

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA LEÓN**  
**UNAN – LEÓN**  
**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE MAGISTER SCIENTIAE EN MEDICINA  
PREVENTIVA CON MENCIÓN EN SALUD PÚBLICA

**TÍTULO:**

**Evaluación del extracto de *Hamelia patens* como alternativa de tratamiento para el control de la mastitis subclínica en bovinos, municipio de El Sauce en periodo de julio a septiembre del 2016.**

**AUTOR:**

Lic. Marlon Uriel Zelaya Mendoza.

**TUTOR:**

Dr. William Jirón Toruño. DMV. Ph.D.

***León, 17 de Febrero 2017.***

***“A la libertad por la universidad”***

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA LEÓN**  
**UNAN – LEÓN**  
**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE MAGISTER SCIENTIAE EN MEDICINA PREVENTIVA CON MENCIÓN EN SALUD PÚBLICA.**

**TÍTULO:**

Evaluación del extracto de *Hamelia patens* como alternativa de tratamiento para el control de la mastitis subclínica en bovinos, municipio de El Sauce en periodo de julio a septiembre del 2016.

**AUTOR:**

\_\_\_\_\_.  
Lic. Marlon Uriel Zelaya Mendoza.

**TUTOR:**\_\_\_\_\_.

Dr. William Jirón Toruño. DMV. Ph.D.

***León, 17 de Febrero 2017.***

***“A la libertad por la universidad”***

## DEDICATORIA

A **DIOS** sobre todas las cosas por darnos la vida y acompañarnos a lo largo de la carrera.

A mis **PADRES** Tania del Socorro Mendoza Argeñal y Julián Zelaya Blandón así también a mi **ABUELA** María del Carmen Mendoza Silva por todo su apoyo incondicional y todos los consejos alentadores para seguir luchando en mis estudios.

A mi **ESPOSA** Ana María Flores Sánchez y **MI HIJA** Uriana del Carmen Zelaya flores que son la razones de lucha y búsqueda de superación

A mis **HERMANOS** Yader, Tania, Nelly Zelaya Mendoza por la motivación para alcanzar mis objetivos.

Lic. Marlon Uriel Zelaya Mendoza.

## AGRADECIMIENTO

A **DIOS** por darme la vida y la capacidad intelectual para finalizar mis estudios.

A nuestros **PADRES** por el apoyo incondicional que me brindaron cada día, para poder alcanzar mis metas.

A **ESPOSA** Ana María Flores Sánchez por el apoyo incondicional que me da día a día.

A mis **TUTORES** Dra. William Jirón Toruño y Lic. Byron Flores por su importante colaboración y tiempo brindado para la elaboración de este trabajo investigativo.

## GLOSARIO

- Cuarto Mamario: División en cuatro partes que se hace de la glándula mamaria bovina, para efecto de estudio.
- Brote: Término referido al inicio de una manifestación de enfermedad.
- Endemia: Enfermedad que reina habitualmente, o en épocas fijas, en un país o comarca.
- Endémico: Es relativo a endemia, pero que es propio o exclusivo de determinadas localidades o regiones.
- Enfermedad: Cualquier proceso o alteración más o menos grave que afecte la salud.
- Patógeno: Término que se le da a los agentes que originan y desarrollan una enfermedad.
- Prevalencia: Término utilizado en epidemiología para determinar el número de personas o animales que sufren una enfermedad con respecto a la población en estudio.
- pH: Índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución, puede estar entre 0 – 7 disolución ácida y de 7 – 14 disolución básica.
- Roedor: que roe, se aplica al animal mamífero, de pequeño tamaño que tiene los incisivos preparados para roer.
- Zoonosis: Enfermedad o infección que se da en los animales y que es transmisible al hombre en condiciones naturales.

## **ABREVIATURAS**

Spp.: Especies.

E. coli: *Escherichia Coli*.

CMT: Test Mastitis de California.

H. patens: *Hamelia patens*.

T0: Tratamiento control.

T1: Tratamiento testigo.

T2: Tratamiento experimental.

TSI: Triple azúcar mas hierro.

LIA: Lisina desaminasas.

UNAN-León: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León.

CEVEDI: Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Medicina veterinaria.

SPSS: Paquete estadístico para ciencias sociales.

INTA: Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria

## 1 Contenido

I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCIÓN .....	2
III. ANTECEDENTES .....	4
IV. JUSTIFICACIÓN .....	5
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA: .....	6
VI. OBJETIVOS .....	7
VII. MARCO TEÓRICO .....	8
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
1. Tipo de estudio: .....	27
2. Área de estudio: .....	27
3. Diseño experimental: .....	27
4. Tratamientos: .....	27
5. Variables: .....	28
6. Manejo del ensayo: .....	29
7. Toma de muestra: .....	29
8. Toma de muestras para análisis microbiológico: .....	31
9. Instrumento de recolección de información: .....	32
10. Factor inclusión: .....	32
11. Factor de exclusión: .....	32
12. Plan de análisis: .....	32
13. Operacionalización de variables .....	33
IX. RESULTADOS .....	34
X. DISCUSIÓN .....	38
XI. CONCLUSIONES .....	40
XII. RECOMENDACIONES .....	41
XIII. BIBLIOGRAFÍA .....	42
XIV. ANEXO: .....	45

## I.RESUMEN

La importancia de la mastitis como enfermedad a nivel mundial es debido a su impacto económico en la producción de leche, además del peligro que representa sus agentes etiológicos en la salud pública. El objetivo la investigación fue evaluar el efecto del extracto de *Hamelia patens* como un antimicrobiano alternativo para el tratamiento de las mastitis en vacas lecheras en la comunidad La Virgen en el municipio de EL Sauce del departamento de León. . Los datos se analizaron a través del programa SPSS vs 21, a través un análisis de prueba no paramétricasde Kruskal Wallis y de U de Mann-Whitney para un diseño Completamente al Azar (DCA) con distribución de datos sin normalidad, Los tratamiento del ensayo fueron Tratamiento control:T 0 =Sin Tratamiento, tratamiento comercial o testigo: T1= Candela Mastitis en lactancia.(Formula química: Gentamiciana, Neomicina y flumetazona.) y tratamiento experimental: T 2= Extracto de *Hamelia patens* (etanólico de al 50%). Se utilizaron 15 vacas en Fase de lactancia con mas de un mes de lactación y positivas a mastitis subclínica mediante prueba CMT. Se asignaron aleatoria mente 5 vaca por grupos, el tiempo de experimentación fue de 15 días se realizaron 3 muestreo: un muestreo Pre-tratamiento (día 0), dos Post-tratamiento (5° día y 10° día). En el muestreo microbiológico se aisló en el 100% de las muestras el Género de Staphylococcus aureus, A los 10 días pos tratamiento aplicando dosis de extracto etanolito al 50% por 5 días la prevaecía disminuyó sustancialmente a un 20%, recuperando 4 vacas de 5 positivas, presentando un efecto similar al grupo de T1 tratados con candelas de mastitis, al no existir diferencias estadísticas significativa entre los grupos T2 v T1 y en el tratamiento control aumento prevalencia mastitis en un 100%.

**Palabras claves:** *Hamelia patens*, Mastitis, Ganado lechero, Tratamiento botánico.

## II. INTRODUCCIÓN

La mastitis es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria y es comúnmente una consecuencia de una infección microbiana causada por patógenos que penetran a la glándula a través del canal del pezón. Se caracteriza por diferentes cambios ya sea físicos o químicos de la glándula mamaria (1, 2).

Es considerada una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero, y es una de las más importante en la industria lechera a nivel mundial; pues ocasiona cuantiosas pérdidas a los productores de leche, debido a la disminución de la calidad y cantidad de leche producida y un aumento en los costos de tratamiento, servicios veterinarios y pérdida de animales (2, 3).

En Nicaragua, la producción de leche juega un papel importante en la economía; a) es un vital alimento para la población, principalmente para los más vulnerables que son los niños y ancianos; al mismo tiempo que b) es generadora de empleos al nivel de fincas e industrias y por último que es c) generadora de divisas por la comercialización local y exportación de productos derivados.

Una de las principales causas de la aparición de mastitis son microorganismos gram negativos y gram positivos que atacan y generan daños en la ubre de la vaca. Se conocen al menos 140 microorganismos que causan mastitis, mientras que la infección puede tener dos presentaciones; la subclínica y la clínica. En Nicaragua se utilizan los tratamientos comerciales a base de antibióticos de manera indiscriminada, lo que puede tener repercusiones a mediano plazo, tales como, resistencia bacteriana con el surgimiento de las llamadas superbacterias, las que a su vez pueden infectar a los humanos, la existencia de residuos de antibióticos en los derivados lácteos, implicaciones que comprometerían la salud pública, así como efectos en la economía de los productores, dado lo anterior se hace necesario la búsqueda de alternativas económicamente accesible a los productos, que demuestren eficacia en la práctica y capacidad para biodegradarse, evitándose él



cúmulo de residuos tóxicos en los alimentos y el medio ambiente. El presente trabajo se ha considerado realizar la evaluación del extracto de *Hamelia patens* como tratamiento alternativo para Mastitis.

La *Hamelia patens* es una planta medicinal con propiedades analgésicas, antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, diuréticas, también se le atribuye propiedad astringente, cicatrizal, desinflamante, emoliente. La infusión o cocimiento de hojas en la medicina natural humana se aplican tópicamente para tratar afecciones dérmicas (eczema, granos, heridas, llagas, quemaduras, raspones, úlceras); para lavados vaginales y baños para aliviar el reumatismo y piernas hinchadas. El polvo de hojas tostadas se aplica a llagas persistentes. El jugo de hojas se usa para aliviar piquetes de insectos e irritaciones. En los extractos de las hojas fueron encontrados antiinflamatorios, reduciendo el edema asociado a lesión, y un antibacteriano (4).

