



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**DIRECCIÓN DE CARRERA DE PECUARIA**

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN  
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO  
VETERINARIO**

**MODALIDAD:**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**PREPARADOS ORGÁNICOS (*Croton lechleri* y *Propolis de Apis mellifera*) EN EL TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA Y SUBCLÍNICA EN BOVINOS DE LECHE**

**AUTORES:**

**CRISTÓBAL COLÓN VERA CEDEÑO  
KASSANDRA MONSERRATE ZAMORA ZAMBRANO**

**TUTOR:**

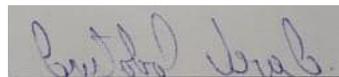
**DR. RONALD VERA MEJÍA Mg Sc**

**CALCETA, JULIO DEL 2020**

## DERECHOS DE AUTORÍA

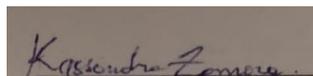
Cristóbal Colón Vera Cedeño y Kassandra Monserrate Zamora Zambrano declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.



---

CRISTÓBAL C. VERA CEDEÑO  
CI: 1313890905

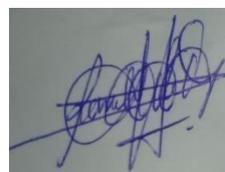


---

KASSANDRA M. ZAMORA ZAMBRANO  
CI: 1316461761

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

Dr. Ronald Vera Mejía certifica haber tutelado el proyecto PREPARADOS ORGÁNICOS (*Croton lechleri* y *Propolis de Apis mellífera*) EN EL TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA Y SUBCLÍNICA EN BOVINOS DE LECHE, que ha sido desarrollada por Cristóbal Colón Vera Cedeño y Kassandra Monserrate Zamora Zambrano, previo a la obtención del título de Médico Veterinario de acuerdo al REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



---

DR. RONALD VERA MEJÍA. Mg Sc.  
**CI: 1308932225**

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **PREPARADOS ORGÁNICOS (*Croton lechleri* y *Propolis de Apis mellífera*) EN EL TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA Y SUBCLÍNICA EN BOVINOS DE LECHE**, que ha sido propuesto, desarrollado por **CRISTÓBAL COLÓN VERA CEDEÑO** y **KASSANDRA MONSERRATE ZAMORA ZAMBRANO**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



---

DR. IGNACIO MACÍAS ANDRADE Mg  
**MIEMBRO**



---

DR. GUSTAVO CAMPOZANO Mg  
**MIEMBRO**



---

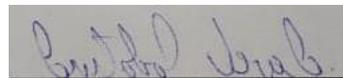
DR. ERNESTO HURTADO PhD  
**PRESIDENTE**

## AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A Dios por todo lo que me ha dado. A mi mamá Narcisa Cedeño que la amo mucho y a mi hermana Ximena por su apoyo incondicional.

Al Dr. Juan Luis Cedeño y al Dr. Ernesto Hurtado por toda la ayuda brindada en este proceso de aprendizaje en esta ilustre institución.



---

**CRISTÓBAL C. VERA CEDEÑO**

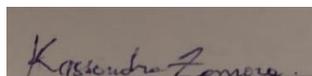
## AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A Dios por darme fortaleza en mi vida. Toda la honra y gloria para mi Señor.

A mis padres Ubaldo y Benedicta por todo el apoyo brindado, a mis hermanos y familia en general.

A mis amigos, a cada uno de los docentes de la carrera, en especial al Dr. Juan Luis Cedeño y al Dr. Ernesto Hurtado por toda la ayuda brindada en este proceso de aprendizaje.

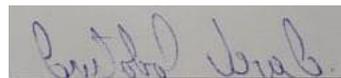


---

**KASSANDRA M. ZAMORA ZAMBRANO**

## DEDICATORIA

A Dios gracias por darme la vida y estar siempre conmigo, guiándome en mi camino y permitirme llegar hasta donde estoy. A mis padres Narcisa y Cristóbal, gracias por ellos soy quien soy, orgullosamente y con la cara muy en alto les agradezco por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades y con sus palabras de aliento he concluido con una meta más en mi vida. Infinitamente gracias. A mi hermana Ximena por su cariño y apoyo incondicional, gracias por estar conmigo durante todo el proceso de mi vida hasta este momento. A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas. A Kassandra Zamora Zambrano, finalmente quiero dedicar esta tesis a ella por apoyarme cuando más lo necesito, por extender su mano en momentos difíciles, de verdad mil gracias, siempre la llevare en mi corazón. Al doctor Ernesto Hurtado, más que un docente s un gran amigo, quién con sus conocimientos y su gran trayectoria, ha logrado en mí culminar está etapa de estudio con éxito. A los docentes que siempre fueron un pilar fundamental para nuestro aprendizaje. Agradezco al Ing. Leopoldo Viteri, quien con su apoyo hemos logrado esta meta. Al Dr. Juan Luis Cedeño que por su tiempo esfuerzo nos enseñó el verdadero valor del trabajo en equipo.



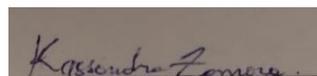
---

**CRISTÓBAL C. VERA CEDEÑO**

## DEDICATORIA

A Dios, mi todo, mi fuerza, mi fortaleza, mi fe, a ÉL se lo debo todo, por darme fuerzas para alcanzar el lugar donde estoy, porque no ha sido fácil llegar a donde llegue y donde pienso llegar. A mis queridos padres Ubaldo y Benedicta que a pesar de las luchas y dificultades siempre me han apoyado en lo poco y en lo mucho con todo su amor y dedicación nos han formado a mí y a mis hermanos como personas muy creyentes en Dios y en ponerle fe en todo lo que nos logramos proponer. A mis hermanos Katty y Angel por comprenderme siempre. A mi hermana Karina, a su esposo Oswaldo y a mi sobrina Estrellita que siempre me han apoyado también para lograr mis metas. A mi abuela Amparito que la quiero mucho. A mi familia en general. A mi comadre Carolina Rosero que siempre ha estado para apoyarme en todo momento, a Luis González y Saúl Estefano y a su familia que siempre me han acogido como un miembro más de su hogar, los quiero mucho. A mi compañero de tesis Cristóbal Colón. A todos mis amigos de la universidad.

A todos, muchas gracias los que han hecho parte de mi vida porque mas que un lugar de aprendizaje ha sido un lugar donde he crecido más como persona y ser humano.



---

**KASSANDRA M. ZAMORA ZAMBRANO**

## CONTENIDO GENERAL

Carátula.....	i
Derechos de autoría.....	ii
Certificación de Tutor.....	iii
Aprobación del Tribunal.....	iv
Agradecimiento.....	v
Agradecimiento.....	vi
Dedicatoria.....	vii
Dedicatoria.....	iii
Contenido General.....	ix
Contenido de Cuadros, Figuras y Gráficos.....	xii
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xiv
<b>CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento y Formulación del Problema.....	1
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos.....	4
1.3.1. Objetivo General.....	4
1.3.2. Objetivos Específicos.....	4
1.4. Hipótesis, premisas y/o ideas a defender.....	4
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
2.1. La mastitis.....	5
2.1.1. Etiología.....	5
2.1.2. Patogenia.....	5
2.2. Clasificación de la mastitis.....	6
2.3. Breve revisión de la anatomía de la glándula mamaria.....	8
2.4. Métodos de diagnóstico de mastitis.....	8
2.4.1. Observación y palpación de la ubre.....	8
2.4.2. Conductividad eléctrica de la leche.....	8
2.4.3. Prueba de CMT.....	9
2.4.4. Número de células somáticas.....	11
2.5. Terapia orgánica en el tratamiento de mastitis.....	12
2.6. ¿Qué son los biopreparados?.....	13
2.6.1. Ventajas y desventajas del uso de los biopreparados.....	14
2.6.1.1. Ventajas.....	14

2.6.1.2. Desventajas.....	14
2.7. Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ).....	15
2.7.1. Composición química del Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ).....	17
2.7.2. Actividades biológicas del Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ).....	18
2.7.2.1. Actividad antioxidante.....	18
2.7.2.2. Actividad antibacteriana.....	18
2.7.2.3. Actividad antiparasitaria.....	19
2.7.2.4. Actividad antiinflamatoria.....	19
2.7.3. Dosis.....	20
2.7.4. Vía de administración.....	20
2.7.5. Presentación por envase.....	20
2.8. Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ).....	20
2.8.1. Composición química.....	22
2.8.2. Propiedades de la Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ).....	22
2.8.3. Actividades biológicas.....	22
2.8.3.1. Actividades antiviral y antibacteriana.....	22
2.8.3.1. Actividad cicatrizante.....	23
2.8.3.1. Actividad antiinflamatoria.....	23
2.8.4. Dosis.....	23
2.8.5. Vía de administración.....	23
2.8.6. Presentación por envase.....	23
2.9. Tratamiento testigo a base de Cefalexina.....	23
2.9.1. Composición del producto.....	24
2.9.2. Dosis.....	24
2.9.3. Vía de administración.....	24
2.9.4. Presentación por envase.....	24
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	25
3.1. Ubicación de la investigación.....	25
3.2. Condiciones climáticas.....	25
3.3. Duración del trabajo.....	25
3.4. Factores de estudio.....	25
3.5. Tratamientos.....	26
3.6. Diseño experimental.....	26
3.7. Esquema del ADEVA.....	26
3.8. Unidad experimental.....	27

3.9. Variables de estudio.....	27
3.9.1. Variables independientes.....	27
3.9.2. Variables dependientes.....	27
3.10. Análisis estadístico.....	27
3.11. Manejo del experimento.....	28
3.11.1. Clasificación de los animales y realización de la prueba de California Mastitis Test (CMT).....	28
3.11.2. Toma de muestras antes de la aplicación de los tratamientos.....	28
3.11.3. Presentación y aplicación de los tratamientos.....	28
3.11.4. Realización de la prueba de California Mastitis Test (CMT) después de la aplicación de los tratamientos.....	28
3.11.5. Verificación de la eficacia de los biopreparados orgánicos de la Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) al 5%, Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ) al 5% y Tratamiento testigo (Cefalexina).....	28
3.11.6. Verificación de la eficacia de los tratamientos mediante California Mastitis Test (CMT).....	29
3.11.7. Verificación de la eficacia de los tratamientos mediante Número de Células Somáticas (NCS) en el laboratorio.....	29
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1. Número de Células Somáticas (NCS/ml).....	30
4.2. Cantidad de aglutinación de las muestras de leche (CMT).....	32
4.3. Efectividad de los biopreparados orgánicos Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) al 5%, Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ) al 5% y Tratamiento testigo.....	33
4.4. Estimar la factibilidad económica de los tratamientos utilizados en el control de la mastitis a través del costo de cada uno de ellos.....	35
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIÓN.....	37
5.1. Conclusiones.....	37
5.2. Recomendación.....	37
BIBLIOGRAFÍA.....	38
ANEXOS.....	47

## CONTENIDO DE CUADROS

<b>CUADRO 2.1.</b> Interpretación de resultados de la Prueba de California Mastitis Test.....	11
<b>CUADRO 2.2.</b> Composición del Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ).....	17
<b>CUADRO 2.3.</b> Descripción del tratamiento a base de Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ).....	20
<b>CUADRO 2.4.</b> Propiedades de la Sangre de drago ( <i>Croton lechleri</i> ).....	22
<b>CUADRO 2.5.</b> Descripción del tratamiento a base de Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ).....	23
<b>CUADRO 2.6.</b> Cuadro 2.4. Composición del tratamiento a base de Cefalexina.....	24
<b>CUADRO 3.1.</b> Datos de condiciones climáticas.....	25
<b>CUADRO 3.2.</b> Esquema de ADEVA.....	26
<b>CUADRO 3.3.</b> Tratamientos y unidades experimentales.....	27
<b>CUADRO 4.1.</b> Estadística descriptiva del número de células por tratamiento aplicado (antes y después).....	30
<b>CUADRO 4.2.</b> Promedios y error estándar (antes y después) para la efectividad de los biopreparados orgánicos y Cefalexina bajo estudio.....	33
<b>CUADRO 4.3.</b> Factibilidad económica de los respectivos tratamientos.....	35

## FIGURA

<b>FIGURA 2.1.</b> Manera de interpretar los resultados con la prueba de CMT.....	10
---	----

## GRÁFICOS

<b>GRÁFICO 4.2.1.</b> Porcentajes de las distintas categorías de aglutinación antes de la aplicación de los tratamientos para el control de la mastitis.....	32
--	----

**GRÁFICO 4.2.2.** Porcentajes de las distintas categorías de aglutinación después de la aplicación de los tratamientos para el control de la mastitis..... 33

## RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la efectividad de los biopreparados orgánicos como tratamiento de la mastitis clínica y subclínica en bovinos en producción. Se seleccionaron 15 vacas, agrupadas en tres grupos de cinco animales cada uno para la aplicación (durante tres días) de los respectivos tratamientos: Sangre de Drago (*Croton lechleri*) al 5%, Propóleo (*Propolis de Apis mellífera*) al 5% y Cefalexina (comercial). Además se realizó la prueba California Mastitis Test (CMT) y toma de muestras de leche, a nivel de cada pezón, para la realización del Conteo de Células Somáticas (NCS), antes de la aplicación de los tratamientos y 48 horas después que se finalizó la aplicación de los preparados. Se empleó un DCA con submuestras, para tres tratamientos con cinco repeticiones, para un total de 60 observaciones. Las variables medidas fueron: Número de células somáticas (NCS/ml), cantidad de aglutinación de las submuestras de leche (CMT), efectividad de los biopreparados orgánicos y Cefalexina. Los resultados infieren un efecto no significativo ( $p > 0,05$ ) en los tratamientos para las variables estudiadas. Se observó en los valores obtenidos un mejor comportamiento entre los preparados orgánicos en comparación al comercial; destacando el Propóleo (*Propolis de Apis mellífera*) al 5% que redujo las NCS y la aglutinación de la leche, que presentó el menor costo a nivel económico. Se concluye que la aplicación de los preparados orgánicos (Propóleo y Sangre de Drago) mantiene una semejanza en la eficacia con respecto al producto comercial (Cefalexina).

