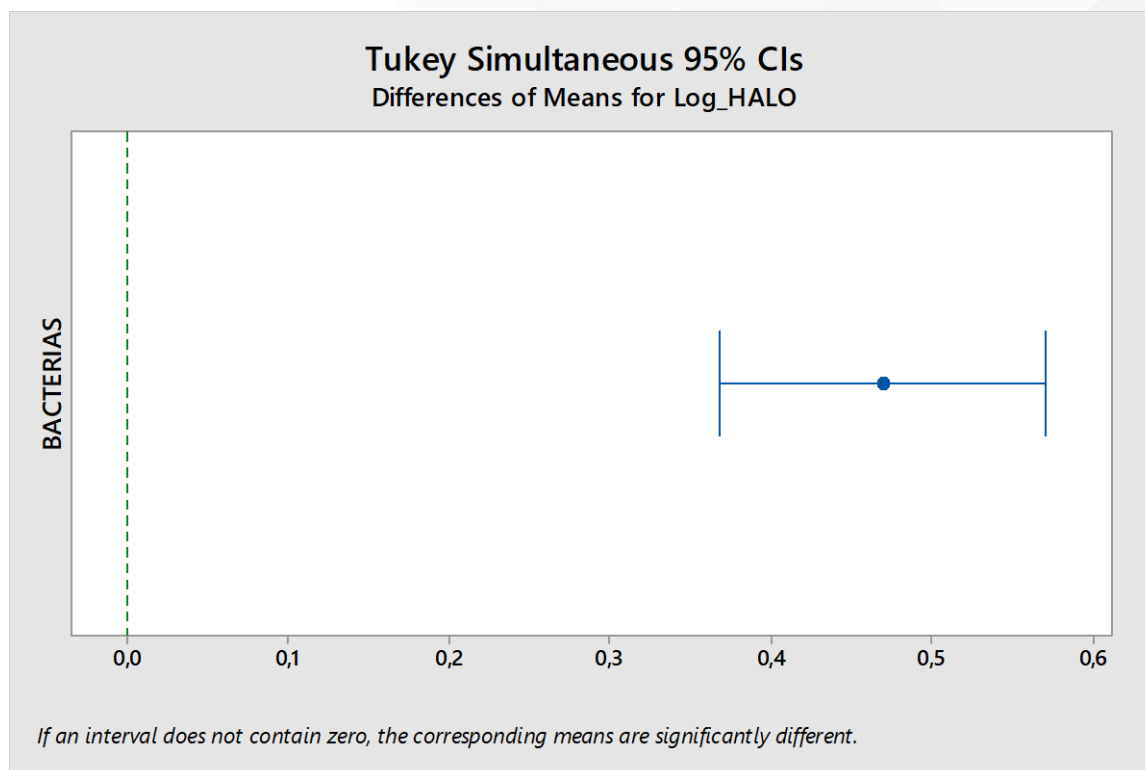
Ilustración 8. Prueba de Tukey HSD para Log(Halo) y dosis



Fuente: Elaboración propia

La figura 8 representa los resultados de la prueba post-hoc de Tukey aplicada sobre las medias logarítmicas de los halos según las dosis, también es posible observar que existen diferencias significativas entre la dosis de 25 mg/ml respecto a las dosis de 50, 75 y 100 mg/ml ($p < 0.05$), mientras que no hay diferencias significativas entre estas últimas entre sí. Esto indica que la concentración más baja genera una respuesta inhibitoria significativamente distinta, lo cual refuerza la hipótesis de una no linealidad en la relación dosis-respuesta.

Ilustración 9. Prueba de Tukey HSD para Log(Halo) y bacterias



Fuente: Elaboración propia

En esta figura se muestran los resultados de la prueba de Tukey aplicada al factor bacteria, es posible observar una diferencia significativa entre las medias logarítmicas de halo para *S. aureus* y *A. baumannii*, confirmando que la especie bacteriana tiene un efecto significativo sobre la respuesta al CBD. Este resultado concuerda con los efectos principales del ANOVA y respalda la mayor susceptibilidad de *S. aureus*.