Estudios *in vitro* antimicrobianos demuestran que los extractos acuoso y etanólico de hojas son activos contra *Staphylococcus aureus* y que el extracto acuoso de la corteza es activo contra *Escherichia coli*. (5). Por al antes expuesto se pretende evaluar el extracto de *hamenlia patens* como una alternativa de tratamiento en el control de la mastitis en vacas.

### III. ANTECEDENTES

La importancia de la mastitis a nivel mundial es debido a su impacto económico en la producción de leche, además del peligro que representa sus agentes etiológicos en la salud pública, diferentes instituciones de investigación privada y pública se han enfocado en la investigación de nuevos tratamientos alternativos que permita controlar el impacto de la enfermedad, las investigaciones con usos de *Hamelia patens* en la medicina veterinaria es muy escasa a pesar de ser una planta medicinal conocida y utilizada en Latinoamérica de forma artesanal e industrial.

**En el Salvador, 2006.** Paredes A. realiza: Ensayó de Tratamientos alternativos en el control de la Mastitis clínica bovina; plasma marino, propóleos y chichipince (*Hamelia patens*) reportando efectividad del extracto de *Hamelia patens* accionando como inhibidores para bacterias Gram positivas y Gram negativas (6).

**En Nicaragua** se han realizados estudios como:

**En 2006, Aguirre J. y Zeledón K.** reportaron un 52.1% prevalencia de mastitis y el microorganismo mayormente aislado fue el *Staphylococcus aureus*, estudio realizado en 6 fincas en el municipio de León, durante el periodo mayo 2005-mayo 2006 (8).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

El impacto de la mastitis va junto con la leche, más allá de las puertas de la explotación lechera existentes, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud establecen que el consumo de leche cruda incrementa el riesgo de adquirir enfermedades Alimentarias (ETAS) provocadas por microorganismos patógenos zoonóticos como *Brucella* spp., *Mycobacterium* spp, *Listeria monocytogenes* y de mastitis como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* entre otros, pueden llegar a la leche a través de la glándula mamaria, siendo eliminados en la misma, independiente si el animal está o no mostrando signos de enfermedad durante el ordeño. Otra problemática importante es el uso de los antibióticos en el tratamiento de la mastitis, los que constituyen una preocupación industrial y de salud pública, debido a que excesivo abuso en los tratamientos puede causar problemas de salud a los consumidores, además de problemas de resistencias bacterianas. Esta investigación pretende generar una alternativa de tratamiento para el control de mastitis a base de productos botánico, los que no tienen acción negativa en la salud humana o animal y que pueden obtenerse a un costo menor que los medicamentos comerciales. Los principios activos de la *Hamelia patens* son eficientes frente a numerosos microorganismos resistentes a los antibióticos. Así, tanto los extractos etanólicos como los acuosos son activos en las infecciones bacterianas. De esta forma la investigación contribuirá a disponer una tecnología para mejorar la producción, al disminuir pérdidas causadas por mastitis en los hatos y disminuir la probabilidad contaminación de leche por bacterias y toxinas patógenas, que ponen en riesgo la salud pública de los consumidos.

## **V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

La mastitis bovina puede ser causada principalmente por bacterias, aunque también puede ser producida por Micoplasmas, levaduras y algas, e incluso en algunos casos puede ser traumática (1). Numerosas investigaciones han detectado la presencia de microorganismos patógenos como etiología de la mastitis en bovinos (9), muchas de ellas zoonóticas e importantes como enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS) que provocan, todos los años, numerosas afecciones y fallecimientos, además afectan negativamente en la economía, y siendo un problema de la salud pública tanto en países en desarrollo como en desarrollados.

En Nicaragua existe la tradición de consumir leche directa sin un proceso de pasteurización, aunque en muchos hogares se someta a procesos térmicos (cocción) y en algunos casos incompletos (solo un breve calentamiento). Lo que incrementa el riesgo de adquirir enfermedades zoonóticas. Otra problemática el uso indiscriminado de antibióticos ha generado resistencia, esto hace que la enfermedad sea difícil de controlar al aplicar la droga sin tener ningún efecto. A pesar de las múltiples investigaciones e inversiones hechas por los científicos, la academia y la industria farmacéutica no se encuentra una solución para dar al mercado nuevos antibióticos y/o contrarrestar el problema de la resistencia bacteriana (10)

## **VI. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar el efecto del extracto de *Hamelia patens* como un antimicrobiano alternativo para el tratamiento de las mastitis en vacas lecheras.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la prevalencia de mastitis subclínica en el hato en estudio.
- Identificar los microorganismos aislados de muestras de leche de las vacas en estudio.
- Evaluar el efecto de extracto de *Hamelia patens in vivo* como antimicrobiano en vacas lecheras con mastitis.

## VII. MARCO TEÓRICO

### 1. Aspectos generales de la mastitis

Mastitis (del griego *mastos* – glándula mamaria y del sufijo *itis*– inflamación) se define como la inflamación de la glándula mamaria que generalmente se presenta como una respuesta a la invasión de microorganismos patógenos y se caracteriza por daños en el epitelio glandular, seguido por una inflamación clínica o subclínica, pudiendo presentarse con cambios patológicos localizados o generalizados, dependiendo de la magnitud del daño (11).

Mastitis, es el nombre técnico que se le otorga al proceso de inflamación de la glándula mamaria, se desarrolla debido a la presencia de leucocitos, estos son creados por el sistema inmune del animal y transportados hacia la glándula debido a la presencia de bacterias en el canal del pezón, una vez infiltradas en el canal del pezón, las bacterias se multiplican en número y producen toxinas, causando destrucción del tejido mamario (acinos), cuya función es de producir leche, afectando el potencial productivo de la glándula, dado que la cantidad de células productoras de leche es menor. La elevación del número de leucocitos comúnmente llamado recuento de células somáticas, llega a causar una reducción en la producción de leche y alteran la composición normal de la misma (12).

Se estima que un tercio de todas las vacas lecheras están afectadas por cualquier forma de mastitis en uno o más cuartos. Comúnmente es una enfermedad infecciosa causada por más de 137 especies bacterianas siendo *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Mycoplasmas* los principales microorganismos responsables de la misma. Se considera como una enfermedad compleja y es producto de la interacción de varios factores, resumidos en el animal, el medio ambiente y los microorganismos, jugando el hombre un papel decisivo (13).

## 2. Tipo de mastitis

### 2.1. Clasificación de la mastitis de acuerdo al origen

#### 2.1.1. Microorganismos causantes de mastitis contagiosa

Los patógenos causantes de la mastitis contagiosa de primera importancia incluyen al *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, y al *Mycoplasmas spp.* son organismos transmitidos de vaca a vaca a través de los paños utilizados para limpiar las ubres, la leche residual en las pezoneras y un equipo de ordeño inadecuado donde el reservorio primario que alberga los patógenos es el animal infectado o el cuarto de la ubre y la exposición de los cuartos mamarios no infectados se restringe al proceso del ordeño.

**El *Corynebacterium bovis*.** Frecuentemente se aísla de la leche de glándulas mamarias de vacas infectadas de mastitis y es asociado con la reducción en la producción de leche. Está relacionado con formas muy apacibles de inflamación mamaria. La única manifestación de esta infección, es un ligero aumento de la cuenta de células somáticas.

***Mycoplasma spp.***- La mastitis causada por Mycoplasmas se caracteriza por comienzo brusco, partición frecuente de todos los cuartos glandulares, descenso súbito de la producción, tumefacción intensa de la ubre y anormalidades manifiestas de la leche sin signos evidentes de enfermedad general.

Una característica notable de los Mycoplasmas es que al parecer son capaces de sobrevivir, o incluso prosperar, en presencia de un gran número de leucocitos en la leche. No se han podido detectar anticuerpos contra las bacterias en sueros sanguíneos o en suero de leche de animales infectados con algunas cepas, pero existen anticuerpos de fijación del complemento en suero de animales que han sido recuperados de la infección por otras cepas.

***Streptococcus agalactiae***. Antes de la era de los antibióticos, *Streptococcus agalactiae*, era uno de los principales microorganismos causantes de mastitis. Dado que este microorganismo es un patógeno obligado que además es susceptible a los antibióticos, ahora es posible erradicar esta bacteria de las explotaciones lecheras. *Streptococcus agalactiae* no es una bacteria invasora activa del tejido mamario, si no que se adhiere al epitelio de las cisternas y de los grandes ductos mamarios. Los productos de desechos resultantes del crecimiento y multiplicación de esta bacteria causan la filtración de proteínas del suero sanguíneo y de polimorfo nucleares (PMN), lo cual resulta en la formación de coágulos de fibrina, que a su vez bloquean los ductos mamarios, obstaculizando así el drenaje de la leche en el área afectada. Los productos de desecho de esta bacteria se sigue acumulando y esto intensifica la inflamación también se necrosa el tejido secretor, lo cual finalmente resulta en la suspensión de la secreción de la leche en el tejido afectado.