**PALABRAS CLAVE:** Producción de leche, Glándula mamaria, California mastitis test, Células somáticas, preparados orgánicos.

## ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the effectiveness of organic biopreparations as a treatment of clinical and subclinical mastitis in cattle in production. Fifteen cows were selected, grouped into three groups of five animals each for the application (for three days) of the respective treatments: Drago Blood (*Croton lechleri*) 5%, Propolis (*Apis mellifera Propolis*) 5% and Cephalexin (commercial). In addition, the California Mastitis Test (CMT) and milk samples were taken, at the level of each nipple, to perform the Somatic Cell Number (NCS), before the application of the treatments and 48 hours after it was completed the application of the preparations. A DCA with subsamples was used, for three treatments with five repetitions, for a total of 60 observations. The variables measured were: Number of somatic cells (NCS / ml), Amount of agglutination of milk subsamples (CMT) and effectiveness of organic biopreparations and Cephalexin. The results infer a non-significant effect ( $p>0.05$ ) in the treatments for the variables studied. It was observed in the values obtained a better behavior among the organic products in comparison to the commercial one; highlighting the Propolis (*Apis mellifera Propolis*) 5% that reduced NCS and agglutination of milk, which presented the lowest cost at the economic level. It is concluded that the application of organic products (Propolis and Drago Blood) maintains a similarity in efficacy with respect to the commercial product (Cephalexin).

**KEY WORDS:** Milk production, Mammary gland, California mastitis test, Somatic cells, organic products.

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La mastitis es la enfermedad muy frecuente en el ganado lechero, causando principalmente pérdidas económicas en los productores, se presenta debido a un manejo inadecuado de la sanidad de la glándula mamaria y también por un proceso inadecuado en el manejo antes, durante y después del ordeño (Guimarães, 2016).

En las explotaciones ganaderas, para tratar la mastitis se recurre principalmente al uso de antibióticos (Calderón y Rodríguez, 2008). Debido a esto el productor llega a tener pérdidas económicas por el costo del tratamiento así como la no realización del ordeño en esos animales (Andresen, 2001). Además se debe esperar el tiempo de retiro correspondiente del antibiótico que se haya utilizado para el tratamiento; también se puede llegar a perder animales con buenos promedios de producción por el descarte después de tratamientos fuertes ya que la mastitis puede producir daños a nivel epitelial de la glándula mamaria y el animal ya no estaría óptimo para sus fines productivos (Wang *et al.*, 2016).

El uso de antibióticos es una práctica habitual para el control de la mastitis, y es tema de preocupación creciente entre consumidores, industriales, técnicos y autoridades sanitarias, quienes han puesto de manifiesto que el empleo excesivo de antibióticos es el principal factor en la aparición de cepas bacterianas resistentes (OIE, 2010). Hallazgos tanto clínicos como epidemiológicos, han indicado que cada vez son más frecuentes los reportes de la transferencia de genes de resistencia entre microorganismos patógenos y no patógenos en el ámbito veterinario (Frana y Wellinton, 2015).

Además de esto, cabe resaltar que el productor recibe mayores ingresos si la cantidad de bacterias es menor al límite máximo establecido en la ley (Agrocalidad, 2010).

La mastitis es un grave problema que afecta la industria lechera a nivel mundial, implicando grandes pérdidas económicas debido a la disminución de la producción de leche, gastos en servicios veterinarios, medicamentos, el desecho temprano de las vacas afectadas, descarte de volúmenes de leche por

contaminación con agentes antimicrobianos así como una disminución en la calidad de los derivados lácteos (Gómez *et al.*, 2015).

La mastitis bovina radica en la inflamación de las glándulas mamarias o la ubre, este va a generar gran dolor, molestia y estrés en los animales, como consecuencia va a ocasionar disminución en la producción (Yera y Ramírez, 2016), calidad y condición de la leche. Además se evidencian cambios en su sabor, olor y aumento de la carga bacteriana (Ruiz *et al.*, 2016; Zaror, 2011).

La problemática planteada, permite buscar alternativas que puedan mitigar la enfermedad de la mastitis, es allí que el empleo de biopreparados orgánicos debe ser evaluado. Ante esto, surge la siguiente interrogante ¿Será que los efectos de preparados orgánicos a base de Sangre de drago (*Croton lechleri*) y Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*), coadyuvan al control de mastitis clínica y subclínica en bovinos en La Hacienda Santa Rosa, sitio San Lorenzo del Cantón Chone?

## **1.2. JUSTIFICACIÓN**

La presente investigación se realiza con la finalidad de que a través de la introducción de nuevos productos al mercado se puede controlar la mastitis bovina, y es el caso de que nuevos servicios farmacológicos a base de ingredientes de origen natural, es muy interesante ya que se pueden innovar las actividades comerciales de las casas farmacéuticas donde se elaboran y distribuyen productos de uso veterinario y por supuesto evitar residuos de químicos en la leche, mejorando la calidad y rentabilidad de los productos lácteos en el país.

La búsqueda de nuevos principios activos que actúen en los principales microorganismos causantes de enfermedades, tanto en el hombre como en animales, es creciente (Duarte, 2011). Los productos naturales pueden ser tan eficientes como los producidos por la síntesis química. Diversos condimentos como ajo, orégano, tomillo y muchos otros han demostrado actividad antimicrobiana, lo que explica su utilización histórica (Miguel y Bendin, 2011).

La necesidad de investigar sobre esta enfermedad nace por razones de salud pública y salud animal además de los costos que este padecimiento representa en la economía del sistema de producción, justifican la trascendencia del estudio para la pronta y acelerada identificación de la glándula mamaria que sufre de mastitis (Alejandratos, 2010).

## **1.3. OBJETIVOS**

### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de preparados orgánicos de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) y Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*) en el tratamiento de mastitis clínica y subclínica en bovinos de leche.

### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar el contenido de células somáticas y aglutinación California Mastitis Test (CMT) antes y después en leche de vacas mastíticas tratadas con preparados orgánicos formulados a partir de Sangre de Drago (*Croton lechleri*), Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*) y genérico comercial a base de Cefalexina.

Comparar la efectividad de los distintos productos utilizados en el control de la mastitis clínica y subclínica.

Estimar la factibilidad económica de los tratamientos utilizados en el control de la mastitis a través del costo de cada uno de ellos.

## **1.4. HIPÓTESIS, PREMISAS Y/O IDEAS A DEFENDER**

La aplicación de preparados orgánicos: Sangre de drago (*Croton lechleri*) y Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*) en el tratamiento de mastitis clínica y subclínica en bovinos, contribuyen a la reducción de los agentes causales de la enfermedad.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. LA MASTITIS

El término mastitis deriva de las palabras griegas *mastos* (mama) e *itis* (inflamación). La mastitis, como su nombre lo indica, constituye una reacción inflamatoria de la glándula mamaria que puede ser ocasionada por microorganismos patógenos transmisibles, o por diferentes agentes como lesiones traumáticas, disturbios secretorios de origen metabólico-nutricional, situaciones de estrés, cambios fisiológicos asociados con una terminación temprana de la lactancia y menos frecuente, por alergia y neoplasmas (Bonetto, 2014).

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria y sus tejidos secretores, que reduce la producción del volumen de leche, alterando su composición, incluso su sabor, además de elevar su carga bacteriana normal. De acuerdo a su duración, se puede clasificar en aguda o crónica. Puede manifestarse de forma clínica o subclínica. Esta enfermedad provoca graves pérdidas económicas a la industria lechera. Aunque en muchos casos hay tumefacción, calor, dolor y endurecimiento de la glándula mamaria, la mastitis no se identifica fácilmente, ni por examen visual ni por leche obtenida en la copa de ordeño (Gómez, 2015).

#### 2.1.1. ETIOLOGÍA

La etiología de la mastitis puede ser infecciosa, traumática o tóxica. Las bacterias causantes pueden ser patógenos mayores o menores de la glándula mamaria. Los patógenos mayores incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Actinomyces pyogenes*, y otras bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.* Los patógenos menores incluyen *Mycoplasma ssp.*, *Pasteurella ssp.*, *Nocardia ssp.*, *Listeria ssp.* y algunos hongos y levaduras, entre otros (Trujillo *et al.*, 2011; Ericsson *et al.*, 2009).

#### 2.1.2. PATOGENIA

La mastitis está relacionada con la patogenicidad de los distintos microorganismos y la habilidad para invadir los tejidos mamaros, así como la resistencia que tiene la glándula mamaria. La patogenia presente en las

inflamaciones mamarias, son los principales gérmenes causantes de la mastitis y pueden llegar al tejido glandular de la siguiente manera: a través del esfínter del pezón, canal, cisterna y conducto galactóforo y por medio soluciones que entran en contacto con piel lesionada de los pezones y de las mamas; tal como reporta la literatura (Chaves *et al.*, 2017; Peláez, 2015).

Una vez que el patógeno llega a la ubre, ya sea por vía ascendente o descendente, desencadena la reacción inflamatoria producida por la presencia de los microorganismos; esta reacción también se puede producir debido a algún tipo de lesión traumática (Martínez, 2015).

La punta del pezón normalmente permanece cerrada; está compuesta por músculo liso y actúa como la primera línea de defensa de la glándula mamaria; una vez realizado el ordeño, el canal del pezón queda abierto aproximadamente por 2 horas, lo que favorece a que las bacterias puedan ingresar al interior del canal y desencadenar la presencia de mastitis. Debido a la presencia de bacterias se produce un incremento de leucocitos reduciendo la cantidad y calidad de la leche. En casos avanzados se puede producir la pérdida total de la función de la glándula mamaria, ya que los conductos se pueden mantener obstruidos debido a que las células secretoras llegan a perder su funcionalidad (Morales, 2011).

## **2.2. CLASIFICACIÓN DE LA MASTITIS CLÍNICA Y SUBCLÍNICA**

La mastitis bovina es una infección de la glándula mamaria de la vaca que provoca su inflamación. Es una enfermedad que puede ocasionarse por múltiples causas si bien en el 80% de los casos es debida a microorganismos patógenos, y es muy común en las vacas lecheras y causante de pérdidas económicas para el ganadero, debido a que la mastitis bovina afecta a salud del animal y calidad de la leche producida. Si el animal no recibe atención veterinaria la mastitis puede llegar a ser crónica, en cuyo caso el ganadero tendrá que sacrificar la vaca (Zotal, 2017).

La mastitis es muy difícil de contrarrestar ya que dependiendo de las características del animal como su raza y los factores de su ambiente contribuyen a que esta patología se siga propagando (Rangel *et al.*, 2011).

De acuerdo a sus signos la mastitis puede ser clínica y subclínica. Los signos clínicos van a presentar una disminución en la producción de leche ya que su composición y apariencia va a estar totalmente alterada por la presencia de microorganismos, fiebre, glándulas mamarias enrojecidas, hinchadas y calientes, es decir la presencia de síntomas visibles y notables (Hillerton y Berry, 2005).

Bolaños (2012) hace referencia a que en la mastitis subclínica no son visibles los cambios en la ubre o en la leche, estos solo se perciben al realizar la prueba de California Mastitis Test (CMT) donde se observa alteración en la composición de la leche por la presencia de factores inflamatorios o cuando la producción de leche disminuye. En la práctica la mastitis subclínica no se detecta a tiempo, por eso es importante realizar con frecuencia el Conteo de Células Somáticas mediante técnicas de laboratorio; de lo contrario el impacto económico será mayor por reducción en la producción y por el aumento de células somáticas en los tanques de enfriamiento de la leche.

La mastitis subclínica es uno de los principales problemas sanitarios que tienen los pequeños y medianos productores en sus hatos lecheros; esto es debido a las condiciones y el medio en el que se desempeñan las labores de ordeño y por el desconocimiento en el manejo de las actividades diarias de ordeño (Bonifaz y Conlago, 2016).

La mastitis, particularmente subclínica y crónica, es la más persistente y más común del grupo de enfermedades de importancia por la higiene de la leche en el ganado lechero, ocurre frecuentemente, y puede conducir a grandes pérdidas económicas debido al reducido rendimiento de leche, y multas a causa de los elevados conteos de células somáticas presentes en los tanques de leche. En la práctica, los casos de mastitis subclínica con frecuencia no son detectados rápidamente, o pueden incluso no ser reconocidas por el ordeñador (Bedolla, 2017).

## **2.3. BREVE REVISIÓN DE LA ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA**

La ubre es un gran cuerpo glandular, presenta un sistema de conductos organizados por la cisterna del pezón, cisterna de la glándula, canales lácteos y alvéolos. La vaca posee cuatro cuartos mamarios, dos craneales y dos caudales, siendo el cuerpo de forma elipsoidal, pero aplanada transversalmente. El conducto papilar desemboca en el vértice redondeado del pezón. El conducto papilar no está totalmente cerrado y facilita las infecciones ascendentes de la ubre (mastitis). Un canal papilar parcialmente ocluido impide la salida de la leche (Wolter 2015; König *et al.*, 2013; Medina y Silva, 2005; Sisson *et al.*, 1982).