5 CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones

5.1. Discusión

Los resultados del análisis de varianza demuestran que la concentración de CBD y la especie bacteriana son factores determinantes en la actividad antimicrobiana observada, coincidiendo con lo reportado en investigaciones previas que destacan la acción diferencial de los cannabinoides frente a bacterias gram positivas y gram negativas (Niyangoda et al., 2024).

El efecto altamente significativo de la bacteria confirma que *Staphylococcus aureus* es más sensible al CBD que *Acinetobacter baumannii*, lo cual puede explicarse por la estructura de su pared celular, ya que las bacterias gram positivas presentan una pared más permeable al CBD, mientras que las gram negativas poseen una membrana externa lipopolisacárida que actúa como barrera a compuestos lipofílicos (Pacheco et al., 2023).

El efecto significativo de la concentración indica que las variaciones en la dosis impactan en el halo de inhibición; sin embargo, el patrón observado no fue lineal. La menor concentración (25 mg/ml) mostró halos más amplios, lo que sugiere que el aumento en concentración no necesariamente incrementa la difusión o eficacia. Este comportamiento puede deberse a ciertas limitaciones en la difusión del CBD en el agar a mayores concentraciones, quizás posibles precipitaciones o agregaciones que reducen la biodisponibilidad efectiva del compuesto y factores fisicoquímicos como la viscosidad del solvente o la saturación local del disco (Morales-Carrasco & Palacios-Paredes, 2021).

La interacción significativa entre concentración y bacteria demuestra que la respuesta de inhibición varía según la especie, confirmando que cada bacteria tiene una sensibilidad específica frente a cada dosis. Este hallazgo es crucial, ya que evidencia que la efectividad del CBD no es universal y que su desempeño depende del microorganismo evaluado. Por otro lado, la no significancia de la repetición valida la consistencia experimental y asegura que las diferencias detectadas provienen de los tratamientos y no del error aleatorio (Vargas et al., 2025).

Los resultados muestran una actividad antimicrobiana del CBD frente a las cepas controladas ATCC evaluadas, con diferencias significativas entre especies y entre concentraciones. En particular, *Staphylococcus aureus* presentó halos de inhibición mayores que *Acinetobacter baumannii*, concordando con reportes previos que señalan mayor susceptibilidad de gram positivos (p. ej. *S. aureus*) a cannabinoides en ensayos in vitro (Vargas et al., 2025). La significación estadística de la interacción concentración por bacteria señala que el patrón de respuesta ante variaciones en la concentración de CBD difiere según la bacteria.

Un hallazgo llamativo es la mayor media de halo a la concentración más baja (25 mg/mL) en comparación con las concentraciones más altas. Este patrón es contrario a la expectativa clásica de una relación dosis-respuesta lineal (a mayor concentración mayor inhibición). Una de las tantas posibles explicaciones de acuerdo al estudio realizado por Herrera (2019) es la limitación del método difusión-disco para compuestos lipofílicos, ya que el CBD es lipofílico; a concentraciones elevadas puede presentar menor difusión en agar, generando halos menores, aunque la cantidad depositada sea mayor (Herrera, 2019).

Otra posible explicación es a los efectos del solvente/excipientes, dado que el vehículo usado (DMSO al 10 %) es el que facilita la solubilidad inicial, pero la cantidad de CBD absoluto depositado y su comportamiento físico-químico en el disco/agar puede cambiar con concentración, afectando difusión (La Fuente-Salcido Norma Margarita et al., 2015).

Además, fue posible observar ciertas limitaciones del estudio tales como el método de difusión en disco mismo que tiene limitaciones para compuestos lipofílicos como el CBD, la difusión en agar puede no reflejar la verdadera actividad in vitro (Žugić et al., 2024).