***Staphylococcus aureus***.- Suele actuar como causa frecuente de este tipo de mastitis *Staphylococcus aureus* hemolítico coagulasa positivo, aunque puede ser difícil demostrar su prevalencia en casos peragudos sobre todo cuando es invadido el tejido necrótico por *Escherichia coli* y *Clostridium*. La mayoría de las cepas patógenas aisladas de bovinos producen toxinas beta, o una combinación de toxinas alfa y beta, pero es dudosa su importancia patógena. Los mecanismos de virulencia en las infecciones por *Staphylococcus* parecen guardar relación con la capacidad de este microorganismo para invadir tejidos y no con la excreción de sustancias. La coagulasa es una excepción pero parece ayudar a la invasión.

La mastitis estafilocócica en bovinos tiene importancia idéntica a la causada por *Streptococcus agalactiae* u otros *Streptococcus* en la mayor parte de las encuestas al respecto. Como en otras formas de mastitis, el descenso de la producción es la causa más importante de pérdidas económicas, pero en algunas vacadas puede haber cifras de mortalidad importantes. La respuesta al tratamiento no es satisfactoria, y no se han ideado todavía métodos adecuados para la erradicación de la mastitis estafilocócica en las vacas infectadas. La presencia de



*Staphylococcus aureus* en la leche destinada al consumo humano debe considerarse un riesgo para el consumidor (14).

### **2.1.2. Microorganismos causantes de la mastitis ambiental**

*Klebsiella spp.*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, y *Enterococcus spp.* otros microorganismos patógenos se incluyen en la clase ambiental de este tipo de infecciones.

Se trata generalmente de oportunistas que invaden la glándula mamaria cuando los mecanismos de defensa están disminuidos o cuando se introducen inadvertidamente en la glándula mamaria al realizar un tratamiento intramamario. Este grupo de microorganismos oportunistas incluyen a *Pseudomonas spp.*, levaduras, *Serratia marcescens* y *Nocardia spp.* cada uno de estos agentes posee características de cultivo, mecanismos patógenos y consecuencias clínicas singulares. La fuente de estos agentes patógenos es el entorno de la vaca. La forma de transmisión principal es del ambiente a la vaca a través de un manejo inadecuado del primero.

Algunos ejemplos incluyen la cama húmeda, terrenos sucios, ubres mojadas por la leche, preparación inadecuada de la ubre y los pezones antes del ordeño y sistemas de estabulación que favorecen las lesiones en los pezones. Y la exposición de los cuartos no infectados a los patógenos ambientales que puede ocurrir en cualquier momento durante la vida de una vaca.

Estas infecciones generalmente ocurren de forma esporádica. Sin embargo, se pueden producir brotes en los rebaños o en una región entera, normalmente como consecuencia de problemas con la higiene o el tratamiento. Por ejemplo, se ha producido mastitis causada por *Pseudomonas aeruginosa* en brotes relacionados con la contaminación de las conducciones de goma en las salas de ordeño.

La mastitis ocasionada por patógenos ambientales es el principal problema que afecta a muchos hatos lecheros bien manejados, que aplican un programa de control de los patógenos contagiosos de la mastitis.

Debido a que en la actualidad estos patógenos no han sido bien controlados por los métodos arriba mencionados, ahora están surgiendo como la causa más frecuente de mastitis en muchos hatos, particularmente bien manejados, hatos con bajo conteo de células somáticas (<200,000 cs/ml) Tradicionalmente, los agentes más comunes causantes de la mastitis también han sido clasificados como patógenos principales (mayores) y menores según el grado de inflamación que estos producen en la glándula mamaria.

Los patógenos principales son definidos como los patógenos responsables, la mayoría de las veces, de las mastitis clínicas o de fuertes respuestas inflamatorias (conteos elevados de células somáticas en la leche) y comprenden al *Staphylococcus aureus*, *estreptococos* (*S. uberis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*) y coliformes. Los patógenos menores son definidos como los patógenos que infectan la glándula mamaria, causando conteos moderados de células somáticas, pero en lo general no causan signos clínicos. Estas infecciones, son especialmente frecuentes, debidas sobre todo a otros *estafilococos* (principalmente *S. chromogenes*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, y *S. xylosus*) o por *Corynebacterium bovis* y *Micrococcaceae* coagulasa-negativos.

### ***Streptococcus dysgalactiae***

La mastitis causada por patógenos medioambientales es un gran problema que afecta a los hatos lecheros. De entre los patógenos medioambientales, el *Streptococcus dysgalactiae* ha sido frecuentemente aislado de las infecciones intramamarias durante la lactación y el período seco.

El *Streptococcus dysgalactiae* es una de las especies bacterianas más importantes aislada en la mastitis bovina. El de la especie hemolítica, es un patógeno muy común en la mastitis clínica y subclínica.

La prueba serológica de Lancefield a la bacteria *Streptococcus dysgalactiae*, del grupo C, la identifica como uno de los patógenos más comunes de mastitis bovina, que causa pérdidas económicas más grandes en la industria de la leche.

Este patógeno es muy capaz de sobrevivir en la boca, vagina y piel de los animales saludables que pastan. Debido a su situación medioambiental, los métodos de higiene normales y la terapia del antibiótico son menos eficaces previniendo las infecciones por *Streptococcus dysgalactiae* que las infecciones por otro patógeno contagioso.

### ***Streptococcus uberis***

El *Streptococcus uberis* es una bacteria patógena medio ambiental que induce, en una proporción significativa, la mastitis clínica bovina en todo el mundo. Por consiguiente la mastitis medioambiental se ha vuelto un gran problema.

El *Streptococcus uberis* es un importante patógeno medioambiental involucrado en los casos de mastitis subclínica y clínica durante el periodo de lactación temprana y el periodo seco, y es responsable del 12 al 14% de la mastitis clínica en vacas lactantes.(15)

### **Coliformes.**

El 5% de la mastitis se debe a bacterias gram negativas en forma de bastón de la familia *Enterobacteriaceae*, entre las que se destacan *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter agglomerans*. Estos organismos reciben el nombre de coliformes porque habitan en el tracto intestinal de los humanos y otros animales, sin causar ninguna enfermedad. De los microorganismos antes señalados, *Escherichia coli* es el germen más abundante en los corrales de las vacas lecheras y, por lo mismo, es el principal coliforme causante de mastitis. Debido a que los coliformes son microorganismos “ambientales”, la infección de la ubre por estas bacterias ocurre de manera fundamental entre las ordeñas. En la mayoría de casos, el número de microorganismos coliformes en la punta de las tetas es inferior a los *Staphylococcus* y *Streptococcus*, debido a que los coliformes no colonizan la piel de la teta. Una característica de la mastitis causada por coliformes es lo transitorio de la enfermedad.

Por lo común la mastitis se manifiesta muy rápidamente, esto es, de una ordeña a otra, una vaca aparentemente normal aparece severamente enferma, lo cual se debe a la rápida multiplicación de estas bacterias con la consecuente liberación y desmanación de endotoxinas. Sin embargo, la mayoría de estas infecciones dura menos de 28 días.

La mastitis causada por coliformes puede variar desde las infecciones subclínicas detectables solo con cultivos de microorganismos, hasta casos mortales. Sin embargo, la más común de las infecciones por coliformes es la mastitis aguda, donde tanto los signos sistémicos y la respuesta inflamatoria de la ubre es de corta duración y la recuperación de las vacas es rápida. Relativamente pocas infecciones por coliformes se vuelven crónicas.

### ***Escherichia coli***

La mastitis medioambiental es causada por bacterias coliformes. La mayoría de las bacterias coliformes son clasificadas como *Escherichia coli* (*E. coli*). La mastitis ocasionada por la *E. coli* es normalmente esporádica y las señales clínicas varían desde muy severa, incluso formas fatales, a mastitis apacible, donde las vacas tienen solo señales locales en la ubre. La mastitis es un problema importante en la industria lechera y la mastitis producida por *E. coli* es sobre todo la principal enfermedad en las vacas.

La razón para la importancia de la mastitis por *Escherichia coli* es su creciente incidencia y los síntomas severos. Este aumento puede ser debido al uso rutinario de la terapia de la vaca seca, la cual es eficaz contra el organismo contagioso Gram positivo, pero no contra el patógeno medioambiental como *E. coli*. La infección de la ubre por este patógeno probablemente es resultado de contaminación fecal. De la gran variedad de patógenos microbianos que pueden causar la mastitis bovina, la *E. coli* y la *Klebsiella pneumoniae* son los patógenos medioambientales más frecuentemente aislados de las infecciones intramamarias y son los principales causantes de la mastitis clínica. La *E. coli* ha sido clasificada como un agente patógeno medioambiental que induce la mastitis clínica, que es caracterizada por

una intensa concentración de neutrofilos, que lleva a la eliminación de las bacterias. Diversos factores de virulencia detectados a partir de bacterias *E. coli* patogénicas ocasionan infecciones del tracto urinario, diarrea, septicemia y meningitis en animales y humanos. La mastitis bovina es semejante a la infección del tracto urinario en que la infección es ascendente, causada por bacterias del ambiente.(16)

## 2.2. Clasificación de la mastitis de acuerdo a la intensidad de la infección

### 2.2.1. La mastitis sub-clínica

En la mastitis subclínica, no se observan signos de la infección en la vaca, ni anomalías en la leche, aunque esta última muestra cambios en su composición (pH, número de células somáticas y concentración de iones).