La producción y secreción de la leche corre a cargo de un conjunto de células especializadas que se agrupan en una unidad funcional llamada alveolo, estos forman un lobulillo, y los mismos un lóbulo que desemboca en los conductos galactóforos, estos conductos desembocan en la cisterna y se continúan al exterior por el conducto papilar del que está separado por unos pliegues de la mucosa, la "roseta de Furstenberg", que junto con el esfínter papilar es de gran importancia para evitar la salida pasiva de la leche (Callejo, 2014).

## **2.4. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE MASTITIS**

### **2.4.1. OBSERVACIÓN Y PALPACIÓN DE LA UBRE**

La mastitis subclínica, es una infección incipiente que puede estar dañando el tejido glandular y provocando por lo tanto una alteración en la leche. Esta infección puede provocar inflamación de uno, varios cuartos o de toda la glándula y aumento de la temperatura en el área afectada, así como enrojecimiento de la zona y dolor; cuando se encuentran todos o alguno de los síntomas enumerados se puede interpretar como un caso de mastitis clínica, donde además se encuentran cambios importantes en la leche que produce el tejido afectado, tales como: alteración del color, aparición de grumos, coágulos sanguinolentos, coágulos con pus, o una leche más acuosa, entre otros (Pérez *et al.*, 2005).

### **2.4.2. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DE LA LECHE**

Medina y Montaldo (2003) destacan que la Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) se ha utilizado como un indicador de la mastitis durante la última década, se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor

contenido electrolítico especialmente iones de sodio y de cloro y se ha desarrollado como un método para monitorear el estado de la mastitis en la vaca. Se le encuentra como parte de algunos equipos de ordeño computarizados dentro de las salas de ordeño así como también en forma de medidores portátiles, lo que permite el monitoreo individual por cuarto (Norberg *et al.*, 2004).

Esta técnica es importante porque mide la lesión, como es el caso del recuento celular. Sin embargo, sus limitaciones probablemente restringen su uso a vacas de producción elevada que se mantienen en rebaños pequeños, o en laboratorios con auto analizadores. Se puede emplear una combinación de la detección de mastitis subclínica tomando como base la conductividad eléctrica de la leche, la producción láctea, el número de parto y los días de lactación, como un modelo logístico de regresión como instrumento de análisis en un rebaño con una incidencia alta de mastitis subclínica (Radostits *et al.*, 2002).

### **2.4.3. PRUEBA DE CMT**

La Prueba de California para Mastitis (CMT, por sus siglas en inglés) ha sido empleada durante décadas y sigue siendo la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en el ganado bovino lechero (Medina y Montaldo, 2003).

La función del California Mastitis Test (CMT) es indicar si las células de la leche están aumentadas o disminuidas, el resultado puede ser negativo donde la leche y el reactivo son acuosos y positivos donde la leche y el reactivo se solidifican (Royster y Wagner, 2015). Este reactivo es Alquilauril Sulfanato de Sodio que es un detergente que causa una liberación de contenido celular de los leucocitos y este se convierte junto con unos agentes proteicos de la leche en una gelatina, el cual a mayor número de células en la leche libera más ADN y hace que esta mezcla se vea más viscosa. Este reactivo se encuentra en una paleta de que tiene cuatro compartimentos donde se alberga la misma cantidad de leche y permite evaluar cada cuarto independientemente (Wilson *et al.*, 2009).

Bedolla (2007) considera que el uso de esta prueba de campo permite obtener resultados inmediatos y con una especificidad del 93% y una sensibilidad de

66,7% para infecciones asociadas a patógenos mayores, del 49,5%, para patógenos menores, y de un 84% para patógenos ambientales.

El CMT es una prueba sencilla y útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso (Blowey y Edmonson, 1995). Los resultados pueden ser interpretados en cinco clases (Figura 1): desde el resultado negativo en el que la leche y el reactivo siguen siendo acuosos, hasta el recuento de células más elevado en el que la mezcla de la leche y el reactivo casi se solidifica. Esto se determina en relación a la reacción de gelificación (Bedolla, 2004).

**Figura 2.1.** Manera de interpretar los resultados con la prueba de CMT.



Fuente: Bedolla et al (2007).

**Cuadro 2.1.** Interpretación de resultados de la Prueba de California Mastitis Test

Score	Significado	Descripción de la reacción	Interpretación (Rcs/ml)
N	Negativo	La mezcla permanece en estado líquido y homogéneo.	0-200.000
T	Trazas	Hay algo de engrosamiento. La reacción es reversible y la viscosidad observada por primera vez tiende a desaparecer.	150.000-500.000
1	Ligeramente Positivo	La mezcla espesa, pero no hay formación de gel en el medio de la paleta y la viscosidad observada tiende a persistir. La mezcla cae poco a poco.	400.000-1,500.000
2	Positivo	Gel se formara en el centro de la paleta durante el movimiento giratorio. El gel se acumula en la parte inferior de la paleta cuando el movimiento giratorio se interrumpe. Cuando se viene la mezcla la masa gelatinosa cae y puede dejar un poco de líquido en el pocillo.	800.000-5,000.000
3	Muy Positivo	Gel se formara en el centro de la paleta y se pega en el fondo del pocillo, pero no a un lado. Cuando se vierte la mezcla, se cae sin dejar líquido detrás.	>5,000.000

**Fuente:** DVG, 2002 citado por Bedolla *et al* (2007).

Medina y Montaldo (2003) destacan que la prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el Alquilauril Sulfonato de Sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación de la gelatina, traduciéndose en nuestra lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación.

#### **2.4.4. NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (NCS)**

El método óptico o recuento microscópico de células somáticas si bien es de referencia, actualmente es de poca utilidad cuando se trata de un gran número de muestras y se debe trabajar con una metodología más rápida. Sin embargo,

aún mantiene su utilidad para los trabajos de investigación (Saran y Chaffer, 2000).

Carrión (2001) describe al método tradicional del recuento de células somáticas, como el recuento directo por microscopio utilizando un agrandamiento de 500x. Es un ensayo cuantitativo de laboratorio por el cual se examinan bajo el microscopio utilizando frotis teñidos de leche problema y se cuenta el número de células somáticas. Los tanques de leche a granel con más de un millón de células por mililitro de leche, sugieren que por lo menos el 40% de las vacas de la explotación tienen mastitis.

Los recuentos de menos de un cuarto de millón, indican que no más del 10% de las vacas están clasificadas bajo el número dos de la escala de calificación en la prueba de California. Este método es más preciso, pero también el que consume más tiempo y requiere además equipo costoso. Sin embargo, es difícil que una persona alcance a contar más de 10 muestras por hora. Es por eso que los procedimientos directos de recuentos por microscopio deben considerarse anticuados, ya que no pueden utilizarse para analizar un gran número de muestras en poco tiempo y con alta precisión (Carrión, 2001).

## **2.5. TERAPIA ORGÁNICA EN EL TRATAMIENTO DE MASTITIS**

Hay terapias orgánicas de interés para los sistemas ganaderos de producción autosuficiente y alternativa, como puede ser la ganadería ecológica. Estas pérdidas invaluable de los conocimientos en salud animal exigen en la actualidad respetar y fortalecer el carácter holístico y en particular el conocimiento sobre el mismo (Gómez, 2011).

De igual manera los ganaderos han observado de cerca sus animales y su medio, tienen nombres para las diferentes enfermedades que afectan a sus animales, saben a qué sexo y a qué edad son normalmente afectados. Han desarrollado un amplio espectro de métodos de prevención y tratamiento para mantener sus animales sanos y productivos. Estos conocimientos han sido denominados medicina etnoveterinaria, este término incluye habilidades médicas como el diagnóstico de enfermedades (Molina, 2004).

La fitoterapia estudia la utilización de plantas medicinales y sus derivados con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para aliviar o para curar enfermedades. Es la ciencia que usa los extractos que contienen los principios activos contenidos en los distintos tejidos vegetales, o sus derivados para combatir patologías crónicas o agudas, para prevenirlas o bien para conservar un buen estado de salud. Se encuentran entre las terapias más sencillas y más antiguas (Guamán, 2014).

Investigaciones científicas han permitido descubrir una variada gama de principios activos, de los cuales los más importantes desde el punto de vista de salud, son aceites esenciales, los alcaloides, los glúcidos o heterópsidos, los mucílagos, gomas y taninos, sin embargo existen también en las plantas otros principios activos relevantes denominados nutrientes esenciales, como las vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos y fibras, azúcares diversos, ácidos orgánicos, lípidos y los antibióticos (AECID, 2012).

Por lo expuesto anteriormente, se trata de encontrar métodos naturales efectivos para disminuir la carga bacteriana y que no sean perjudiciales para la salud humana (Arancibia, 2011).

## **2.6. ¿QUÉ SON LOS BIOPREPARADOS?**

Son sustancias y mezclas de origen vegetal, animal o mineral presentes en la naturaleza que tienen propiedades nutritivas para las plantas o repelentes y atrayentes de insectos para la prevención y control de plagas y/o enfermedades. A lo largo de la historia, los biopreparados se han desarrollado a partir de la observación empírica de los procesos y efectos de control que realizan dichos productos. Por este motivo, la mayor parte de los biopreparados no tienen un autor definido y, en muchos casos, ni siquiera se conoce con precisión la ciudad o el país de origen (FAO, 2010).

### **2.6.1. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE LOS BIOPREPARADOS**

Seguidamente se describirán de acuerdo a lo indicado por la FAO (2010), las ventajas y desventajas del uso de los biopreparados en el ámbito animal.

### **2.6.1.1. VENTAJAS**

Se basan en el uso de recursos que, generalmente, se encuentran disponibles en las comunidades, constituyendo en una alternativa de bajo costo para el control de plagas y enfermedades.

Casi no requieren de energía a base de combustibles fósiles para su elaboración.

Suponen un menor riesgo de contaminación al ambiente, ya que se fabrican con sustancias biodegradables y de baja o nula toxicidad.

Su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos.

### **2.6.1.2. DESVENTAJAS**

El proceso de elaboración puede demandar cierto tiempo y, muchas veces, los ingredientes necesarios no se encuentran disponibles todo el año, por lo que su preparación debe ser planificada.

No siempre pueden almacenarse para un uso posterior.

Se degradan rápidamente por los rayos ultravioleta por lo que su efecto residual es bajo, aunque en muchos casos, no se han determinado con exactitud los límites máximos de residuos.

En muchos casos no han sido validados con rigor científico, en especial en lo que refiere a las dosis y los momentos de aplicación. Como su uso está basado en la práctica, se debe recordar que las condiciones de producción o ecológicas pueden cambiar.

Su manejo requiere de cuidados para evitar la ingestión y el contacto con la piel (uso de guantes) de altas concentraciones de algunos de ellos.

De acuerdo con lo anterior surgió la idea de hacer esta investigación utilizando dos biopreparados, aplicándolos de forma separada para comprobar la eficacia de cada uno de los preparados de origen orgánico en el tratamiento de mastitis clínica y subclínica, y de esta manera responder a la siguiente interrogante ¿Los biopreparados ejercen una acción en el tratamiento de mastitis?

## **2.7. PROPÓLEO (*Propolis de Apis mellifera*)**

Propóleos proviene del griego *pro* (para o en la defensa) y *polis* (la ciudad) que significa defensor de la ciudad. Es una sustancia blanda, pegajosa y balsámica, que fabrican las abejas a partir de resinas colectadas de las yemas de los árboles. Esta resina es mezclada con cera y enzimas secretadas por el sistema glandular de las abejas, para dar lugar a una masilla con un potente poder antibacteriano. Es utilizado por las abejas para barnizar el interior de la colmena, sellar grietas, reducir vías de accesos; sellar agujeros en sus panales, alisar las paredes internas y consolidar los componentes estructurales, protegiendo a la colonia de enfermedades (Ramírez *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2014; Asis, 1989).

El propóleo tiene su punto de fusión entre los 62 - 70 ° C, un peso específico de 1,127 g/cm<sup>3</sup> y se endurece a 15°C. Las abejas lo elaboran mezclando sustancias activamente secretadas o exudadas por las heridas de ciertos vegetales, con ceras, sus secreciones salivares y otras sustancias en proporciones variables (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

En la historia los propóleos fueron utilizados por los egipcios en el proceso de embalsamiento de cadáveres para su preservación. Debido a las bondades terapéuticas que posee, Aristóteles lo indicó para las afecciones de la piel y heridas supuradas, además el famoso médico griego Galeno menciona las propiedades de los propóleos en sus tratados y recomienda su uso. En la segunda guerra mundial se utilizó por sus propiedades en la desinfección y cicatrización de heridas, desde entonces ha sido utilizado hasta la actualidad (Ramírez *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2014; Asis, 1989).

Suran *et al.* (2015), manifiesta que los propóleos poseen actividad antimicrobiana y antiinflamatoria. Una de sus funciones es inhibir la división celular evitando el aumento de agentes bacterianos (Fiordalisi *et al.*, 2016), esto se debe a los flavonoides y a los ácidos fenólicos principalmente que existen en su composición (Bradbear, 2005). También inhibe la actividad de la ciclooxigenasa, al estimular a los macrófagos e inhibir la agregación plaquetaria (Carrillo *et al.*, 2011).

Wang *et al.* (2016), ratifica que existen varios estudios que plantean las cualidades de los propóleos en diversas concentraciones, en su actividad antimicrobiana y antiinflamatoria. Por lo anteriormente mencionado, es importante determinar una concentración ideal (Carrillo *et al.*, 2011).