5.2. Conclusiones

La presente investigación tuvo como propósito evaluar la actividad antimicrobiana del cannabidiol (CBD) en distintas concentraciones frente a cepas bacterianas de referencia *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus*, ambas de relevancia clínica y veterinaria por

su multirresistencia a antibióticos convencionales. A continuación, se sintetizan los principales hallazgos y aportes del estudio en coherencia con los objetivos planteados:

- El CBD demostró actividad antimicrobiana in vitro frente a ambas cepas evaluadas. Los análisis de varianza (ANOVA factorial) confirmaron que la concentración del CBD, la especie bacteriana y la interacción entre ambos factores ejercieron un efecto significativo sobre el diámetro del halo de inhibición. Estos resultados evidencian que el CBD, en condiciones experimentales controladas, posee potencial como agente antimicrobiano.
- *Staphylococcus aureus* mostró mayor susceptibilidad al CBD que *Acinetobacter baumannii*. En todos los tratamientos, la cepa gram positiva presentó halos de inhibición más amplios, lo cual se relaciona con su pared celular menos restrictiva a la penetración de compuestos lipofílicos como el CBD. Por el contrario, la membrana externa lipopolisacárida de *A. baumannii* actuó como barrera, reduciendo su sensibilidad.
- La relación dosis-respuesta no fue lineal. Contra la expectativa inicial, la concentración más baja (25 mg/mL) generó halos de inhibición superiores a las dosis más altas (50–100 mg/mL). Este comportamiento sugiere que factores fisicoquímicos como la difusión del CBD en agar, la posible saturación de los discos o la agregación del compuesto a mayores concentraciones limitaron su efectividad. Este hallazgo representa un aporte novedoso, pues contradice el modelo clásico de mayor dosis–mayor efecto, y abre interrogantes sobre el comportamiento de fitocannabinoides en medios sólidos.
- La interacción concentración $\times$ bacteria fue determinante. El análisis reveló que la efectividad del CBD no puede generalizarse, ya que la respuesta varió según la cepa. Mientras que en *S. aureus* el patrón fue más marcado, en *A. baumannii* las diferencias entre concentraciones fueron mínimas, lo cual sugiere que cada especie responde de manera específica al compuesto.
- La metodología utilizada permitió resultados confiables y reproducibles. El diseño factorial AxB con diez réplicas por tratamiento aseguró solidez estadística y permitió verificar la

consistencia experimental. El uso de cepas ATCC, la estandarización del inóculo y el empleo de controles fortalecieron la validez de los hallazgos.

- El estudio aporta evidencia novedosa en el contexto veterinario ecuatoriano. Hasta el momento, los estudios locales sobre el uso del CBD en medicina veterinaria frente a cepas multirresistentes son escasos. Este trabajo constituye un aporte innovador que puede orientar futuras aplicaciones terapéuticas y experimentales, con relevancia tanto académica como práctica.

En síntesis, los resultados confirman que el cannabidiol posee un efecto antimicrobiano dependiente de la cepa bacteriana y con un comportamiento atípico respecto a la dosis. Este hallazgo refuerza la necesidad de explorar mecanismos de acción, formulaciones más estables y posibles aplicaciones clínicas. De este modo, la investigación abre un campo prometedor en el uso de compuestos naturales en la medicina veterinaria para enfrentar la resistencia antimicrobiana.

5.3. Recomendaciones

Realizar estudios complementarios con otros métodos microbiológicos como la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Bactericida Mínima (CBM). Estas técnicas permitirían una caracterización más precisa de la potencia del CBD frente a bacterias multirresistentes.

Explorar nuevas formulaciones del CBD (vehiculización en aceites, emulsiones, nanopartículas o sistemas lipídicos) que mejoren su solubilidad y difusión, superando las limitaciones observadas en el método de difusión en disco.

Ampliar el espectro de bacterias evaluadas. Se recomienda incluir otros patógenos multirresistentes de importancia clínica y veterinaria (p. ej., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), para establecer un panorama más completo de la actividad antimicrobiana del CBD.

Evaluar sinergias entre CBD y antibióticos convencionales. La combinación podría potenciar los efectos antimicrobianos, reducir dosis requeridas y disminuir la presión selectiva de resistencia, abriendo la puerta a nuevas terapias combinadas.

Realizar ensayos in vivo en modelos animales. Estos estudios son necesarios para determinar la eficacia real, la seguridad y los posibles efectos adversos del CBD en condiciones clínicas, lo que permitirá proyectar su uso terapéutico veterinario.

Estudiar los mecanismos moleculares de acción del CBD. Se sugiere profundizar en la interacción del compuesto con membranas bacterianas, proteínas y sistemas enzimáticos, lo que explicaría las diferencias observadas entre bacterias grampositivas y gramnegativas.