La mastitis clínica se manifiesta con la presencia de coágulos en la leche, además de que la ubre está inflamada, caliente, enrojecida y dura. Al tratar de ordeñar a la vaca, muestra signos de dolor en la glándula infectada. Dependiendo de la severidad, la mastitis clínica se clasifica como subaguda, aguda y peraguda, esto es, los signos de la infección pueden ir desde cambios, mínimos en la composición de la leche, hasta signos sistémicos como la fiebre, depresión y pérdidas de apetito. La mastitis clínica detectada en pocas vacas en el hato representa solo la “punta del iceberg”, ya que por unos cuantos casos de mastitis clínicas en el hato, existen muchos casos de mastitis subclínica. La mastitis subclínica es 15 a 40 veces más prevalente que la mastitis clínica, por lo que la forma subclínica de esta infección representa entre 60 y 75 % de las pérdidas económicas por esta enfermedad. La mastitis subclínica cobra importancia también porque la infección no se detecta con facilidad y puede persistir por largos periodos, lo que a su vez constituye una fuente constante de microorganismos que finalmente infectan a otras vacas (17).

### 3. Factores relacionados a la mastitis

#### 3.1. Genéticos

Es un hecho que algunas vacas presentan una mayor susceptibilidad a la mastitis que otras, los factores estructurales del canal del pezón son importantes en la regulación de la entrada de microorganismos. Algunos autores afirman que si el tono de las estructuras anatómicas de la apertura del pezón es reducido lo que es un carácter heredable, la resistencia a la entrada de los microorganismos será menor y seleccionando genéticamente vacas con diámetro pequeño del canal del pezón, la frecuencia de mastitis disminuirá (18).

El canal del pezón está recubierto por una capa de epitelio escamoso estratificado, a su vez cubierto por queratina y por una capa de material seroso compuesta por desechos epiteliales y leche que forman un tapón, por lo tanto, es posible que haya en el tapón una sustancia inhibitoria del crecimiento de microorganismos; también contribuye el hecho de que al quedar abierto el conducto del pezón, la penetración de microorganismos al interior de la glándula se facilite; el elemento de inhibición antes señalado actúa contra *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*. Otros factores inhibidores de crecimiento bacteriano aumentan en la inflamación; uno de ellos es la lactoferrina, proteína que compete con los microorganismos que requieren hierro. También se encuentran factores inmunológicos como linfocitos T y B, inmunoglobulinas, leucocitos, neutrófilos y polimorfo nucleares, elementos efectivos en algunas infecciones por coliformes (11).

}

#### 3.2. Nutricionales

La alimentación actual de la vaca lechera está destinada a mantener un alto nivel de producción; esto constituye un factor de tensión fisiológico que puede provocar mastitis clínica en vacas con antecedentes de infecciones o mastitis subclínica.

### 3.3. Higiene durante el ordeño

Los procedimientos de higiene durante el ordeño como, lavado de la ubre y pezones con agua potable, desinfectantes, secado con toallas desechables antes de cada ordeño, higiene de la unidad de ordeño con especial atención en el interior de las pezoneras mediante la aplicación de chorro de agua y desinfección o sellado de los pezones con material que haya mostrado capacidad para bloquear el crecimiento y desarrollo microbiano, previenen la transmisión de microorganismos entre vacas y disminuye la población microbiana sobre la piel del pezón .

## 4. Desarrollo de la enfermedad

Las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria.

### 4.1. Invasión del pezón

El pezón en sí, es la primera línea de defensa contra la penetración de bacterias dentro de la ubre, normalmente el esfínter cierra el canal del pezón fuertemente cuando la vaca no es ordeñada.

La invasión del pezón se presenta generalmente durante el ordeño, los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados dentro del canal del pezón y de la cisterna, cuando existe la entrada indeseable de aire en la unidad de ordeño (desprendimiento o pérdidas de la unidad o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado el vacío) luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas, inclusive el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto. Los microorganismos presentes en el medio ambiente, específicamente en (materia fecal, cama, etc.) o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel, en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcial el canal del pezón (19)

#### 4.2. Transmisión y establecimiento de la enfermedad

Las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria. En un intento por controlar los diferentes tipos de infecciones, es importante considerar la fuente y formas de transmisión de la enfermedad, los organismos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes (materia fecal, cama, piel. La limpieza general de las vacas y su alojamiento, como también buenos procedimientos de manejo (especialmente ordeño) son formas efectivas de controlar la difusión de la mastitis (11).

Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos, otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca, las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche.

Las bacterias pueden enfrentarse con leucocitos (células blancas de la leche) presentes naturalmente en bajas cantidades en la leche. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aún así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche.

Si las bacterias no son totalmente destruidas, pueden continuar multiplicándose y comenzar a invadir los pequeños conductos y áreas alveolares. Las células secretoras de leche que son dañadas por las toxinas, liberan sustancias irritantes que conducen a un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Leucocitos adicionales se mueven al lugar de la infección ellos penetran el tejido alveolar en gran medida moviendo se entre el tejido secretor de leche dañado. Fluidos, minerales y factores de coagulación también se mueven dentro del área infectada. La leche coagulada también puede cerrar conductos y, en efecto, aislar las regiones infectadas (19).

#### 4.3. Destrucción del tejido alveolar

Algunas veces los microorganismos son eliminados rápidamente y la infección se aclara, en este caso, los conductos tapados se abren y la composición y producción



de leche retorna a la normal en varios días, aún así, a medida que la infección persiste y los conductos se mantienen tapados, la leche retenida hace que las células secretoras pasen a una etapa de descanso (sin producir) y el alvéolo comienza a reducir su tamaño.

Las sustancias liberadas por los leucocitos conducen a una destrucción completa de las estructuras alveolares, que posteriormente son reemplazadas por tejido conectivo y cicatrizal. La destrucción del tejido secretor de leche, es la tercera línea de defensa de la vaca para mantener la infección bajo control. Por lo tanto a medida que la enfermedad progresa el número de células somáticas en la leche se eleva y se asocia con una reducción (permanente) en la producción de leche (19).

## **5. Diagnóstico**

El rápido diagnóstico de la mastitis bovina es de vital importancia para la aplicación inmediata de medidas de control y tratamiento. Impidiendo que la infección se agudice en la glándula afectada y se propague a otros animales, se espera reducir al máximo el costo económico de la enfermedad. En el caso de la mastitis clínica, cuyos signos son evidentes, el diagnóstico es realizado directamente por el personal del establecimiento.

En cambio, el diagnóstico de la mastitis subclínica presenta desafíos únicos, ya que depende de la evaluación de ciertos parámetros en la leche cuyos valores se alteran producto de la infección. La evaluación del estatus sanitario puede realizarse sobre muestras de leche provenientes de cada una de las glándulas o cuartos individuales (muestra de cuarto individual), sobre la mezcla de leche de los cuatro cuartos (muestras compuestas) o sobre la mezcla de toda la leche ordeñada en un tambo (muestra de tanque). En este último caso no se obtiene información sobre vacas o glándulas individuales sino sobre el estatus sanitario general del tambo.

El método más directo para realizar el diagnóstico de una infección subclínica es el análisis microbiológico de la leche. Aquí se evalúa la presencia de microorganismos causantes de mastitis mediante pruebas bioquímicas y cultivo en medios selectivos y diferenciales. Pese a ser muy utilizado y dar información

relevante sobre la situación infecto lógica de la mama, el análisis microbiológico es laborioso y de costo elevado. Autores han reportado una baja sensibilidad para este método (13).

## 5.1. Método de diagnóstico de la mastitis.

### 5.1.1. Examen de la vaca.

El examen clínico general de la vaca y sus antecedentes sanitarios, productivos y reproductivos, deben preceder al examen de la ubre. La ubre debe ser examinada tanto llena como recién ordeñada; también se deben examinar los ganglios linfáticos detectables por palpación. La disminución de la cantidad de leche, así como el cambio de sus características físicas, puede ser la primera manifestación de mastitis.

### 5.1.2. Pruebas físicas.

Inspección y palpación de ubre y pezones.

A continuación, detallamos el método recomendado por el Dr. J. Ávila García. Inspección Ha de observarse detenidamente la glándula mamaria, por delante, detrás y de abajo arriba, para apreciar de situaciones, deformaciones, etc., comprobando cada impresión con la glándula simétrica y otra dinámica con el animal en marcha.

El tamaño total de la glándula mamaria y de sus pezones debe compararse. La forma de la ubre puede ser colgante, escalonada, inclinada. La forma de los pezones puede ser de punta plana, en embudo o en hendidura. Pezones accesorios, también es importante inspeccionarlos por una posible secreción. Piel de la mama y pezones (tirantes, arrugamiento, adherencia, variaciones de color). Lesiones cutáneas en ubre y pezones (por ejemplo; rasguños y traumatismos, incisiones, gangrena, pústulas, úlceras, fistulas, viruela, verrugas). Evaluación espontánea de la leche (incontinencia láctea. Fistula de la teta)

### 5.1.3. Palpación

La palpación de la glándula mamaria es uno de los recursos más interesantes. debe comenzar por los pezones, rodar la punta del pezón entre las yemas de los dedos, palpar el pezón desde su extremo distal hasta la base; palpar la cisterna glandular

con el índice. En esta palpación hay que comprobar la existencia de tumefacciones, heridas y neo formaciones en la punta o en la luz del canal, así como sensibilidad a dolor. La facilidad del ordeño del esfínter se comprueba extrayendo algunos chorros de leche. La causa de la dureza del ordeño, está casi siempre en el esfínter, más raro en la cisterna.

#### 5.1.4. Cisterna

La mucosa de la cisterna del pezón se palpa también rotando esta entre los dedos; todo engrosamiento, endurecimiento o dolor son patologías, la cisterna glandular debe permitir, la entrada de un dedo empujando desde abajo. En los pezones hay que prestar atención a tumefacciones y heridas, así como a las fistulas de leche.