Mediante investigaciones realizadas se determinó que el propóleo contiene elementos muy interesantes, principalmente flavonoides, fenoles, algunos elementos traza y algunos ácidos potentes; los cuales otorgan propiedades, que permite brindar considerables valores terapéuticos en el organismo animal y humano. Las fuentes de obtención de los propóleos por las abejas ha sido un tema muy discutido. Muchos consideran que estos insectos cosechan la resina de los árboles ubicados en el entorno de la colmena y también a grandes distancias (González y Bernal, 1997). Los principales países productores de propóleo en el mundo son: China, Brasil, Argentina, Cuba, Chile, Uruguay y Canadá (Martínez, 2010).

Inicialmente, algunos autores pensaban que el propóleo podría ser un subproducto generado por las abejas durante el proceso de producción del polen. Después de un riguroso estudio de la estructura externa de las abejas llevado a cabo por científicos aplicados a la investigación apícola, afirmando que, en una primera etapa, es de origen vegetal. Se encuentra recubriendo los brotes de las plantas, fundamentalmente, en las yemas de los álamos, pinos, sauces, castaños, abedules, fresnos, olmos (Crea, 1993).

Actualmente, se ha demostrado que el propóleo es el resultado de un aporte mixto entre las sustancias resinosas provenientes de las exudaciones de los árboles y los bálsamos procedentes del polen (Lacalle, 2008).

Cuando el tiempo es frío y la resina se encuentra más dura, el insecto ablanda la sustancia con una secreción de las glándulas mandibulares. A continuación, tritura la porción extraída y ayudándose de las patas del segundo par la transfiere a la cesta de pata posterior del mismo lado, esta operación se realiza sucesivamente hasta llenar la cesta de la otra pata, una vez finalizado, la abeja recolectora se dirige hacia la colmena y pasa su carga hacia las receptoras y ubicarlas en el lugar indicado, produciendo entre 150 y 300 gramos de propóleo

por año, cifra que puede variar según las condiciones climáticas, temperatura, cantidad de colmenas (Crea, 1993).

### 2.7.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO (*Propolis de Apis mellífera*)

Ramírez *et al.* (2014) destacan que la composición química de los propóleos depende de la ubicación geográfica de recolección, el tipo de vegetación y el disolvente utilizado para la extracción. Generalmente, la composición química más usual muestra compuestos polifenólicos, flavonoides, ácidos fenólicos, ésteres, terpenos, minerales como: Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn y Fe y algunas vitaminas entre las cuales están: vitamina B1, B2, B6, C, vitamina E además de una serie de ácidos grasos.

Su variada composición química, depende de la temporada climática, del lugar donde la abeja recolecta las resinas o exudados de los árboles y la flora local predominante, condiciona los diferentes tipos de propóleos de acuerdo a su ubicación geográfica (Huang *et al.*, 2014; Bankova *et al.*, 2016; Salas *et al.*, 2016; Elnakady *et al.*, 2017).

**Cuadro 2.2.** Composición del Propóleo (*Propolis de Apis mellífera*)

Componente	%	Contenido
<b>Resinas y bálsamos</b>	50-55	Flavonoides, ácidos fenólicos y esterés.
<b>Cera de abeja</b>	30-40	Ácidos grasos de cadena larga.
<b>Aceites esenciales</b>	5-10	Aceites volátiles.
<b>Polen</b>	5	Proteínas.
<b>Materiales y diversos compuestos orgánicos</b>	5	14 trazas de minerales, Fe y Zn (más comunes), cetonas, lactonas, quinonas, esteroides, ácidos benzoico, vitaminas, azúcares.

**Fuente:** Krell, 1996.

La composición del propóleo es bastante compleja y difícil de caracterizar o comparar mediante una norma generalizada debido a su alta variación (por cambios en vegetación, clima, manejo, ubicación). Por esto existen rangos generales que sirven para conocer la composición y las fuentes de origen de cada componente, así como sus usos (Bedascarrasbure *et al.*, 2000b).

La fracción resinosa donde se encuentran compuestos biológicamente activos, por lo tanto, un mayor fragmento de ésta puede indicar mejor calidad por las

posibles propiedades y usos potenciales en la industria (Bedascarrasbure *et al.*, 2000a). El propóleo en definitiva debe estar libre de contaminantes tóxicos (metales pesados); contener bajos niveles de cera, impurezas mecánicas y cenizas. Asimismo, es recomendado determinar la fuente vegetal circundante de la colmena para conocer los componentes activos presentes en sus resinas y de igual forma, estimar la proporción de éstos compuestos activos (Bankova, 2000).

Hasta ahora se han identificados más de 300 compuestos químicos como constituyentes de los propóleos de diferentes zonas geográficas del mundo. De los componentes estudiados se destacan los flavonoides, que se clasifican según su estructura química y han sido aislados desde propóleos de China, Polonia, México, Kenia, Nepal, Canadá, Cuba, Grecia y Japón. Otros componentes como: lignanos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, fenilpropanoides prenilados, ésteres, estilbenos y cumarinas se han identificado en distintas zonas geográficas (Huang *et al.*, 2014; Bankova *et al.*, 2016; Salas *et al.*, 2016; Elnakady *et al.*, 2017).

## **2.7.2. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DEL PROPÓLEO (*Propolis de Apis mellífera*)**

### **2.7.2.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

La capacidad antioxidante que presenta el propóleo se debe principalmente a la presencia de flavonoides y sus derivados. Los métodos para determinar dicha capacidad son muy variados (Ocampo, 2014; Venegas *et al.*, 2016).

### **2.7.2.2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA**

La acción antibacteriana que posee el propóleo se les atribuye a sus constituyentes, principalmente a flavonoides, ácidos grasos, ésteres, hidroxiácidos, sesquiterpenos y demás componentes, que juntos establecen un sinergismo significativo para ejercer la actividad biológica. En varias literaturas se menciona que diferentes ensayos satisfactorios realizados con propóleos frente a cepas bacterianas de importancia clínica, entre estas están: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *S. Enterococcus sp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Helicobacter pylori* (Sanpa *et al.*, 2015; Villanueva *et al.*, 2015; Raghukumar *et al.*, 2010; Melliou, 2007).

### **2.7.2.3. ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA**

El propóleo es rico en flavonoides y se ha demostrado ser más activo contra el parásito de Leishmania. En algunos ensayos realizados se demuestra actividad antiparasitaria frente a promastigotes de Leishmania amazonensis, evaluándose en diferentes modelos biológicos experimentales. Se han obtenido resultados muy favorables en cuanto a la dosis respuesta lo cual demuestra que el propóleo tiene la capacidad de inactivar parásitos intracelulares (Dantas *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2016).

### **2.7.2.4. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA**

En algunos países como Uruguay, Colombia, Cuba, Argentina se utiliza el propóleo como crema de ordeño que es un preventivo y curativo de grietas, heridas e inflamación de pezones. También el ungüento que se utiliza en la cicatrización de heridas superficiales, necrobacilosis, quemaduras, procesos infecciosos e inflamatorios, dermatitis seborreica, escaras, además de las soluciones adhesivas utilizada en enfermedades pódales, llagas de prepucio, miasis, mucosas infectadas, heridas de piel y mucosas, castraciones, evita la contaminación post-quirúrgica de las suturas (Anzola, 2005).

Este producto ha sido empleado en la terapéutica veterinaria en diversos campos y especies animales, entre las que se destacan: la aplicación de soluciones para la prevención y control de enfermedades pódales en ovinos, infusiones mamarias para el tratamiento de mastitis, polvo antidiarreico, bolos y soluciones inyectables, en enfermedades del sistema genito-urinario como la endometritis; colirios y ungüentos para la queratitis y queratoconjuntivitis infecciosas, tinturas y pomadas en herida recientes y otras que no cicatrizan por primera intención; se usa en la terapia de la onfalitis del ternero; soluciones inyectables como estimulantes del sistema inmunológico, entre otros (Fierro, 2000).

Lozina (2003), hace énfasis en la información ya que los extractos de propóleos presentan actividad antimicrobiana sobre microorganismos aislados de animales enfermos con otitis. Dentro del grupo de bacterias se encuentran: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Malassezia pachydermatis*, sobre las cuales se estudió si el propóleo generaba inhibición a su desarrollo. Las muestras fueron obtenidas del conducto auditivo externo de

caninos con otitis. Al finalizar del estudio se llegó a la conclusión que el extracto de propóleos posee propiedades antibióticas y antiinflamatorias. Ambas son importantes para aliviar los síntomas de la otitis, e incluso lograr la curación del paciente, según estudios realizados por diferentes médicos veterinarios.

### 2.7.3. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

**Cuadro 2.3.** Descripción del tratamiento a base de Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*)

DOSIS	VÍA DE ADMINISTRACIÓN	PRESENTACIÓN POR ENVASE
<b>Bovinos:</b> 1 jeringa/cuarto afectado cada 24 horas durante 3 días o hasta la recuperación completa.	Intramamaria	Envase plástico (jeringas de 5 ml).

### 2.8. SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*)

La Sangre de Drago se la conoce también como Sangre de Grado, con este nombre está distribuida en toda América tropical y sub-tropical, desde la amazonía peruana hasta las Guyanas. En América del Sur se le encuentra en Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú (Meza, 1999; Pinedo *et al.*, 1997).

Grefa (2016) reporta que la Sangre de Drago es un látex de color vino y viscoso; este se obtiene de la corteza del árbol por medio de la realización de diferentes cortes, su tronco es de color blanquecino y puede llegar a medir entre 10 a 20m de altura; se originó en América y se lo puede localizar en la Amazonía entre los 700 y 1600msnm. El látex es utilizado por los habitantes de la Amazonía desde muchos años atrás con fines curativos para numerosas enfermedades tanto internas como externas; para ser ingerida por vía oral esta debe ser mezclada con agua.

Desde la antigüedad la savia se ha utilizado sobre heridas para detener la hemorragia, acelerar el proceso de cicatrización evitando dejar huellas visibles o queoideas, sellar y proteger las lesiones de la infección, secándose rápidamente y generando una barrera de tono rojizo, formando una segunda piel (Gupta *et al.*, 2008). Este componente es usado principalmente para el tratamiento de una serie de patologías (Cerutti, 2000; Chen, 1994). Su componente activo principal es un elemento llamado Taspina, que es un alcaloide que se encarga de la

formación del colágeno y por ende la aceleración de la cicatrización, además de ser un excelente antibacteriano y antiséptico (Lobardo, 1994; Porras *et al.*, 1993).

El género *Croton* ha sido estudiado desde el punto de vista fitoquímico, en cuanto a la presencia de compuestos carcinogénicos en algunas de sus estructuras (Sandoval *et al.*, 2006) y también han sido investigadas sus usos terapéuticos como el de la regeneración de tejidos, su actividad antioxidante, curación de úlceras, propiedades antidiarréicas, anticancerígenas, antiinflamatorias, antirreumáticas y propiedades antisépticas a nivel vaginal (Ayala *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2008).

En cuanto a los extractos de *Croton lechleri*, se ha demostrado que la polaridad es un aspecto importante que permite comprender las diferencias entre la actividad y eficacia que los extractos de una misma planta puedan presentar frente a las bacterias (Cowan, 1999). En este sentido, el extracto etanólico de *Croton lechleri* se caracteriza por ser apolar, caso contrario del extracto obtenido con éter de petróleo, lo que se correlaciona con la diferencia en los resultados del potencial antibacteriano obtenidos para cada uno (Ramírez *et al.*, 2013).

Ramírez (2009) y Murillo (2008) reportan que en una investigación que realizaron relacionaron la resistencia antimicrobiana en aislamientos de *S. aureus* asociados a mastitis bovina en un hato lechero en el año 2008, mencionaron que cuando las bacterias son expuestas a los agentes antimicrobianos, el grupo con carga positiva (polar) se asocia con los grupos fosfato de los fosfolípidos de la membrana, mientras que la porción no polar penetra en el interior de la membrana la cual se caracteriza por ser hidrófobo, esto induce la pérdida de la semipermeabilidad de la membrana, permitiendo así que más componentes penetren en la célula y desnaturalicen las proteínas de la misma.

### **2.8.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA**

La composición química del *Croton lechleri* está constituida por: esteroides, cumarinas, alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, antocianinas, y antracenos; compuestos reductores como: lactosa, galactosa y ramnosa, triterpenoides. Además de compuestos fenólicos (ácido gálico), vitamina A, E y

C; e igualmente presenta ácidos orgánicos débiles como almidón, celulosa, grasas, lignanos, mucílagos, proteínas y catequinas (Ramírez, 2003).

## 2.8.2. PROPIEDADES DE LA SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*)

**Cuadro 2.4.** Propiedades de la Sangre de Drago (*Croton lechleri*)

PROPIEDADES	BENEFICIOS
Cicatrizante	Permite la formación tanto del colágeno como de la costra, debido a que presenta taninos y alcaloides.
Acción antiviral y antibacteriana	Inhibe diferentes virus que se presentan en el organismo gracias a la presencia de proantocianidinas.
Actividad antioxidante	Presenta radicales libres que benefician los procesos inflamatorios.
Actividad de infecciones gástricas	Combate la principal bacteria ( <i>Helicobacter pylori</i> ) que afecta las mucosas gastrointestinales
Actividad analgésica y antiinflamatoria	Actúa como des-inflamatorio y a su vez evita la activación de las fibras nerviosas que transmiten dolor al cerebro.