Considerar el marco legal y regulatorio nacional. Dado que el uso de cannabinoides en veterinaria aún no está plenamente normado en Ecuador, se recomienda generar evidencia científica que contribuya a la elaboración de lineamientos claros para su aplicación.

Reconocer las limitaciones del método empleado. El ensayo de difusión en disco, aunque útil como aproximación inicial, no refleja completamente el comportamiento del CBD en entornos biológicos. Futuras investigaciones deberán incluir metodologías más representativas y condiciones clínicas simuladas.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Khazaleh, A. K., Zhou, X., Bhuyan, D. J., Münch, G. W., Al-Dalabeeh, E. A., Jaye, K., & Chang, D. (2024). The Neurotherapeutic Arsenal in Cannabis sativa: Insights into Anti-Neuroinflammatory and Neuroprotective Activity and Potential Entourage Effects. *Molecules*, 29(2), 410. <https://doi.org/10.3390/molecules29020410>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2015). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal Of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Burbano-Vasquez, D. M., Pazos-Moncayo, A. J., Hurtado-Benavides, A. M., Legarda-Nastul, Y. B., & Arango-Bedoya, O. (2025). Bioactividad del extracto de Cannabis sativa sobre aislamientos de Helicobacter pylori de Colombia. *Salud UIS*, 57(1). <https://doi.org/10.18273/saluduis.57.e:25v57a08>
- Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1), 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
- Campaña Burguet, Alleen. (2021). Propuestas de métodos de preservación para Staphylococcus aureus. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 52(2), 164-173. Epub 01 de agosto de 2021. Recuperado en 15 de junio de 2025, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24502021000200164&lng=es&tng=es.
- Pila, G., Segarra, D., & Cerna, M. (2023). Antibacterial effect of Cannabidiol oil against Propionibacterium acnes, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis and level of toxicity against Artemia salina. *Bionatura*, 8(1), 1-4. <https://doi.org/10.21931/rb/2023.08.01.14>

- Camacho-Silvas, L. A., Portillo-Gallo, J. H., Rivera-Cisneros, A. E., Sánchez-González, J. M., Franco-Cendejas, R., Duque-Rodríguez, J., Velo-Méndez, G., & Ishida-Gutiérrez, C. (2021). Multirresistencia, resistencia extendida y panresistencia a antibacterianos en el norte de México. *Cirugía y Cirujanos*, 89(4). <https://doi.org/10.24875/ciru.20000304>
- Coelho, M. J., Araújo, M. D., Carvalho, M., Cardoso, I. L., Manso, M. C., & Pina, C. (2025). Antimicrobial Potential of Cannabinoids: A Scoping Review of the Past 5 Years. *Microorganisms*, 13(2), 325. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020325>
- Hernández-Barrera, J. C., Merchán, M. A., & Prada-Quiroga, C. F. (2017). *Impacto del uso de antimicrobianos en medicina veterinaria*. <https://www.redalyc.org/journal/5600/560062888010/html/>
- Herrera, J., Rolim, L., Honorato, R., & Pimentel, M. F. (2024). Analysis of Cannabinoids in Medicinal Cannabis Products: A Comprehensive Review. *Journal Of The Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20240129>
- Laaboudi, F., Rejdali, M., Amhamdi, H., Salhi, A., Elyoussfi, A., & Ahari, M. (2024). In the weeds: A comprehensive review of cannabis; its chemical complexity, biosynthesis, and healing abilities. *Toxicology Reports*, 13, 101685. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101685>
- Martinenghi, L. D., Jönsson, R., Lund, T., & Jenssen, H. (2020). Isolation, Purification, and Antimicrobial Characterization of Cannabidiolic Acid and Cannabidiol from Cannabis sativa L. *Biomolecules*, 10(6), 900. <https://doi.org/10.3390/biom10060900>
- Martinez, A. S., Lanaridi, O., Stagel, K., Halbwirth, H., Schnürch, M., & Bica-Schröder, K. (2023). Extraction techniques for bioactive compounds of cannabis. *Natural Product Reports*, 40(3), 676-717. <https://doi.org/10.1039/d2np00059h>
- Montero, M. I., Rajaram, P. S., Alvarado, J. E. Z., McCloskey, K. E., Baxter, R. D., & Eguiluz, R. C. A. (2025). Cannabidiol Toxicity Driven by Hydroxyquinone Formation. *Chemical Research In Toxicology*. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.4c00448>