#### 5.1.5. Piel de la ubre

Cuando la mama esta ordeñada, se distiende normalmente con facilidad, en caso contrario, aparece tensa en los diferentes cuartos según de producción. Inmediatamente antes y después del parto se produce un edema fisiológico que debe desaparecer en pocos días, un edema intenso durante la lactancia o el periodo seco, son signos patológicos, generalmente este edema se considera normal en vaquillas primerizas.

#### 5.1.6. Cuerpo glandular

Cada cuarto debe examinarse, en busca de granulaciones, induraciones pequeñas o difusas, atrofia y su sensibilidad dolorosa. El tejido mamario sano se palpa después del ordeño, finamente granuloso, blando y por el contrario, cuando no se ha ordeñado tenso y firme. Cuando hay edema muy manifiesto en la mama, los cuartos se palpan a veces con dificultad o no pueden palpase (20).

#### 5.1.7. Taza de fondo negro o cedazo

Estos métodos se usan para determinar las características físicas de la leche. Cualquiera que sea el método usado se debe observar la presencia de precipitados,

coágulos, escamas, fibrillas, copos y sangre. Simultáneamente se examina el color, la consistencia y el olor de la leche.

Se debe tener cuidado especial al practicar estos exámenes, por el riesgo de diseminar los microorganismos de un pezón a otro o de una vaca a otra por el afán al hacer el examen. Tanto a la taza como el cedazo deben ser cuidadosamente lavados y desinfectados después del examen de cada animal (21)5.1.8. Pruebas químicas

El pH de la leche normal es ligeramente ácido, pero en la Mastitis suele variar hacia alcalinidad. Para determinar la presencia de Mastitis, basándose en lo anterior se utiliza indicadores de pH: el Azul de Bromotimol (utilizando en carnes) y el púrpura de Bromocresol (utilizando en la prueba de Hotis y en la de California). En la primera un cambio de verde al azul intenso demuestra la alcalinidad y en la segunda, un color pardo al amarillo, después de 24 horas de incubación demuestra acidez, sospechándose entonces de la existencia de Mastitis.

#### 5.1.9. Prueba para cloruros en la leche

Esta es una prueba cuantitativa, que se basa en un análisis volumétrico. Los cloruros en la leche normal permanecen constantes de 0,09 a 0,14%. Este porcentaje aumenta en caso de leches mastíticas u otra afección de la glándula mamaria.

La prueba se lleva a cabo agregando 2ml, de bicromato de potasio como indicadora 17.5ml, de leche, luego se titula con una solución de nitrato de plata al 0.86% el resultado se obtiene multiplicando la constante de 0.01 por el número de mililitros gastados, hasta el apareamiento de un color rojo ladrillo.

#### 5.1.10. Prueba de catalasa.

Esta prueba se lleva a cabo en un tubo con tapón de rosca, se mide 9ml, de leche y se mezcla con 1 ml, de agua destilada y 1 ml, de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Luego se invierte el tubo y se deja a temperatura ambiente por dos o tres horas. El resultado se lee midiendo el volumen de oxígeno formado.

#### 5.1.11. California mastitis test

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. Es una prueba sencilla que es 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.

##### Pasos a seguir para la realización de la Prueba de California para Mastitis

- Se desecha la leche del pre ordeño.
- Se ordeñan uno o dos chorros de leche de cada cuarto en cada una de las placas de la paleta.
- Se inclina la paleta de modo que se desecha la mayor parte de esta leche.
- Se añade a la leche un volumen igual de reactivo.
- Se mezcla el reactivo y se examina en cuanto a la presencia de una reacción degelificación.

Antes de continuar con la vaca siguiente se debe enjuagar la placa.

Los resultados pueden ser interpretados en cinco clases, desde el resultado negativo en el que la leche y el reactivo sigue siendo acuoso, 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.

La prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquilaurilsulfonato desodio, 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.

Es decir, permite determinar la respuesta inflamatoria con base en la viscosidad del gel que se forma al mezclar el reactivo (púrpura de bromocresol) con la misma cantidad de leche en una paleta con cuatro pozos independientes permitiendo evaluar cada cuarto independientemente.

La Prueba de California es un método de diagnóstico que posee una sensibilidad del 97% y una especificidad del 93%. Sus ventajas principales son:

- Es una técnica muy sensible y se puede utilizar tanto en una muestra de cuartos, como una muestra del tanque enfriador. En una muestra de tanque, los resultados de grado 2 y 3, indican un alto porcentaje de vacas infectadas.
- El material extraño no interfiere con la prueba (pelo u otro material).
- La prueba es simple y no requiere de equipo costoso.
- La paleta es fácil de limpiar después de cada uso.
- A pesar de sus ventajas, la técnica presenta los siguientes inconvenientes:
- Los resultados pueden ser interpretados de forma variable, entre los individuos que realicen la prueba, por lo que resulta necesario uniformizar el criterio de casos positivos y su categorización en grados.
- Pueden presentarse falsos positivos en leche de animales con menos de diez días de paridos o en vacas próximas a secarse.
- La mastitis clínica aguda da resultados negativos, debido a la destrucción de los leucocitos por las toxinas provenientes de los microorganismos presentes. (19)

#### 5.1.11.1. Interpretación de los resultados de la prueba de CMT

La interpretación de la prueba de CMT es analizada de la siguiente forma de acuerdo al grado de mastitis que presenta: **NEGATIVO:** No hay precipitado por lo tanto no hay infección. **TRAZAS:** Ligera precipitación que desaparece al agitar, en este caso es necesario comparar una mama con la otra; si presentan algo de precipitación no se considera infección. Si solamente una mama presenta infección se considera infectada.

**TIPO 1:** Existe una ligera agitación con algunos filamentos grumosos, al mover la paleta por unos 20 segundos los grumos tienden a desaparecer. No existe la formación de gel.

**TIPO 2:** Formación de gel apariencia de una clara de huevo. **TIPO 3:** Formación de gel rápido, no pierde la forma a pesar de la agitación.

El CMT mide en forma indirecta el número de células somáticas / ml. Normalmente la leche de una glándula mamaria sana tiene menos de 100.000 cel/ml. donde el 80% de las células son macrófagos y el 20% o menos corresponden a Neutrófilos

Cuando hay inflamación originada en un proceso infeccioso el número de células somáticas aumenta por incremento de los Neutrófilos que acuden a cumplir su acción fagocítica en el sitio de la infección llegando a representar hasta el 90% del recuento de células somáticas.

El CMT es una prueba que tiene una alta sensibilidad pero presenta algunas deficiencias en especificidad, dando falsos positivos durante la primera semana después del parto; y en vacas que tienen más de 7 meses de producción y varios partos. En estos casos el grado de viscosidad es similar en los 4 pezones (22).

## **6. *Hamelia patens***

*Hamelia patens* es una especie de arbusto grande, perenne, de América subtropical y tropical perteneciente a la familia de las rubiáceas. Se encuentra desde Florida en el sur de EE.UU. a Argentina. Tiene flores tubulares anaranjadas rojas, agradables para colibríes y mariposa para polinizar. En Nicaragua florece y fructifica todo el año. La Distribución altitudinal en Nicaragua va desde el nivel del mar hasta los 1600 m (4).

**Sinonimias:** Algunos nombres en español son: mazamora, hierba santa cimarrón, coralillo, coloradillo, madura plátano. También se le llama *Hamelia erecta* Jacq. Y entre otros nombres populares se le conoce como canuto, clavito, cohетillo, achiotillo colorado, pie de paloma, sicunken (4, 5).

### 6.1. Usos medicinales de *Hamelia patens*

Es una planta medicinal con propiedades analgésicas, antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, diuréticas, también se le atribuye propiedad astringente, cicatrizal, desinflamante, emoliente.

La infusión o cocimiento de hojas se aplican tópicamente para tratar afecciones dérmicas (eczema, granos, heridas, llagas, quemaduras, raspones, úlceras); para lavados vaginales y baños para aliviar el reumatismo y piernas hinchadas. El polvo de hojas tostadas se aplica a llagas persistentes. El jugo de hojas se usa para aliviar piquetes de insectos e irritaciones. En los extractos de las hojas fueron encontrados antiinflamatorios, reduciendo el edema asociado a lesión, y un antibacteriano. (5).

Estudios *in vitro* antimicrobianos demuestran que los extractos acuoso y etanólico de hojas son activos contra *Staphylococcus aureus* y que el extracto acuoso de la corteza es activo contra *Escherichia coli*. (5)

### 6.2. Composición química

Las hojas contienen alcaloides oxindólicos (maruquina, isomaruquina, palmirina, pteropodina, isopteropodina, rumberina, especiofilina, seneciofilina), saponósidos, esteroides (stigmas-4eno-6,6-diona), taninos y triterpenos, flavonoides (apigenina, rutina),  $\beta$ -sitosterol y ácido ursólico. La corteza contiene taninos (15%). La raíz contiene alcaloides, flavonoides y antocianinas (malvidina, petunidina).

Ríos (2006); un estudio a partir de hojas secas de *Hamelia patens* en el cual reportó la identificación de 10 productos naturales: 2 alcaloides, 1 flavona, 2 esteroides, 1 sesterterpeno y 4 triterpenos. (23)



## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Tipo de estudio:

Experimental controlado.

### 2. Área de estudio:

El estudio se llevó a cabo en 1 finca ganadera en la comunidad La virgen en el municipio de El Sauce. Durante el período comprendido de Marzo a diciembre 2016.

### 3. Diseño experimental:

Se utilizó diseño completamente al azar compuesto de 3 tratamientos con 5 repeticiones cada uno.