**Fuente:** Allaica (2015).

## 2.8.3. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LA SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*)

### 2.8.3.1. ACTIVIDADES ANTIVIRAL Y ANTIBACTERIANA

Se ha podido comprobar la actividad antimicrobiana de la Sangre de Drago frente a Gram positivos, como: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228; y a gram negativos: *Pseudomona* y *Klebsiela*, fueron documentados (Gálvez *et al.*, 2006). Además, actúa inhibiendo el crecimiento del *Helicobacter Pylori* cuando se presenta en concentraciones elevadas (Tamariz *et al.*, 2003).

Asimismo su actividad antibacteriana, en varios experimentos *in vitro* muestran su acción inhibiendo diferentes virus, incluyendo el virus *herpes* (HSV tipos 1 y 2), el virus de la *hepatitis* (A y B), el virus de la *influenza* A (FLU-A) y el virus de la *parainfluenza* (Azevedo *et al.*, 2015).

### 2.8.3.2. ACTIVIDAD CICATRIZANTE

Lazo y Pareja (2007) destacan que el efecto cicatrizante del *Croton lechleri*, (especialmente de la Taspina) ha sido demostrado en estudios “*in vivo*” con ratas que presentaban úlceras gástricas agudas inducidas por Indometacina, prediciendo que el efecto se debe a la influencia sobre la migración fibroblástica, actividad atribuida al alcaloide Taspina.

### 2.8.3.3. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

El efecto antiinflamatorio de la Sangre de Drago está relacionado con la Taspina (alcaloide aislado de las plantas). Sin embargo, no es el único responsable de la acción antiinflamatoria. El látex total, administrado por vía intraperitoneal, presenta una potente actividad antiinflamatoria significativa en la región sub plantar de la rata (Risco *et al.*, 2005).

## 2.8.4. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

**Cuadro 2.5.** Descripción del tratamiento a base de Sangre de Drago (*Croton lechleri*)

DOSIS	VÍA DE ADMINISTRACIÓN	PRESENTACIÓN POR ENVASE
<b>Bovinos:</b> 1 jeringa/cuarto afectado cada 24 horas durante 3 días o hasta la recuperación completa.	Intramamaria	Envase plástico (jeringas de 5 ml).

## 2.9. TRATAMIENTO TESTIGO A BASE DE CEFALEXINA

Según lo detallado por Agrovvetmarket (2014) a continuación, se describen las características del producto:

Infusión antibiótica para vacas en lactación, para el tratamiento de las mastitis en bovinos, ovinos y caprinos en producción láctea, causadas por gérmenes sensibles a la cefalexina y/o gentamicina. Posee potente acción antiinflamatoria y está adicionado con vitamina A como regenerador epitelial de la glándula mamaria.

## 2.9.1. DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

**Cuadro 2.6.** Descripción del tratamiento a base de Cefalexina.

COMPOSICIÓN		DOSIS	VÍA DE ADMINISTRACIÓN	PRESENTACIÓN POR ENVASE
Cefalexina monohidrato (Base)	20 mg	<b>Bovinos:</b> 1 jeringa/cuarto afectado cada 12 a 24 horas durante 2 días o hasta la recuperación completa.	Intramamaria. Según el caso, hacer una segunda aplicación a las 24 horas a criterio del médico veterinario.	Envase plástico x 48 jeringas de 10 ml.
Gentamicina sulfato (Base)	10 mg			
Dexametasona 21 fosfato	0,075 mg			
Vitamina A	1 000 UI			
Excipientes c.s.p.	1ml			

**Fuente:** Agrovvetmarket (2014).

## CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

Los preparados de uso intramamario de origen natural fueron obtenidos mediante convenio de la universidad ESPAM MFL, con la empresa de productos farmacéuticos veterinarios FARBIOPHARMA®, cuyos ingredientes fueron procesados en el laboratorio de la empresa.

### 3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y CONDICIONES CLIMÁTICAS

El presente trabajo se realizó en la Hacienda Santa Rosa, Sitio San Lorenzo del Sr. Antonio Álava, en el cantón Chone, a 0° 49' 23" Latitud Sur; 80° 11' 01" Longitud Oeste y una altitud de 15 msnm.

**Cuadro 3.1.** Datos de condiciones climáticas

Variables	Valor
Precipitación media anual (mm)	199,9
Temperatura media anual (°C)	26,00
Humedad relativa anual (%)	83,3
Heliofanía anual (horas/sol)	966,8
Evaporación anual (mm)	1182,7

**Fuente:** Estación Meteorológica ESPAM MFL (2020).

### 3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

El trabajo tuvo duración de tres meses, donde se realizó el trabajo de campo (tanto de campo como de laboratorio). La obtención de los resultados del NCS estuvieron listos en diez días, más la tabulación de datos y la redacción del informe que fue hecha en un mes.

### 3.3. FACTORES DE ESTUDIO

Preparados orgánicos: Sangre de Drago (*Croton lechleri*) al 5% y Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*) al 5% y adicionalmente el tratamiento testigo Cefalexina con los principios químicos: Gentamicina sulfato (Base), Dexametasona 21 fosfato, Vitamina A, Excipientes c.s.p.

### 3.4. TRATAMIENTOS

**T0**= Producto comercial Cefalexina

**T1**= Preparado orgánico a base de Propóleo (*Propolis Apis mellifera*) al 5%.

**T2**= Preparado orgánico a base de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) al 5%.

### 3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

La organización de la investigación se realizó a través de un diseño completamente al azar con submuestras (DCA), para tres tratamientos con cinco repeticiones (vacas con mastitis clínica y subclínica, entre edades comprendidas de 2 a 3 años) y cada una con cuatro submuestras, para un total de sesenta observaciones, aplicando el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + E_{ij} + \delta_{ijk}$$

$$Y_i = 1,2,3,\dots,k; \quad j=1,2,3,\dots,n_i \quad K=1,2,3,\dots,n_{ij}.$$

$Y_{ijk}$ = Observaciones del i -ésimo tratamiento de la j-esima repeticion en la k-esima submuestra

$\mu$  = Promedio de las observaciones.

$t_i$  = Efecto del i-ésimo tratamiento.

$E_{ij}$  = Efecto del j-ésima unidad experimental sujeta al i-ésimo tratamiento (o error experimental).

$\delta_{ijk}$ = Efecto de la l-ésima observación tomada de la j-ésima unidad experimental sujeta al i-ésimo tratamiento (o error de muestreo).

### 3.6. ESQUEMA DEL ADEVA

**Cuadro 3.2.** ADEVA

F.V	G.L
Tratamientos	2
Error experimental	12
Error de submuestras	45
Total	59

### 3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL

Las unidades experimentales representativas en la investigación fueron vacas con mastitis clínica y subclínica para el total de las unidades experimentales.

**Cuadro 3.3.** Tratamientos y unidades experimentales

Tratamientos	Descripción	Repeticiones	Submuestras	Número de vacas
T 0	Tratamiento testigo con medicamento comercial.	5	20	5
T 1	Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) al 5%.	5	20	5
T 2	Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellifera</i> ) 5%.	5	20	5

### 3.8. VARIABLES DE ESTUDIO

#### 3.8.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

Sangre de Drago (*Croton lechleri*) al 5%

Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*) al 5%

Tratamiento testigo (Cefalexina)

#### 3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES

Número de células somáticas (NCS/ml)

Cantidad de aglutinación de las submuestras de leche (CMT)

% de efectividad de los biopreparados orgánicos y Cefalexina

### 3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variabilidades de las observaciones se estudiaron por medio del Análisis de la Varianza (ADEVA) a través del programa estadístico Infostat (2013), previamente se comprobó la homogeneidad de varianza (Prueba de Bartlett) y normalidad de los errores (Prueba de Shapiro-Wilks).

### 3.10. MANEJO DEL EXPERIMENTO

#### 3.10.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES Y REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT)

Para realizar el siguiente ensayo, previamente se identificó las vacas afectadas mediante la prueba de California Mastitis Test. Luego fueron separados en tres

grupos, los cuales ya estaban establecidos para la aplicación de cada uno el respectivo tratamiento.

### **3.10.2. TOMA DE MUESTRAS ANTES DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS**

Se le tomó a cada animal cuatro muestras de leche (una por cada pezón) antes de aplicar los tratamientos para identificar la cantidad de carga bacteriana a través de un Número de Células Somáticas (nCS).

### **3.10.3. PRESENTACIÓN Y APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS**

La presentación de los tratamientos de origen natural es de infusiones de extractos etanólicos procedentes del Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*) (T1) y emulsificantes a base de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) (T2), los cuales se aplicaron de forma intramamaria, al igual que la Cefalexina (T0).

### **3.10.4. REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT) DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS**

Después de concluido los tratamientos se realizó una nueva prueba de California Mastitis Test, para comprobar menor o nula carga bacteriana en las muestras de leche.

### **3.10.5. VERIFICACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS BIOPREPARADOS ORGÁNICOS SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) AL 5%, PROPÓLEO (*Propolis de Apis mellifera*) AL 5% Y TRATAMIENTO TESTIGO (CEFALEXINA)**

La eficacia de los preparados orgánicos y Cefalexina se evidenció a través del estudio de la variabilidad observada la cual fue analizada estadísticamente, de esa manera se detectaron los promedios entre ellos.

### **3.10.6. VERIFICACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS TRATAMIENTOS MEDIANTE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT)**

Para evaluar los resultados de eficacia de cada uno de los tratamientos, se consideró lo reportado a nivel de literatura (Cuadro 2.1). De esa manera se procedió a la asignación numérica de acuerdo a lo observado categóricamente:

Negativo y trazas (0); ligeramente positivo (1), positivo (2), muy positivo (3).

### **3.10.7. VERIFICACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS TRATAMIENTOS MEDIANTE NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (NCS) EN EL LABORATORIO**

Para verificar la efectividad de los tratamientos se ejecutó otra toma de las 57 muestras de leche (se excluyeron tres muestras debido a la presencia de pezones infuncionales), para verificar la cantidad del NCS/ml post tratamientos. Así mismo estos resultados se muestran en porcentajes en el Cuadro 4.2.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La investigación realizada permitió corroborar la hipótesis planteada la cual se había presentado anteriormente. Seguidamente se muestran los resultados obtenidos en la investigación:

### 4.1. NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (NCS/ml)

En el cuadro 4.1. se presenta la estadística descriptiva del número de células somáticas en los distintos productos utilizados donde se observa en los promedios antes de la aplicación, valores distintos y posteriormente una disminución en cada uno de los productos para el control de la mastitis clínica y subclínica, aquí se destacan los promedios en cada uno de ellos.

**Cuadro 4.1.** Estadística descriptiva del número de células por tratamiento aplicado (antes y después).

Estadísticos	Propóleo (T1)		Sangre de Drago (T2)		Cefalexina (T0)	
	Valor Antes	Valor Después	Valor Antes	Valor Después	Valor Antes	Valor Después
N	20	18	17	16	20	20
Media	609,45	364,17	334,12	324,69	356,35	297,95
Desviación Estándar	936,85	727,54	448,37	461,33	770,10	433,34
Error Estándar de la Media	209,49	171,48	108,75	115,33	172,20	96,897
Valor mínimo	20,000	17,000	65,000	65,000	21,000	14,000
Valor máximo	2884,0	2513,0	1661,0	1661,0	2943,0	1490,0

La variabilidad de los datos para el Número de Células Somáticas (NCS) se estudió a través del análisis de varianza (Anexo 6), el cual resultó sin diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre la aplicación de los preparados naturales y el comercial.

Sin embargo, la literatura refleja que el número de células somáticas (NCS), es usado como un indicador de la salud de la glándula mamaria, tal como lo ha

manifestado Bradley y Green (2005). Además el NCS en el estado de cada vaca debe verse como una aproximación al origen de la infección, siendo el número de células por mililitro de leche, la concentración de leucocitos. Los hatos bien manejados pueden mantener un conteo de <200,000 células/ml para un 90% del hato, mientras que el 5% restante en sus tres lecturas consecutivas tendrán un conteo >200,000 células/ml, éstas serán por consiguiente las vacas que están aportando la infección.

El análisis del efecto de aplicación de los productos en relación a la disminución de células somáticas en animales tratados permitió establecer que el tratamiento de Propóleo, tuvo una reducción poco notable en el NCS. Estos resultados son contrarios a los obtenidos por Paredes (2018) cuando encontró con el empleo de Propóleo, para el tratamiento de mastitis bovina una efectividad del 100%.

Con respecto al comportamiento de la aplicación de Sangre de Drago, se observó reducción de la aglutinación de las muestras al momento de hacer el CMT post tratamiento, lo cual se muestra en el cuadro 4.1. En un trabajo realizado por Arciniega (2019), obtuvo resultados satisfactorios aplicando Sangre de Drago 5%, en el NCS como en el CMT, con un efecto significativo ( $p \leq 0,05$ ) para cada prueba. Mientras que, la comparación de cada uno de los tratamientos redujo significativa tanto para CMT (California Mastitis Test), como para NCS (Número de Células Somáticas), con una desinflamación de la glándula mamaria.

Al analizar la Cefalexina se observa un cambio del promedio de un 16% aproximado de acción con referencia al NCS (Cuadro 4.1). Es importante resaltar que en las muestras analizadas se percibió la aglutinación de la leche. Estos resultados son contrarios a los indicados por Li (2012), quien observó una reducción de las células somáticas con la aplicación del producto, con una recuperación de los cuartos afectados al finalizar el período de tratamiento, en todos los animales, con una tasa de recuperación del 100%.