- Monton, C., Madaka, F., Settharaksa, S., Wunnakup, T., Suksaeree, J., & Songsak, T. (2019). Optimal condition of cannabis maceration to obtain the high cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol content. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3). <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920190676>
- Ostapczuk, K., Apori, S. O., Estrada, G., & Tian, F. (2021). Hemp Growth Factors and Extraction Methods Effect on Antimicrobial Activity of Hemp Seed Oil: A Systematic Review. *Separations*, 8(10), 183. <https://doi.org/10.3390/separations8100183>
- Pandey, S., Doo, H., Keum, G. B., Kim, E. S., Kwak, J., Ryu, S., Choi, Y., Kang, J., Kim, S., Lee, N. R., Oh, K. K., Lee, J., & Kim, H. B. (2023). Antibiotic resistance in livestock, environment and humans: One Health perspective. *Journal Of Animal Science And Technology*, 66(2), 266-278. <https://doi.org/10.5187/jast.2023.e129>
- Ribeiro, A., Alsayyed, R., Oliveira, D., Loureiro, R., & Cabral-Marques, H. (2024). Cannabinoids from *C. sativa* L.: Systematic Review on Potential Pharmacological Effects against Infectious Diseases Downstream and Multidrug-Resistant Pathogens. *Future Pharmacology*, 4(3), 590-625. <https://doi.org/10.3390/futurepharmacol4030033>
- Rodríguez, J. C. D., Romero, P. A. A., & Benítez, R. B. (2023). Extracción verde y eficiente de cannabidiol, tetrahydrocannabinol, cannabinol y cannabigerol de *Cannabis sativa* empleando disolventes eutécticos profundos naturales basados en mentol. *Ciencia E Ingeniería Neogranadina*, 33(1), 87-104. <https://doi.org/10.18359/rcin.6588>
- Rodriguez-Buenahora, R. D., Bustillo-Zarate, D. E., Caicedo-Sanchez, D. C., Cadena-Sarmiento, D. C., & Castellanos-Gomez, C. (2016). *Acinetobacter baumannii*: patógeno multirresistente emergente. *Revista Médicas UIS*, 29(2). <https://doi.org/10.18273/revmed.v29n2-2016010>
- Ruiz, D. A. G., Flores, C. M. B., Cardenas, E. V. N., & Duque, K. E. A. (2023). Reportes de casos: Uso de cannabis en dolor crónico. *RECIMUNDO*, 7(2), 496-504. [https://doi.org/10.26820/recimundo/7.\(2\).jun.2023.496-504](https://doi.org/10.26820/recimundo/7.(2).jun.2023.496-504)

- Sholler, D. J., Schoene, L., & Spindle, T. R. (2020). Therapeutic Efficacy of Cannabidiol (CBD): a Review of the Evidence From Clinical Trials and Human Laboratory Studies. *Current Addiction Reports*, 7(3), 405-412. <https://doi.org/10.1007/s40429-020-00326-8>
- Barrales-Cureño, H. J., López-Valdez, L. G., Reyes, C., Cetina-Alcalá, V. M., Vasquez-García, I., Diaz-Lira, O. F., & Herrera-Cabrera, B. E. (2020). Chemical Characteristics, Therapeutic Uses, and Legal Aspects of the Cannabinoids of Cannabis sativa: A Review. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, 63. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020190222>
- De Briyne, N., Holmes, D., Sandler, I., Stiles, E., Szymanski, D., Moody, S., Neumann, S., & Anadón, A. (2021). Cannabis, Cannabidiol Oils and Tetrahydrocannabinol—What Do Veterinarians Need to Know? *Animals*, 11(3), 892. <https://doi.org/10.3390/ani11030892>
- Gamble, L., Boesch, J. M., Frye, C. W., Schwark, W. S., Mann, S., Wolfe, L., Brown, H., Berthelsen, E. S., & Wakshlag, J. J. (2018). Pharmacokinetics, Safety, and Clinical Efficacy of Cannabidiol Treatment in Osteoarthritic Dogs. *Frontiers In Veterinary Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00165>
- Manual de Agrocalidad (Julio 2024). https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2024/12/MANUAL-PARA-EL-REGISTRO-DE-EMPRESAS-Y-PRODUCTOS-DE-USO-VETERINARIO.pdf?utm_source
- Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, 10(2), 165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
- Mejia, S., Duerr, F. M., Griffenhagen, G., & McGrath, S. (2021). Evaluation of the Effect of Cannabidiol on Naturally Occurring Osteoarthritis-Associated Pain: A Pilot Study in Dogs. *Journal Of The American Animal Hospital Association*, 57(2), 81-90. <https://doi.org/10.5326/jaaha-ms-7119>