### 4. Tratamientos:

T 0 =Sin Tratamiento

T1= El tratamiento testigo Candela Mastitis en lactancia.(Formula química: Gentamiciana, Neomicina y flumetazona.)

T 2= Extracto de *Hamelia patens* (etanólico de al 50%).

## TablaN° 1. Asignación de sujetos a tratamientos: EPIDAT 3.1

---

### Asignación Aleatoria de sujetos a tratamientos

---

Número de tratamientos: 3

Tamaño de muestra: 15

#### Tratamiento: 1

Número de los sujetos seleccionados: 5

5 8 9 12 15

#### Tratamiento: 2

Número de los sujetos seleccionados: 5

3 4 10 13 14

#### Tratamiento: 3

Número de los sujetos seleccionados: 5

1 2 6 7 11

---

\*Todas las vacas fueron enumeradas para su identificación.

## 5. Variables:

**Dependiente:** presencia de mastitis, detectada por la aplicación de la CMT

**Independiente:** los tratamientos aplicados

### ➤ Prevalencia

$$p = \frac{d}{n}$$

Donde p= prevalencia, d = número de individuo que tienen la enfermedad y n = número de individuo de una población en el momento del muestreo.

Se determinó usando la prueba de campo CMT para detectar las vacas positivas a mastitis, además se realizó inspección clínica para detectar las que presenten la mastitis clínica.

➤ **Tiempo de recuperación:** se midió el grado de mastitis en campo con la prueba de CMT: se monitoreó a los 5 y 10 días, respectivamente post tratamiento.

## **6. Manejo del ensayo:**

### **Fase inicial:**

Identificación y selección de vacas en ordeños positivas mastitis subclínica y en fase clínica. Para integrar al estudio. Se realizaron los siguientes pasos para su identificación:

- Valoración general de los animales evaluados
- Inspección clínica de las glándulas mamarias
- Prueba de diagnóstico de campo CMT (Test de mastitis de California)

Animales positivos CMT: se realizó muestreos para los cultivos Bacterianos para aislar posibles agentes patógenos.

### **Fase intermedia:**

Aplicación de tratamientos a los diferentes grupos:

Grupo 0: Observación.

Grupo 1: Tratamiento 1 (T0): antibiótico intramamario (candela mastitis)

Grupo 2: Tratamiento 2 (T2): extracto de *Hamelia patens* al 50 %, 10cc por cuarto afectado una vez al día por cinco días.

### **Fase de muestreo y seguimiento post tratamiento:**

En el estudio se realizó 3 muestreos: uno inicial antes del tratamiento y pos tratamiento correspondientes a: 5, 10 días utilizando la prueba de campo de CMT.

## **7. Toma de muestra:**

### **Muestreo aplicando la prueba de Mastitis de California:**

Se tomaron muestras de leche (2ml) individualmente de cada cuarto, en la paleta de diagnóstico, se adicionó igual cantidad (2ml) de Reactivo de California, se le dio a la paleta un movimiento circular por 20 segundos y se procedió a la lectura de la reacción, observando si existían grumos o gelinificación, así como cambios del pH identificados por el cambio de color a púrpura en la muestra.

**Para la Interpretación de los grados del CMT se utilizo la tabla N°**

El grado de CMT está directamente relacionado con el promedio del conteo de células somáticas. .

Tabla N°2 Grado de mastitis según Prueba de CMT

Grado	Cuantificación de la reacción	Reacción	Probable número de células por ml de
- N Negativo)	0	La muestra queda liquida sin ninguna alteración de consistencia	0-200.000 de ellas 0-25% de polinucleares Negativo 0%
± Dudoso	1	Aparición de grumos finos que se disuelven al poco tiempo	150.000-550.000 de ellas 30-40% de polinucleares 6%
+ débilmente positivo	2	Formación reforzada de grumos sin llegar a la	400.000-500.000 de ellas 40-60% de
++ Claramente positivo	3	Clara y rápida formación de mucosidad que se acumula en el centro del receptáculo cuando se le da un	800.000-5000.000 de ellas 60-70% de polinucleares 16%
+++ Intensa mente positiva	4	Manifiesta gelificación con superficie convexa ; el liquido no cae	Corrientemente , mas de 5000.000; de ellas 70-80% de polinucleares 20%

(20).

Estas se utilizaron en el análisis descriptivo de la enfermedad. Para el análisis de factores ambientales, se procedió al agrupamiento de las categorías de la siguiente forma:

0 y 1, como negativo = 0

2, 3 y 4, como positivo = 1

## 8. Toma de muestras para análisis microbiológico:

### **Materiales:**

Frasco tapa de rosca de 50 ml estéril, algodón, alcohol, papel toalla para secar el pezón.

### **Procedimiento:**

Se lavó la ubre de las vacas con agua y jabón, posteriormente se secaron con papel toalla y se realizó la desinfección de los pezones con alcohol. Se eliminaron los dos primeros chorros y se recolectaron 20ml de leche de los cuatro cuartos positivos en CMT, se evito que partículas extrañas entraran en él frasco; se identificaron señalando el código de identificación de la chapa, nombre de la vaca, fecha de muestreo y cuarto que se extrajo la muestra.

La muestra fue almacenada en un termo y transportada a en refrigeración 7 °C hasta el laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria CEVEDI de la Escuela de medicina Veterinaria de la UNAN-León.

**Identificación de Agentes etiológicos:** Se basó principalmente en aislar bacterias, se inocularon 10 µl de leche previamente homogenizada en medios de cultivos Agar Sangre y MacConkey, utilizando un rayado convencional, las placas fueron incubada a 37°C durante 24-48 hrs, la identificación se realizó en base a Tinción de Gram, las bacterias Gram positivas fueron analizadas por pruebas de catalasa y coagulasa para identificación *Staphylococcus aureus*, en caso de aislamiento Gram Negativas fueron identificadas por medio de pruebas bioquímicas que incluyeron, Triple Azucar más Hierro (TSI), Citrato, Lisina Desaminas (LIA), urea, Motilidad IndolOrnitina (MIO).

**Prueba de Suseptibilidad Bacteriana:** se aplicó el Método de difusión en Agar (KirbyBauer), para los antibióticos, Oxitetraciclina, Enrofloxacina, Amoxicilina más ácido clavulánico, Cefalexina y Gentamicina.

### **9. Instrumento de recolección de información:**

Fichas de datos de concernientes a la procedencia muestras, Ficha de muestreo en campo Prueba CMT y Ficha de muestreo de muestreo microbiológico de leche.

### **10. Factor inclusión:**

Vacas con más de 1 mes etapa fisiológica de lactancias y menos de 8 meses de lactancia

### **11. Factor de exclusión:**

- Vacas con menos de 1 meses de lactancia.
- Vacas que hay sido tratadas con antibióticos en el último mes antes de iniciar el estudio.
- Vacas diagnosticadas con mastitis crónica.

### **12. Plan de análisis:**

Se realizara un análisis estadístico descriptivo con tablas de frecuencias relativas y el análisis de la variación diferente grupos, se efectuara mediante las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis y de U de Mann-Whitney para lo cual se utilizó el Paquete estadístico para ciencias sociales versión 21. (SPSS por sus siglas en ingles).

### 13. Operacionalización de variables

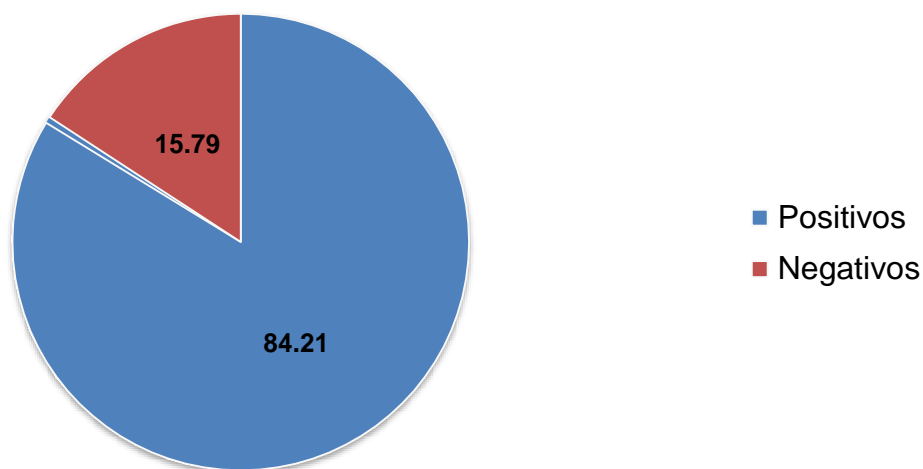
Tabla N°3 Operacionalización de variables

Objetivo	Método	Variable	dimensión	indicador	Criterios
Determinar la prevalencia de mastitis subclínica en el hato en estudio.	Test de mastitis de California CMT	Prevalencia	Positivo Negativo	Grado e mastitis: - Negativo ±trazas o dudoso + débilmente positivo ++Claramente positivo +++ Intensamente positivo	Figuroa 1984.  Tabla N°1 Grado de mastitis según Prueba de CMT
Identificar los microorganismos aislados de muestras de leche de las vacas en estudio.	Cultivos Microbiológicos	Calidad microbiológica de leche.  Genero de Bacteria.	Bacterias Gram: Positivas o Negativas	Genero de bacterias <i>Staphylococcus Spp.</i>  coliformes fecales.	RTC: 401-2006. Leche cruda y Leche Higienizada
Evaluar el efecto de extracto de <i>Hamelia Patens</i> in vivo como antimicrobiano en vacas lecheras con mastitis	Test de mastitis de California CMT	Prevalencia	A los 5 días post.  Positivo Negativo  A los 10 días post.  Positivo Negativo	Grado e mastitis: - Negativo ±trazas o dudoso + débilmente positivo ++Claramente positivo +++ Intensamente positivo	Figuroa 1984.  Tabla N°1 Grado de mastitis según Prueba de CMT

## IX. RESULTADOS

La prevalencia de mastitis encontrada en las vacas en ordeño previo a su selección como unidad experimentales fue de 84.21% (16/19) de casos positivos a mastitis sub clínica (Grafico N° 1), No se diagnosticaron casos de mastitis clínica mediante el examen clínico.