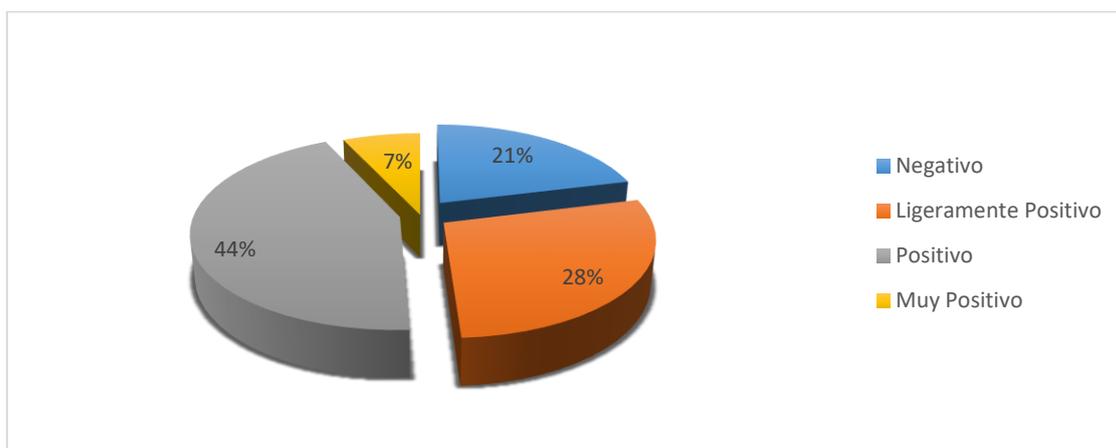
Los resultados del laboratorio privado presentaron valores, que infieren la poca incidencia de mastitis clínica en las muestras analizadas. Sin embargo, a nivel

de campo la aglutinación observada fue alta; esta contradicción puede ser debida a la manipulación de las muestras a nivel de laboratorio.

#### 4.2. CANTIDAD DE AGLUTINACIÓN DE LAS MUESTRAS DE LECHE (CMT)

Los porcentajes obtenidos antes de la aplicación de los tratamientos para el control de la mastitis (Gráfico 4.2.1), destaca que el 44% de las muestras fueron de la categoría “positivo”, esto implica que las vacas no tenían un buen manejo al momento del ordeño. El 28% equivale a “ligeramente positivo”, se evidenció grumos en las muestras tomadas directamente del pezón. El 21% que significativamente es “negativo a trazas” y el 7% restante equivale a “muy positivo”, estos aspectos cualitativos se consideraron de acuerdo a la metodología indicada según Bedolla *et al.* (2007). Otro aspecto de interés de resaltar fue la aglutinación en la prueba de CMT, que presentaron las muestras tomadas en su totalidad.

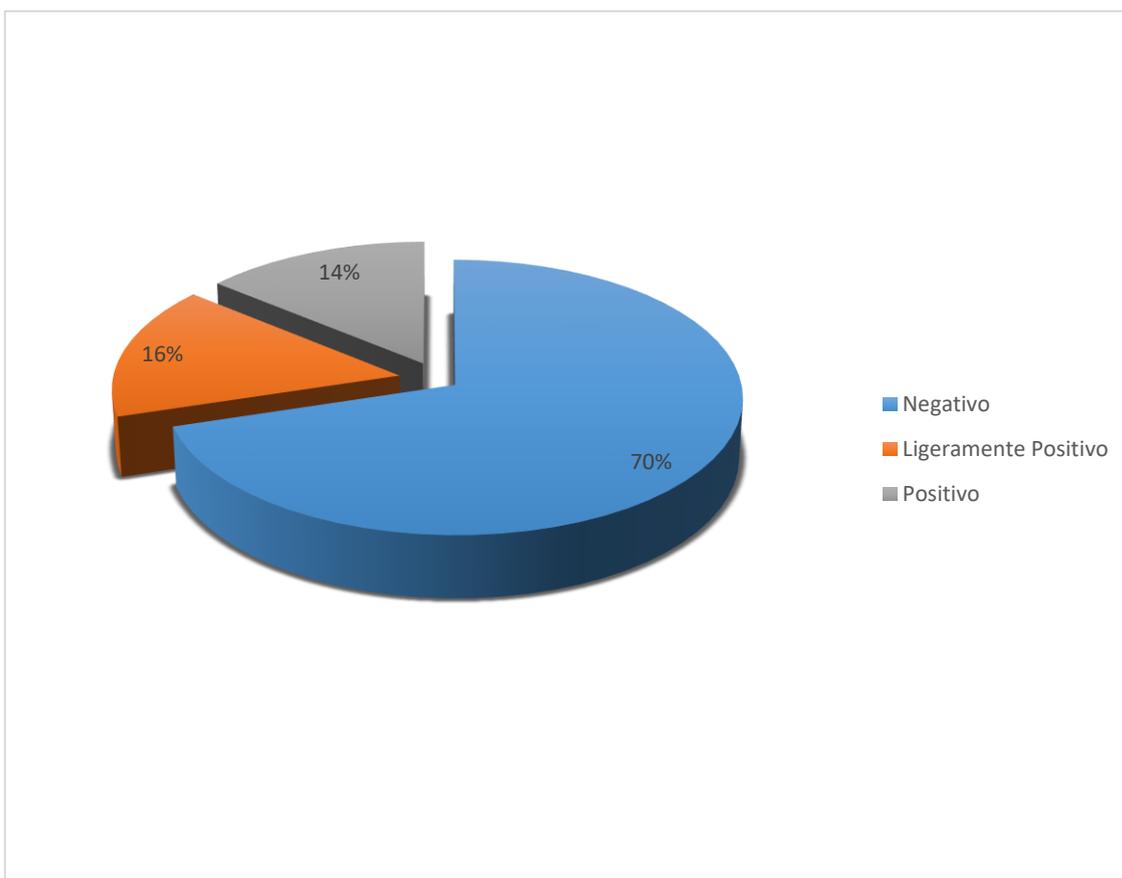
**Gráfico 4.2.1. Porcentajes de las distintas categorías de aglutinación antes de la aplicación de los tratamientos para el control de la mastitis.**



A pesar de los resultados obtenidos anteriores con la técnica CMT, es relevante indicar lo mencionado por Patiño (2008), quien hace referencia que dicha prueba a nivel de campo no es uniforme. Sin embargo, cuando es una gran cantidad de animales podrían ser diagnosticados mediante pruebas de laboratorio y de campo como el California Mastitis Test (CMT) según AL-Edany *et al.* (2012). Siendo un método ampliamente utilizado, dada su utilidad práctica, bajo costo y rápido resultado, tal como lo han indicado Sanford *et al.* (2006).

El gráfico 4.2.2. presenta los porcentajes obtenidos después de la aplicación de los tratamientos para el control de la mastitis, se destaca que el 14,0% de las muestras fueron “positivo”, el 15,8% equivale a “ligeramente positivo”, el 70,2% pertenece al score 1 que significativamente es “de negativo a trazas”. A pesar que no hay diferencias estadísticas, se pudo comprobar la efectividad de los tratamientos a nivel de campo a través de la observación de los resultados del CMT.

**Gráfico 4.2.2. Porcentajes de las distintas categorías de aglutinación después de la aplicación de los tratamientos para el control de la mastitis.**



#### **4.3. EFECTIVIDAD DE LOS BIOPREPARADOS ORGÁNICOS SANGRE DE DRAGO (*Croton lechleri*) al 5%, PROPÓLEO (*Propolis de Apis mellifera*) al 5% Y TRATAMIENTO TESTIGO**

Los promedios y error estándar (antes y después) para la efectividad de los biopreparados orgánicos y Cefalexina (Cuadro 4.2), permite observar una disminución en los promedios del número de células somáticas después de la aplicación. Es importante destacar que la efectividad relativa se observó a nivel del Propóleo (16%), siendo superior a la Sangre de Drago y Cefalexina.

**Cuadro 4.2. Promedios y error estándar (antes y después) para la efectividad de los biopreparados orgánicos y Cefalexina bajo estudio.**

Productos	ANTES		DESPUÉS		Porcentaje de efectividad (%)
	Promedio	Error estándar de la media	Promedio	Error estándar de la media	
<b>Propóleo</b>	609,45	209,49	364,17	171,48	16%
<b>Sangre de Drago</b>	334,12	108,75	324,69	115,33	10%
<b>Cefalexina</b>	356,35	172,20	297,95	96,897	11%

Estos resultados a pesar del efecto no significativo, permitió observar a nivel de campo una mayor efectividad para el Propóleo (*Propolis de Apis mellifera*) al 5%, posiblemente asociado a la consistencia del preparado, siendo menos denso y por lo tanto mayor absorción. Mientras que la Sangre de Drago (*Croton lechleri*) al 5% tuvo se observó una eficacia del 10%. Por otra parte, la Cefalexina, tuvo una efectividad superior al anterior (11%). A pesar de los resultados, se verifico que los productos utilizados presentaron efectividad en el tratamiento de la mastitis.

Sin embargo, Arciniega (2019), cuando utilizo concentraciones de Sangre de Drago (*Croton lechleri*) al 5%, se produjo una disminución del NCS, ocasionando una reducción inflamatoria en la glándula mamaria.

Además que a pesar de la efectividad comprobada de la Cefalexina, la presencia de sustancias químicas producen resistencia bacteriana. Aunque la resistencia a los antibióticos afecta la salud pública, su desarrollo es un fenómeno ecológico natural y es el producto de miles de millones de años de evolución (Blair *et al.*, 2014). Es importante tener en cuenta que los antibióticos ejercen presión selectiva sobre las poblaciones bacterianas, es decir, que las bacterias están influenciadas por un antibiótico en la selección natural para promover que el grupo de individuos resistentes sobrevivan y se multipliquen y las sensibles sean eliminadas (APUA, 2017).

De esta manera, los genes determinantes de resistencia se transfieren verticalmente a las células hijas, creando en consecuencia una población resistente que puede extenderse y acumularse con el tiempo, ya sea para uno o

múltiples antibióticos, favoreciendo la selección de resistencia en especies ambientales como la generación de genes de resistencia a antibióticos o resistomas. Los resistomas no sólo incluyen a los genes que confieren resistencia a patógenos en la clínica, sino también a las especies no patógenas que dominan el medio ambiente (Perry, 2014).

#### **4.4. ESTIMAR LA FACTIBILIDAD ECONÓMICA DE LOS TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN EL CONTROL DE LA MASTITIS A TRAVÉS DEL COSTO DE CADA UNO DE ELLOS**

Con respecto al precio de cada uno de los tratamientos administrados a las vacas, se muestran los costos ocasionados por los distintos productos (Cuadro 4.3) a continuación:

**Cuadro 4.3.** Factibilidad económica de los respectivos productos

<b>Tratamiento</b>	<b>Precio/unidad*</b>
Tratamiento testigo con Cefalexina	\$2.75
Preparado orgánico: Sangre de Drago ( <i>Croton lechleri</i> ) al 5%	\$2.30
Preparado orgánico: Propóleo ( <i>Propolis de Apis mellífera</i> ) 5%	\$2.30

##### **\* Presentación jeringa**

Al hacer referencia de los precios en los productos utilizados para el control de la mastitis clínica y subclínica, los cálculos hacen un balance a favor de los preparados biológicos con respecto a Cefalexina, de \$0,45 centavos. Ante estos resultados, al realizar la estimación simulada de tratar 100 vacas en los cuatro pezones (jeringa/pezón), el valor de ahorro, utilizando los preparados biológicos con respecto a la Cefalexina sería de \$180, en una sola aplicación.

Actualmente se reconoce la importancia de los compuestos de origen natural porque poseen innumerables características, son de bajo costo y sus principios activos están biológicamente equilibrados evitando que se acumulen en el organismo, no presentando efectos secundarios o colaterales, además el uso indiscriminado y prolongado de antimicrobianos artificiales se ha elevado el número de patógenos mutantes resistentes; tomando fuerza el uso de

antimicrobianos naturales como una alternativa eficaz y económica en el tratamiento de infecciones bacterianas (Cabezas *et al.*, 2011).

Breser y Porporatto (2017), investigan la mastitis en aras de buscar mejorar la salud de los bovinos, reducir costos en antibióticos y aumentar la producción, a partir del desarrollo de combinaciones que facilitan la erradicación de las infecciones de manera completa. Con estos sistemas combinados se pretende disminuir las concentraciones y el tiempo de aplicación, teniendo como objetivo incrementar la producción de leche y reducir los costos asociados a los tratamientos antibióticos.

Estas referencias anteriores mencionadas, dejan ver la factibilidad de uso de preparados orgánicos, principalmente por sus bajos precios, aunado al efecto colateral de mejorar el ambiente, además de la inocuidad del alimento, en esta oportunidad la leche para el consumo humano.

# **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## **5.1. CONCLUSIONES**

Al determinar el NCS y aglutinación, se evidencia que no hay diferencias significativas entre los tratamientos utilizados para el control de mastitis clínica y subclínica.

Se pudo percibir que los tratamientos tuvieron una efectividad satisfactoria con tres aplicaciones a intervalo de 24 horas, favoreciendo en la recuperación de animales con mastitis causada por agentes sensibles a los componentes de la fórmula. En comparación a los preparados de origen natural, la eficacia fue mayor de lo esperado ya que la concentración de los productos era baja (5%), pero surgió efecto en relación con otros trabajos de investigación realizados anteriormente.

Entre los tratamientos utilizados hay una diferencia de \$0,45 centavos entre los biopreparados y la Cefalexina haciendo factible a los de origen natural por su economía y efectividad.