- Mondino, A., Zeinsteger, P., & García, C. (2019). Intoxicación por Cannabis en Pequeños Animales. Revisión. *Veterinaria (Montevideo)*, 55(212).
<https://doi.org/10.29155/vet.55.212.7>
- Montero-Recalde, M., Vayas, L., Avilés-Esquivel, D., Pazmiño, P., & Erazo-Gutierrez, V. (2018). Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(4), 1543-1547.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15185>
- Proaño, P. (2025, 16 mayo). *Cannabis en Ecuador: entre la esperanza médica y el lucro empresarial*. Equinoccio Digital. https://equinocciodigital.com/legalizacion-cannabis-ecuador-industria-medicinal/?utm_source=
- Soria-Lara, D. M., Gaitán-Vélez, B. V., Jiménez-Islas, H., & Miranda-López, R. (2019). El Sistema de Endocannabinoides como regulador de la lipogénesis y su posible modulación por la mangiferina. *REVISTA BIOMÉDICA*, 30(2).
<https://doi.org/10.32776/revbiomed.v30i2.638>
- Verrico, C. D., Wesson, S., Konduri, V., Hofferek, C. J., Vazquez-Perez, J., Blair, E., Dunner, K., Salimpour, P., Decker, W. K., & Halpert, M. M. (2020). A randomized, double-blind, placebo-controlled study of daily cannabidiol for the treatment of canine osteoarthritis pain. *Pain*, 161(9), 2191-2202. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001896>
- Herrera, M. L. (2019). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *Scielo*, 34. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010
- La Fuente-Salcido Norma Margarita, D., Villarreal-Prieto, J., MA, Ángel, D. L. M., Patricia, G. P. A., La Fuente-Salcido Norma Margarita, D., Villarreal-Prieto, J., MA, Ángel, D. L. M., & Patricia, G. P. A. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Scielo*, 46(2).
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952015000200007

- Morales-Carrasco, Á., & Palacios-Paredes, E. (2021). Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* por acción de aceite esencial de la menta. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Tecnología E Innovación En Salud Pública*, 1-7. <https://doi.org/10.31790/inspilip.v5i2.41>
- Niyangoda, D., Aung, M. L., Qader, M., Tesfaye, W., Bushell, M., Chiong, F., Tsai, D., Ahmad, D., Samarawickrema, I., Sinnollareddy, M., & Thomas, J. (2024). Cannabinoids as Antibacterial Agents: A Systematic and Critical Review of In Vitro Efficacy Against *Streptococcus* and *Staphylococcus*. *Antibiotics*, 13(11), 1023. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111023>
- Pacheco, T. J., Lesme, M. H. G., & Duarte, G. F. M. (2023). Evaluación de la Actividad Antibacteriana In Vitro de los Aceites de Cannabis Indica y Cannabis Híbrida Frente a Cepas de Microorganismos. *Epicentro - Revista de Investigación Ciencias de la Salud*, 3(5), 55-60. <https://doi.org/10.59085/2789-7818.2023.74>
- Vargas, G. A., Rodríguez, J. R. M., Flores, M. A. B., Gómez, S. R., Celis, L. V. M., Almaguer, J. R. E. M., & Czeckuk, D. (2025). Potenciación del efecto de diferentes antibióticos en presencia de ácido gálico Vs *Staphylococcus aureus*, in vitro. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 9(3), 186-208. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i3.17597
- Žugić, A., Martinović, M., Tadić, V., Rajković, M., Racić, G., Nešić, I., & Koren, A. (2024). Comprehensive Insight into Cutaneous Application of Hemp. *Pharmaceutics*, 16(6), 748. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16060748>

7 ANEXOS

Fotografía 1.