**Prevalencia de Mastitis subclinica (línea base)**



**Grafico N°1 Prevalencia de Mastitis sub-clínica (línea base)**

### Identificación de Agentes etiológicos

En el muestreo microbiológico de leche; mediante la aislación en cultivos bacterianos y pruebas bioquímicas; se aisló en el 100% de las muestras el género de *Staphylococcus aureus*, el cual esta bacteria al realizar las pruebas de sensibilidad aislada mostro resistencia a los Enrofloxacina, Oxitetraciclina, Gentamicina.



## Fase de experimentación

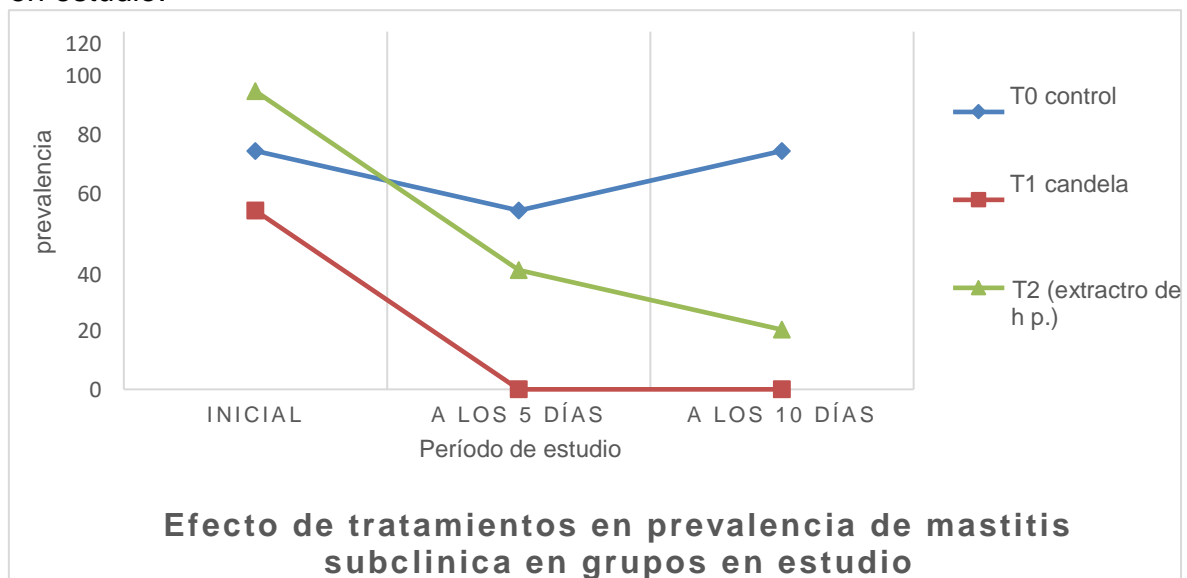
De los 16 casos positivos se seleccionaron 15 vacas para el ensayo de investigación aplicando los criterios de inclusión y exclusión.

Aplicado el diseño experimental Diseño Completamente al Azar (DCA) se formaron 3 grupos experimentales con 5 unidades experimentales. (Tabla N°1, 4)

## Resultados de la efectividad de los tratamientos en el tiempo.

**En el diagnóstico inicial Pretratamiento con CMT:** Los datos iniciales obtenidos por grupo fueron en el Tratamiento 0 control 80 % (4/1) de prevalencia, en el tratamiento Tratamiento 1 candela de mastitis 60% (3/2) de prevalencia y el Grupo del tratamiento T3 extracto de *Hamelia pantens* 100% de prevalencia. Las medias de los grupos no presentaron diferencias significativas según prueba Kruskal Wallis con obtuvo una significancia de 0.311 ( $P > 0.05$ ).

Grafica N°2 Efecto de tratamientos en prevalencia de mastitis sub-clínica en grupos en estudio.



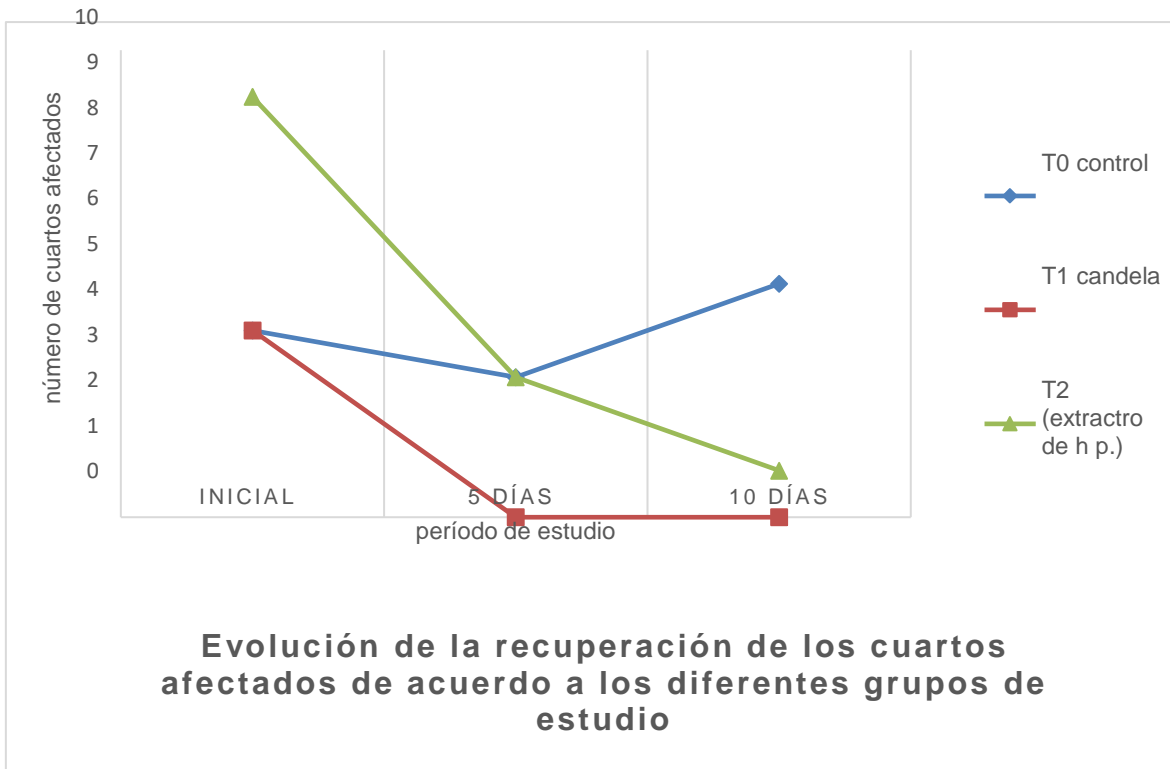
A los 5 Días post-tratamientos el grupo tratado el tratamiento 1 usando candelas de mastitis presento una prevalencia de 0%, solamente se observaron 2 reacciones trazas en 2 cuartos dos vacas diferentes, mientras el grupo del tratamiento 2 extracto de *Hamelia patens* presento una disminución de la prevalencia a un 40% (2/3) Faltado una aplicación de dosis del tratamiento. El grupo T0 control disminuyo la prevalencia a un 60% (3/5), estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre los grupos 0.141 ( $P > 0.05$ ), ni en la comparación individual de grupos ( $P > 0.05$ ).

A los 10 Días pos tratamientos si se presentaron diferencias estadísticas entre los grupos con una significancia de 0.026 ( $P < 0.05$ ) y una disminución considerable en las prevalencias en los grupos del Tratamiento 2 a 20%(1/4) y el tratamiento 1 se mantuvo en 0, Pero el grupo control aumento al 80% la prevalencia presentado una tendencia desde el diagnostico inicial. En la comparación con la prueba U. de Mann-Whitney del grupo T1 vs grupo T2 no presentaron diferencias significativas 0.690 ( $P > 0.05$ ), Comparando con el T control si se evidenció diferencias con significancia 0.026 ( $P < 0.05$ ).