## **5.2. RECOMENDACIONES**

Realizar investigaciones sobre la elaboración y el uso de biopreparados para prevenir residuos químicos en los productos de consumo humano.

Prever el uso y manejo adecuado de todos los productos veterinarios en general, para evitar la resistencia de algunos antibióticos (de forma cruzada) a las personas debido al consumo de subproductos contaminados.

Considerar para futuras investigaciones factores de estudio tales como: manejo del ternero y días de lactancia, con el empleo de distintas dosis de biopreparados.

## BIBLIOGRAFÍA

- AECID. 2012. Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo. Manual de plantas medicinales para guinea ecuatorial. Obtenido de [https://www.academia.edu/6947967/MANUAL\\_DE\\_PLANTAS\\_MEDICINALES\\_PARA\\_GUINEA\\_ECUATORIAL](https://www.academia.edu/6947967/MANUAL_DE_PLANTAS_MEDICINALES_PARA_GUINEA_ECUATORIAL).
- AL-Edany, A., Khudor, M., AL-Mousawi, K. 2012. Comparison of three indirect tests for the diagnosis of bovine subclinical mastitis caused by coagulase negative *Staphylococci* with their susceptibility to seven antibiotics. *Bas J Vet Res* 11: 75-83.
- Agrocalidad. 2010. Acuerdo Ministerial N 136. Quito. Ministerio de agricultura, ganadería, acuicultura y pesca.
- Agrovetmarket. 2014. Cefa Milk® Forte. Obtenido de <https://www.agrovetmarket.com/productos-veterinarios/cefa-milk-forte-cefalexina-gentamicina-dexametasona-vitamina-a-antibiotico>
- Alejandratos, N. 2010. Agricultura mundial hacia el año 2010. Madrid: Mundi-Prensa.
- Allaica, P. 2015. Comparación del efecto cicatrizante de tinturas elaboradas a base de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*mus musculus*). Riobamba, Tunguragua, Ecuador.
- Andresen, H. 2001. Mastitis: Prevención y Control. *Rev. Inv Vet. Perú*. Vol: 12(2), 55.
- Anzola, T. 2005. Nuevos Avances Sobre Propóleo. Obtenido de [http://201.234.78.173:8081/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000346810](http://201.234.78.173:8081/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000346810).
- APUA. 2017. General Brackground: About Antibiotic Resistance - Alliance for the prudent use of antibiotics (APUA).
- Arancibia, R. 2011. Primer manual para control de mastitis. *DLECHE*, 4-22.
- Arciniega, J. 2019. Estudio epidemiológico de la mastitis subclínica y tratamiento con sangre de drago de la misma, dentro de las ganaderías con manejo semintensivo en la Hoya de Loja.
- Asis, M. 1989. El oro púrpura de las abejas. Centro de Información y Documentación Agropecuario (CIDA): Habana, Cuba.
- Ayala, S., Rojas, J., Diaz, D., Juárez, J., y Delgado, C. 2009. Evaluación de la toxicidad vaginal de *Croton lechleri* en conejas. Facultad de Medicina de la UNMSM, 5º Concurso de Proyectos de Investigación.
- Azevedo, A., Pacheco, S., García, C. 2015. Efeito leishmanicida in vitro do látex de *Croton lechleri* (*Euphorbiaceae*). *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*. 36(3): p. 413-418.
- Bankova, V. 2000. The journal of the American apitherapy society: determining quality in propolis samples. Vol. 7, No. 2. 3 p.

- Bankova, V., Bertelli, D., Borba, R., Conti, B., Barbosa, I., Danert, C., Nogueira, M., Falcão, S., Isla, M., Papotti, G., Popova, M., Basso, K., Salas, A., Frankland, A., Vilczak, N., Sforcin, J., Simone-Finstrom, S., Spivak, M., Trusheva, B., Vilas-Boas, M., Wilson, M., Zampini, C. 2016. Standard methods for *Apis mellifera* Propolis research. Obtenido de: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00218839.2016.1222661?needAccess=true>.
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Alvarez, A., Maidana J. 2000a. Caracterización físico-química de propóleo argentinos y sus extractos. Primer Congreso Argentino de Apicultura. Red Apícola Latinoamericana. Argentina. PICT N° 08-03862.
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Segura, C., Segura, C., Pérez, O., Alvarez, A., van der Horst, A., Tabera, A. 2000b. Caracterización de propóleo argentinos. II- Valle Calchaquí. Anales del Congreso Internacional de Propóleo. Argentina. 103 p.
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Fierro, W., Alvarez, A. 2006. El Propoleos en: Ed. Magna Propóleos: Caracterización y normalización de propóleos argentinos, San Miguel de Tucumán: Magna (21-33). Argentina. ISBN: 987-9390-70-9.
- Bedolla, C. 2004. Métodos de detección de la mastitis bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Mimeo. 8pp.
- Bedolla, C. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). Redvet, 3(9), 1–17. Obtenido de Journal of Agriculture and Aniaml Science. Enero-Junio de 2017. Vol. 6, No. 1.
- Bedolla, C., Castañeda, V., Wolter, W. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). Redvet. Volumen VIII: Número 9. Disponible: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>
- Bedolla, C. 2017. Etiología de la mastitis bovina. Entorno Ganadero 80, BM Editores. Profesor e Investigador. Titular de Tiempo Completo, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. Responsable del Cuerpo Académico CA-UMSNH-234.
- Blair, J., Webber, M., Baylay, A., Ogbolu, D., Piddock, L. 2014. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology, 13(1), 42–51. <http://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Blowey, R., Edmonson, P. 1995. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Acribia. Zaragoza. 208 pp.
- Bolaños, F. 2012. Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. REDVET., 13(11). Obtenido de Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche - Bovine mastitis and its impact on milk quality. REDVET. 2017 Volumen 18 N° 11. ISSN 1695-7504.

- Bonetto, C. 2014. Mastitis bovina causada por *Staphylococcus* coagulasa negativos. Trabajo de tesis realizado como requisito para optar el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de la Plata, Argentina. 229 pp.
- Bonifaz, N., Conlago, F. 2016. Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador. La Granja- Revista de ciencias de la vida. DOI:10.17163/lgr.n24.2016.04.
- Bradbear, N. 2005. La Apicultura y los Medios de Vida Sostenible. Folleto de la FAO sobre diversificación, 1. FAO Roma.
- Bradley, A. y Green, M. 2005. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. In practice. 27: 310-315.
- Breser, L., Porporatto, C. 2017. Utilizan compuestos naturales para combatir infecciones en vacas. Universidad Nacional de Villa María - Instituto de Ciencias Básicas. Periódico: Argentina investiga. Obtenido de: [http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?titulo=utilizan\\_compuestos\\_naturales\\_para\\_combatir\\_infecciones\\_en\\_vacas&id=2917](http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?titulo=utilizan_compuestos_naturales_para_combatir_infecciones_en_vacas&id=2917).
- Cabezas, F., Benítez, N., Samara, N. 2011. Actividad antibacteriana y composición cualitativa de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del departamento de Cauca. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial. 9(1): 8-16.
- Calderón, A., Rodríguez, V. 2008. Prevalencia de Mastitis Bovina y su Etiología Infecciosa en Sistemas Especializados en Producción de Leche en el Altiplano Cundiboyacense, Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 582-588.
- Callejo, A. 2014. Breve introducción a la anatomía de la ubre y a la fisiología del ordeño. Universidad Politécnica de Madrid. Obtenido de Tesis: Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino lechero de la zona occidental de la provincia del Azuay. Autoras: Samaniego, D., Suárez, M. 2017. Universidad de Cuenca. Cuenca-Ecuador.
- Carrillo, M., Castillo, L., Rosalba, M. 2011. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). Scielo. pp.21-28. vol.22, n.5. ISSN 0718-0764. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642011000500004>.
- Carrión, G. 2001. Principios básicos para el control de la mastitis y el mejoramiento de la calidad de leche. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional- Michoacán. Obtenido de Departamento de Recursos Naturales Programa de Apoyo a la Ganadería Regional. pp 28-30.
- Cerutti, T. 2000. Plantas Medicinales Cultivo, importancia y formas de uso, EsSalud - IMET Iquitos, pp. 72-73.
- Chaves, V., Vallejo, T., Astaíza, M., Benavides, J., Chaves, C. 2017. Hallazgos histopatológicos en la glándula mamaria de bovinos diagnosticados con

- mastitis clínica en la planta de beneficio del municipio de Ipiales, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria-La Salle*. 2017 Enero-junio.,(33):p. 45. Obtenido de Tesis: Evaluación de la Lidocaína Clorhidrato como tratamiento alternativo de la mastitis subclínica bovina en animales de mediana producción láctea. Autora: Uchuari, Ibeth. 2018. Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador.
- Chen, Z. 1994. Studies on the anti-tumour, anti-bacterial and wound healing properties of dragon's blood, *Planta Med*.
- Cowan, M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4):564.
- Crea, P. 1993. Propóleo y demás productos de la colmena. Ediciones Continente. Argentina.
- Dantas, R., Machado, B., Barreto, G., Costa, S., Andrade, L., Amaral, R. 2017. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *Technology Estonia*. 345-352. Obtenido de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172585>.
- Duarte, M. 2011. Actividad antimicrobiana de plantas medicinales y aromáticas utilizadas en Brasil. *MultiCiência: Construyendo la historia de los productos naturales*. Disponible en: [http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos\\_07/a\\_05\\_7.pdf](http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 261.
- Elnakady, Y., Rushdi, A., Franke, R., Abutaha, N., Ebaid, H., Baabbad, M., Omar, M., Al-Ghamdi, A. 2017. Characteristics, chemical compositions and biological activities of propolis from Al-Bahah, Saudi Arabia. *Scientific Reports*. Vol. 7, 723 – 730.
- ESPAM MFL. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López". 2020. Estación Meteorológica de la de la ESPAM MFL. Calceta, Manabí.
- Ericsson, H., Lindberg, A., Persson, K., Ekman, T., Ar-tursson, K., Nilsson-O, M. y Bengtsson, B. 2009. Etiología microbiana de la mastitis clínica aguda y factores de riesgo específicos del agente. *Microbiología Veterinaria*, 137, 90-97.
- FAO. 2010. Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. Primera Edición. Páginas: 24-26.
- Fierro, W. 2000. Evidencia Científica del Propóleo desde el punto de vista Médico. Proapi Argentina. Obtenido de [http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/walter\\_fierro.pdf](http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/walter_fierro.pdf).
- Fiordalisi, S., Honorato, L., Loiko, M., Avancini, C., Veleirinho, M., Filho, L., Kuhnen, S. 2016. The effects of Brazilian propolis on etiological agents of mastitis and the viability of bovine mammary gland explants. *Pubmed*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26723111>.
- Frana, T., Wellinton, E. 2015. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from pork farms and visiting veterinary

- students. Revista de Investigación en Salud. Universidad de Boyacá (ISUB). Volumen 2. Número 2. ISSN 2389-732, 165.
- Gálvez, L., Roque, M., Villavicencio, J., Petkova, M., y Madrid, M. 2006. Pasta Terapéutica anti-A. Producto (2da parte). Odontol. Sanmarquina. 9(2): p. 3-7.
- Gómez, A. 2011. Estudio etnobotánico en el tratamiento municipal de Santa Olalla del Cala (Sierra de Aracena Huelva) plantas de interés etnoveterinario, tóxicas y de uso en alimentación animal., 47.
- Gómez, R. 2015. Mastitis bovina. Enf. infecciosas bovinos productores de leche. Sitio Argentino de Producción Animal. Enciclopedia Bovina, BM Editores. Obtenido de: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar).
- Gómez, O., Santivañes, C., Arauco, F., Espezua, O., Manrique, J. 2015. Criterios de interpretación para California Mastitis Test en el diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos. Perú.
- González, A., Bernal, R. 1997. Propóleo. Un camino hacia la salud. Ed. Fermín R. Alfau. Editorial Pablo de la Torriente. La Habana. CU. 119 p.
- Grefa, G. 2016. Características de la Sangre de Drago.
- Guamán, C. 2014. Etnobotánica de la etnia Saraguro con énfasis en la fitoterapia de enfermedades de animales domésticos.
- Guimarães, J. 2016. Estimate of the economic impact of mastitis: A case study in a Holstein dairy herd under tropical conditions. PubMed.
- Gupta, D., Gupta, R., y Bleakley, B. 2008. Dragon's blood: Botany, chemistry and therapeutics uses. 115(3): 361-380.
- Hillerton, J., Berry, E. 2005. Treating mastitis in the cow – a tradition or an archaism, Journal of Applied Microbiology., 98 (6). Obtenido de Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche - Bovine mastitis and its impact on milk quality. REDVET. 2017 Volumen 18 N° 11. ISSN 1695-7504.
- Huang, S., Zhang, C., Wang, K., Li, G., Hu, F. 2014. Recent Advances in the Chemical Composition of propolis. Molecules. Artículo Moléculas . 2014 dic; 19 (12): 19610–19632. Publicado en línea el 26 de noviembre de 2014. doi: 10.3390 / moléculas191219610. PMCID: PMC6271758. PMID: 25432012.
- Krell, R. 1996. Value-added products from bee keeping. FAO Agricultural Services Bulletin124.
- König, H., Liebich, H., Maierl, J. 2013. Anatomía de los Animales Domésticos. Madrid: Ed. Médica Panamericana; Tomo 2. II Edición. 720p.
- Lacalle, A. 2008. Propóleo, el antibiótico natural de la colmena. Revista Agropesquera (85):56-61.
- Lazo, J., y Pareja, M. 2007. Extracto de *Croton lechleri* y de *Pelargonium Robertianum* L. en el tratamiento de la gingivitis asociada al embarazo. Kiru. 4(2): p. 52-59.