Limpieza y desinfección de cajas Petri.



Fotografía2.

Preparación de material a esterilizar.



Fotografía 3.

Preparación de agar Mueller Hinton.



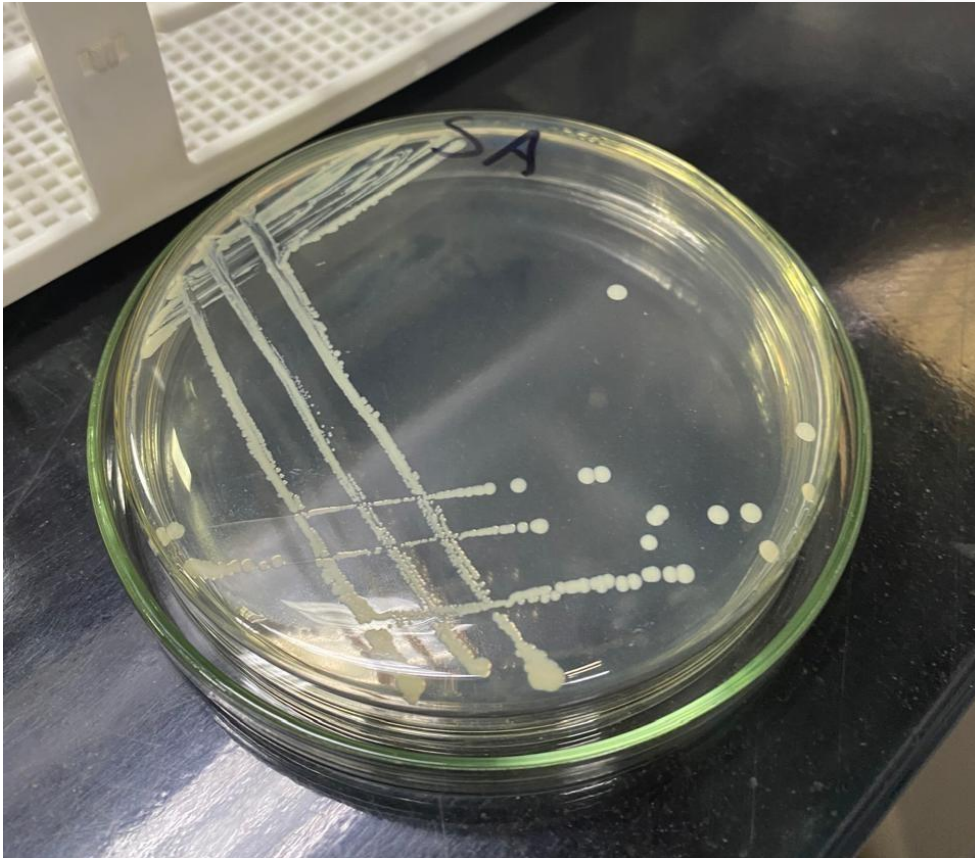
Fotografía 4.

Aplicación de las concentraciones de CBD en discos blancos.