- Li, O. 2012. Evaluación de Eficacia y Tolerancia de una infusión intramamaria comercial en base a Cefalexina monohidrato, Gentamicina sulfato, Dexametasona y Vitamina A (Cefa-Milk® Forte) en el tratamiento de infecciones intramamarias en vacas Holstein.
- Lobardo, L. 1994. Diccionario Médico, España: Ediciones Doyna. Pág. 400.
- Lozina, L. 2003. Actividad antimicrobiana de extractos de propóleos para su uso en tratamiento de la otitis canina. Obtenido de <http://vanguardiaveterinaria.wordpress.com/2013/01/31/aprovechanpropiedades-del-propoleo-para-el-tratamiento-de-otitis-en-perros/>
- Martínez, L. 2010. El propóleo y las técnicas para su colecta. Notiabeja. Septiembre-Octubre, 2010. D.F., México: Secretaria de Agricultura, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Gobierno de México.
- Martínez, P. 2015. Evaluación de Dos Dosis de Ozono en el Tratamiento de Mastitis Bovina. Quito: Universidad Central del Ecuador Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Medina, C., Montaldo, V. 2003. El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para mastitis. CNM. V Congreso Nacional de Control de Mastitis. Aguascalientes, Ags., México. 29-31 de Mayo. Obtenido de Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. Sitio argentino de producción animal.
- Medina, C. Silva, W. 2005. Manual de Anatomía Veterinaria; Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2005. 196 p.
- Melliou, E. 2007. Volatile constituents of propolis from various regions of Greece. Antimicrobial activity. Food Chem. 375 - 380.
- Meza, E. 1999. Sangre de Grado y el reto de su producción sustentable en el Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Miguel, M., Bendin, C. 2011. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de Oregano. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 261.
- Molina, A. 2004. Medician Etnoveterinaria. Veterinarias sin fronteras. Obtenido de Tesis: Comparación del efecto de tres concentraciones de propóleos en el tratamiento de mastitis subclínica de vacas lecheras. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario. Autor: Paredes, A. Universidad Central del Ecuador.
- Morales, A. 2011. Mastitis Bovina enfoque Biotecnológico. Cali: Reciteia.
- Murillo, P. 2008. Evaluación de la resistencia antimicrobiana en aislamientos de *Staphylococcus aureus* asociados a mastitis bovina lamientos de *Staphylococcus aureus* asociados a mastitis bovina título de Químico Farmacobiológico. México.
- Norberg, E., Hogeveen, H., Korsgaard, I., Friggens, N., Sloth, K., Løvendahl, P. 2004. Electrical Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. J. Dairy Sci. 87:1099–1107.

- Ocampo, O. 2014. Fenoles totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género *Meriania* (melastomataceae). *Rev. Colomb. Quim.* 41-46.
- OIE. 2010. Responsible and prudent use of antimicrobial agents in veterinary medicine. Health standards of the World Organization for Animal Health. ISUB (Revista de Investigación en Salud. Universidad de Boyacá). Volumen 2. Número 2. ISSN 23389-7325, 165.
- Paredes, M. 2018. Comparación del efecto de tres concentraciones de propóleos en el tratamiento de mastitis subclínica de vacas lecheras. Obtenido de Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista.
- Patiño, N. 2008. Resistencia a antimicrobianos del *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras con mastitis subclínica de tres municipios del estado de Michoacán. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 38 p.
- Peláez, M. 2015. Principales vulnerabilidades en la mastitis bovina en una Empresa Pecuaria Oriental de Cuba (Main vulnerabilities in bovine mastitis in Eastern Cattle Company of Cuba). *REDVET.* 2015., 16(5).
- Pérez, C., Bedolla, C., Castañeda, V. 2005. Importancia del conteo de células somáticas en la cría sustentable de vacas productoras de leche. Sustentabilidad. Vol. III, No 1. Universidad de Guadalajara, Jalisco., México. pp. 86-94. Obtenido de Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. Sitio argentino de producción animal: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar).
- Perry, J. 2014. The antibiotic resistome: What's new? *Current Opinion in Microbiology*, 21, 45–20.
- Pinedo, M., Rengifo, E., Cerruti, T. 1997. Plantas medicinales de la Amazonia Peruana. Estudio de uso y Cultivo. TCA. Lima, Perú.
- Porras, B., Lewis, W., Roman, J., Simchowitz, L., y Mustoe, T. 1993. Enhancement of wound healing by the alkaloid taspine defining mechanism of action, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 203, pp. 18-25. .
- Radostits, O. 2002. *Medicina Veterinaria. Mastitis Bovina.* Edit. Mcgraw-hill. 9o Edición. Vol 1. Madrid, España. pp 728, 810.
- Raghukumar, R., Vali, L., Watson, D., Fearnley, J., Seidel, V. 2010. Antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of 'pacific popolis' and isolated prenylflavanones. *Phytother Res.* 1181 - 1187.
- Ramírez, G. 2003. Sangre de Drago (*Croton Lechleri*). *Natura Medicatrix.* 21(4): p. 213-217.
- Ramírez, L. 2009. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica* Año XV, No 42. Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701.
- Ramírez, L., Castillo, A., y Melo, A. 2013. Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con

úlceras cutáneas. Obtenido de NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas - IssN: 1794-2470 - Vol. 11 No. 19.

- Ramírez, R. 2014. La Utilidad del propóleo en las ciencias de la salud. Revista Lux Médica.
- Rangel, A., Rodríguez, V., Bernate, G., Velilla, S. 2011. Prevalencia de mastitis bovina en sistemas doble propósito en montería (Colombia): Etiología y susceptibilidad antibacteriana. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 24(1), 19–28.
- Risco, E., Vila, R., Henriques, A., y Cañigueral, S. 2005. Bases químicas y farmacológicas de la utilización de la sangre de drago. Revista de Fitoterapia. 5(2): p. 101-114.
- Royster, E., y Wagner, S. 2015. Treatment of Mastitis in Cattle. Vet Clin North Am Food Anim Pract [Internet]. Elsevier Inc., 2015.,31(1):17–46. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749072014000905>.
- Ruiz, G., Peña, R., Remón, D. 2016. Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión. Rev. Prod. Anim. 28 (2). Páginas 39-50. Cuba
- Salas, A., Alberto, M., Zampini, I., Cuello, A., Maldonado, L., Ríos, J., Schmeda-Hirschmann, G., Isla, M. 2016. Biological activities of polyphenols-enriched propolis from Argentina arid regions. Moleculas. ELSEVIER. 144 - 160.
- Sanford, C., Keefe, G., Sanchez, J., Dingwell, R., Barkema, H., Leslie, K., & Dohoo, I. 2006. Test characteristics from latent-class models of the California Mastitis Test. Prev Vet Med 77: 96-108.
- Sandoval, M., Ayala, S., Oré, R., Loli, A., Huáman, O., Valdivieso, R., y Béjar, E. 2006. Capacidad antioxidante de la sangre de grado (*Croton palanostigma*) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. Anales de la Facultad de Medicina – UNMSM. 67(003): 199-205.
- Sanpa, S., Popova, M., Tunkasiri, T., Eitssayeam, S., Bankova, V., Chantawannakul, P. 2015. Chemical Profiles and Antimicrobial Activities of Thai Propolis Collected from *Apis mellifera*. Chiang Mai J. Sci. 456-470.
- Saran, A., Chaffer, M. 2000. Mastitis y calidad de la leche. Ed. Intermédica. Buenos Aires, Argentina. pp 11-16, 23-50.
- Sisson, S., Grossman, J., Getty, R., Ellenport, C., Ghoshal, N., Hillmann, D. 1982. Anatomía de los animales domésticos. Barcelona: Elsevier Masson. 1416 p.
- Suran, J., Bačić, I., Radić, B., Benić, M., . 2015. Intramammary propolis formulation for prevention and treatment of mastitis in dairy ruminants. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.
- Tamariz, J., Capcha, R., Palomino, E., y Aguilar, J. 2003. Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente a *Helicobacter Pylori*. Rev Med Hered. 14(2): p. 81-88.
- Trujillo, C., Gallego, A., Ramírez, N. y Palacio, L. 2011. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. Revista Colombiana de

Ciencias Pecuarias, 24, 11-18. Recuperado de <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/522>.

- Nascimento, T., da Silva, P., Azavedo, L., Rocha, L., Celerino, I., Lima, T., Diniz, I., Meireles, L., Braga, C., da Silva, E., Oliveira, E., Zhang, A., Watson, D. 2016. Polymeric Nanoparticles of Brazilian red propolis extract: preparation, Characterization, antioxidant and leishmanicidal activity. *Nonoscale Research Letters*. 301-320.
- Venegas, Y., Peña, C., Pastene, E., Ontreñas, D. 2016. A new near-infrared method for simultaneous determination of caffeic acid phenethyl ester and antioxidant activity of propolis samples. *Journal of Apicultural Research*. 220-253.
- Villanueva, M., González, M., Fernández, H., Wilson, M., Manquían, N., Otth, L., Otth, L. 2015. Actividad antibacteriana in vitro de propóleos chilenos sobre *Helicobacter pylori*. *Rev Chilena Infectol*. 536-539.
- Wang, K., Jin, X., Sun, L., Wu, L., Wei, J., Marcucci, M., Hu, F., Liu, J. 2016. Effects of Chinese Propolis in Protecting Bovine Mammary Epithelial Cells against Mastitis Pathogens-Induced Cell Damage. *Hingwai*.
- Wilson, D., Gonzalez, R., Case, K., Garrison, L., Gröhn, Y. 2009. Comparison of Seven Antibiotic Treatments with No Treatment for Bacteriological Efficacy Against Bovine Mastitis Pathogens. *J dairy Sci* Available from: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(99\)75395-6/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(99)75395-6/abstract). PubMed.gov.
- Wolter, W., Castañeda, V., Kloppert, B., Zschoeck, M. 2015. La Mastitis Bovina; Instituto Estatal de Investigaciones de Hesse – Universidad de Guadalajara. 2015.
- Yera, G., Ramírez, W. 2016. La prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas Holstein x Cebú. *REDVET*, Vol. 17(3), 1–7.
- Zotal. 2017. Mastitis. Obtenido de Zotal Laboratorios.: <https://www.zotal.com/como-prevenir-la-mastitis-bovina/>.
- Zaror, K. 2011. Mastitis Bovina por *Prototheca zopfii*: primer aislamiento en Chile. *Arch Med Vet* 43, 173-176.

## **ANEXOS**

**ANEXO 1.** Toma de muestras para realización del CMT antes de la aplicación de los tratamientos



**ANEXO 2.** Aplicación del reactivo a las muestras de leche



**ANEXO 3.** Verificación de la aglutinación de la muestra antes de la aplicación de los tratamientos



**ANEXO 4.** Aplicación de los distintos tratamientos



**ANEXO 5. Realización del CMT 48 horas post tratamientos**

**ANEXO 6.** Productos utilizados para el trabajo de campo

## ANEXO 6. Estadística descriptiva de las variables

Statistix 8.0  
14:56:02

20/01/2020,

### Descriptive Statistics for TRATAMIEN = 1

	<b>CMTA</b>	<b>CMTD</b>	<b>NCSD</b>	<b>NCSA</b>	<b>EFICACIA</b>
N	20	20	18	20	18
Mean	1.5000	0.4000	364.17	609.45	2.0000
SD	0.8885	0.7539	727.54	936.85	0.7670
SE Mean	0.1987	0.1686	171.48	209.49	0.1808
Minimum	0.0000	0.0000	17.000	20.000	1.0000
Maximum	3.0000	2.0000	2513.0	2884.0	3.0000

### Descriptive Statistics for TRATAMIEN = 2

	<b>CMTA</b>	<b>CMTD</b>	<b>NCSD</b>	<b>NCSA</b>	<b>EFICACIA</b>
N	17	17	16	17	16
Mean	1.5294	0.5882	324.69	334.12	1.8125
SD	0.9432	0.7952	461.33	448.37	0.4031
SE Mean	0.2288	0.1929	115.33	108.75	0.1008
Minimum	0.0000	0.0000	65.000	65.000	1.0000
Maximum	3.0000	2.0000	1661.0	1661.0	2.0000

### Descriptive Statistics for TRATAMIEN = 3

	<b>CMTA</b>	<b>CMTD</b>	<b>NCSD</b>	<b>NCSA</b>	<b>EFICACIA</b>
N	20	20	20	20	20
Mean	1.1000	0.3500	297.95	356.35	2.1000
SD	0.8522	0.6708	433.34	770.10	0.9119
SE Mean	0.1906	0.1500	96.897	172.20	0.2039
Minimum	0.0000	0.0000	14.000	21.000	1.0000
Maximum	2.0000	2.0000	1490.0	2943.0	3.0000

Kasandra Zambrano

## TESIS PARA DOCTOR RONALD.docx

## Resumen de fuentes

8%

SIMILITUD GENERAL

1	espm el 2020-07-08 TRABAJOS ENTREGADOS	4%
2	dspace.utpl.edu.ec INTERNET	3%

## Se excluyeron los depósitos de búsqueda:

- Publicaciones
- Crossref
- Contenido publicado de Crossref

## Excluido del Informe de Similitud:

- Bibliografía
- Citas
- Citas
- Coincidencias menores (50 palabras o menos)

## Se excluyeron las fuentes:

- Ninguno

DR. ERNESTO HURTADO PhD  
PRESIDENTE