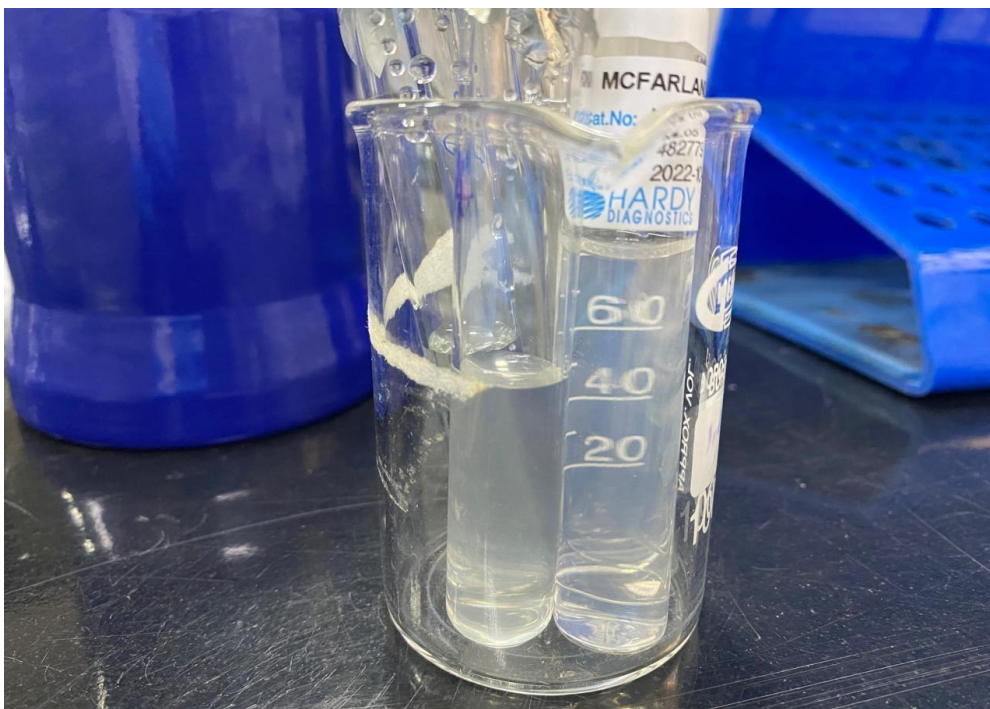
Fotografía 5.

Placa con colonias de Staphylococcus aureus.



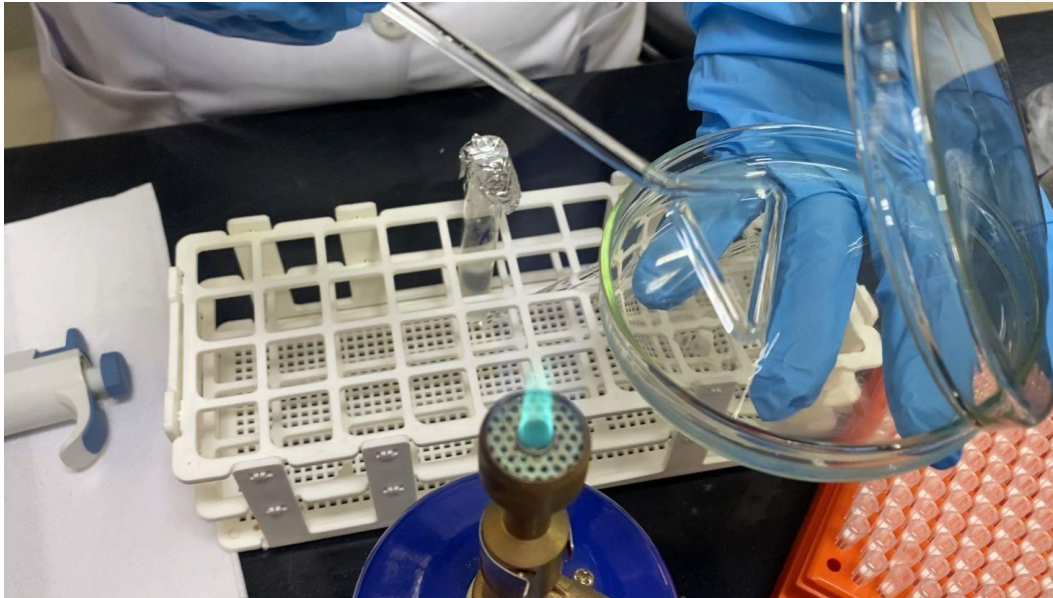
Fotografía 6.

Turbidez equivalente al patrón de McFarland 0.5.



Fotografía 7.

Inoculación mediante el método de extensión en superficie con asa de Drigalsky.



Fotografía 8.

Colocación de discos impregnados con diferentes concentraciones de CBD en cajas Petri.



Fotografía 9.

Medición de halos con regla milimetrada.