### **Recuperación de cuartos afectados por mastitis sub-clínica.**

En cuanto a la recuperación de cuartos por tratamientos se observó que en el tratamiento 0 inicialmente inicio con 8 cuartos (8/20) con grado de mastitis mayor de 1 y al finalizó con 10 cuartos reactivos a CMT 5 grado de mastitis 2 y 5 de grado 1. El grupo del tratamiento T1 presento inicialmente 8 cuartos (8/20) reactivos a mastitis sub-clínica 4 grado 1 y 4 grado 2 y en el muestreo final se diagnosticaron 3 cuartos con 1, El grupo del tratamiento 2 extracto de *Hamelia patens* inicio con 13 (13/20) cuartos afectados, 9 cuartos reaccionaron mayor a grado 2 de mastitis subclínica y al 10 días post tratamiento solo 2 cuartos fueron positivos con grado 4 y 1 respectivamente. (Grafico N°3)

Grafico N°3 Evolución de la recuperación de los cuartos afectados de acuerdo a los diferentes grupos de estudio



## X. DISCUSIÓN

Al realizar el diagnóstico de línea base para conocer la prevalencia de mastitis en las vacas en ordeño se determinó una prevalencia de 84.21% (16/19). Estudios como Aguirre J. y Zeledón K. en el 2006 reportan una prevalencia de 56.1%, la diferencia entre las prevalencias puede deberse principalmente a los efectos de factores asociados a las condiciones de explotación en la investigación de Aguirre J. era fincas con explotaciones intensivas y semiintensiva, realizaban dos ordeños y disponían de salas de ordeño, la finca seleccionada para esta investigación fue de clasificación segunda categoría según la **NORMA TÉCNICA N ° 03 027-99** leche cruda y tipo C pequeños productores por INTA, los cuales se traducen a productores sin adecuadas infraestructuras y técnicas manejo del ganado lechero lo cual aumenta la predisposición a la instauración de casos de mastitis subclínica.

En el muestreo microbiológico se aisló en el 100% de las muestras el Género de *Staphylococcus aureus*, la alta prevalencia de mastitis subclínica (84.21%) y el aislamiento de *Staphylococcus aureus*, se atribuye a la falta de medidas preventivas e higiénicas al realizar el ordeño, no se practican las medidas de ordeño limpio, ya que el *Staphylococcus* es un agente más frecuente y más importante, puede encontrarse como bacteria oportunista en el exterior e interior de la ubre, heridas en animales y humanos, además diversos fómites como utensilios. A pesar de ser una bacteria oportunista puede llegar a ser un riesgo para la vaca en ordeño y salud pública ya que es un productor importante de toxinas, algunas con propiedades termo resistentes, desarrollando patologías aun cuando se haya sometido la leche a tratamiento térmico.

### **Fase experimental:**

Los resultados a los 5 días post tratamiento, se observa una disminución de los casos positivos en el tratamiento 2 extracto de *Hamelia pantes* recuperando el 60% de casos, si comparamos estos resultados a los obtenidos en el ensayo de Paredes A. en el Salvador 2006 reporto que una eficacia del 100% a los cuatro días post tratamiento. La diferencia con el presente ensayo puede deberse a diversos factores como son tipo de explotación, la dosis y tiempo de aplicación en el ensayo de Paredes A. se realizó la aplicación de 1 dosis de 10 cc cada 12 horas/5 días debido que la explotación era intensiva realizaban 2 ordeños, en el presente ensayo la aplicación se realizó 1 dosis de 12 cc cada 24/6 días, ya que solo se realizaba un ordeño en la finca teniendo que ampliar el periodo del tratamiento a 6 días y aumentado la cantidad de extracto, igual mente en el presente ensayo en el día 5 post tratamiento al realizar el diagnóstico con el CMT solo se han aplicado 4 días de tratamiento restado 2 por aplicarse.

A los 10 días pos tratamiento ya aplicadas las 5 dosis la prevalencia disminuyó sustancialmente a un 20%, recuperando 4 vacas de 5 positivas, presentando un efecto similar al grupo de T1 tratados con candelas de mastitis, al no existir diferencias estadísticas significativa entre los grupos T2 v T1 y diferencia al comparar T2 vs T0 control el cual aumento prevalencia, se considera que el extracto *Hamelia* presenta propiedades eficaces contra las bacteria causantes de mastitis subclínica. Esto se atribuye al recuperar 4 casos positivos infectados con *Staphylococcus aureus*, en el ensayo de Paredes A. 2006 se comprobó el efecto de extracto de *Hamelia patens* in vitro realizando pruebas de sensibilidad presentado efectos el antibióticos frente; *Staphylococcus albus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomona aureoginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus beta hemolítico* y *Staphylococcus albus beta*.

## XI. CONCLUSIONES

- El tratamiento T2 extracto de *Hamelia patens* al 50% presento igual efectividad que el tratamiento T1 canelas de mastitis al no existir diferencias estadísticas entre los grupos al disminuir los casos positivos. Reportado solo 1 caso positivoel grupo del T2.
- El efecto en la recuperación de cuartos del de grupo del Tratamiento 2 fue efectivos al disminuir de 9 cuartos positivos a mastitis subclínica a solamente 1 cuarto positivo, aplicado 5 dosis de 10 cc extracto de *Hamelia patens* al 50%/ 5 días.
- Se comprobó su efectividad frete infecciones de *Staphylococcus aureus*, el cual las cepas aisladas en esta investigación eran resistentes a Enrofloxacin, Oxitetraciclina, Gentamicina. Pero se logro eliminar su infección con extracto de *Hamelia patens* al 50%/ 5 días.
- Al ser más económico el tratamiento alternativo ya que es elaborado con recursos botánico (hoja de *Hamelia patens*) disponibles en las fincas ganaderas disminuye los costo en los tratamiento y además evita la contaminación de la leche con productos antibióticos y farmacéutico que pueden afectar a los consumidores

## **XII. RECOMENDACIONES**

- Para lograr una buena eficacia de los tratamientos se debe implementar buenas prácticas de higiene, tanto al ordeño como a la hora de instaurar una terapia. Para evitar la contaminación de producto y evitar la inoculación de patógenos.
- La mastitis subclínica debe ser vista como un problema de manejo de hato lechero por tanto se debe tomar la implementación de técnicas de manejo como el ordeño limpio como norma para evitar el abuso de los tratamientos.
- Realizar un segundo estudio experimental, con las mismas bases que este, en donde se aumente las repeticiones del tratamiento, para realizar su validación.
- Generar educación continua a los productores de la importancia de controlar la mastitis haciendo énfasis en las pérdidas económicas y principalmente la consecuencia que trae a la Salud pública.

### XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Zhao X, Lacasse P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J AnimSci.* marzo de 2008;86(13 Suppl):57-65.
2. Fernandez O, Trujillo J, Peña J. Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico (Bovine Mastitis: general and diagnostic methods). *REDVET* [Internet]. 2012;13. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111112/111202.pdf>
3. Tomasinsig L, De Conti G, Skerlavaj B, Piccinini R, Mazzilli M, D'Este F, et al. Broad-spectrum activity against bacterial mastitis pathogens and activation of mammary epithelial cells support a protective role of neutrophil cathelicidins in bovine mastitis. *Infect Immun.* abril de 2010;78(4):1781-8.
4. Grijalva A. Flora útil etnobotánica de Nicaragua. Primera Edición. Nicaragua: MARENA; 2005. 290 p.
5. Ulloa Ulloa C. WDS. Flora de Nicaragua. Missouri Botanical Garden. Vol. 1. Saint Louis, Missouri; 2016.
6. Paredes D. Tratamientos alternativos en el control de la Mastitis clínica bovina; plasma marino, propóleos y chichipince (*Hamelia patens*). [Internet]. [El Salvador]: Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer; 2006 [citado 12 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://www.usam.edu.sv/usam/images/stories/ARTICULOSICTUSAM/Tratamientos%20alternativos%20Mastitis.pdf>
7. Garcia Escoba I. evaluación del tratamiento local de mastitis clínica en ganado bovino a base de un extracto etanólico de propóleos AL 50% [Internet]. [Guatemala]: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2009 [citado 12 de diciembre de 2016]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3295/1/Tesis%20Med%20Vet%20Idania%20Garcia%20Escobar.pdf>
8. Aguirre Valverde JF, Zeledón Aráuz KJ. Aislamiento e identificación fenotípica de *Staphylococcus aureus* mediante la técnica de Fingerprinter (PHP) a partir de leche bovina afectada con mastitis subclínica en seis fincas del Municipio de León, durante el ... [Internet] [Thesis]. 2007 [citado 28 de noviembre de 2016]. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/1042>
9. Instituto Nacional de Salud. Identificación de riesgos biológicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia [Internet]. 2011.<sup>a</sup> ed. Bogotá: D.C.; 2011 [citado 13 de febrero de 2017]. 111 p. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-peligros-biologicos-en-leche.pdf>



10. Cotrino V. Resistencia bacteriana. ¿por cuanto tiempo más tendremos antibióticos? [Internet]. Laboratorio Médico Veterinario L.M.V. LTDA. [citado 14 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://lmvltlda.com/articulos/2254/>
11. Cotrino V. Mastitis bovina [Internet]. 2017 [citado 9 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://lmvltlda.com/articulos/mastitis-bovina/>
12. Ventajas e inconvenientes del tratamiento de mastitis subclínicas durante la lactancia [Internet]. [citado 9 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://www.a-campo.com/httpdocs/espanol/bovinos/bovinos14.htm>
13. Philpot W. Nickerson S.C. Mastitis : el contra ataque. [Internet]. 2017 [citado 9 de febrero de 2017]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/31768763\\_Mastitis\\_el\\_contra\\_ataque\\_WN\\_Philpot\\_SC\\_Nickerson\\_colaboracion\\_de\\_Justina\\_W\\_Nelson\\_et\\_al](https://www.researchgate.net/publication/31768763_Mastitis_el_contra_ataque_WN_Philpot_SC_Nickerson_colaboracion_de_Justina_W_Nelson_et_al)
14. Porparatto C. Mastitis, confort animal y calidad de leche. Eduvim; 2011. 69 p.
15. Vilar Ares M. Desarrollo del análisis de peligros y puntos de control crítico en explotaciones de vacuno lechero en galicia: estudio epidemiológico de patógenos zoonóticos [Internet]. [España, Galicia]: UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA; 2007. Disponible en: [https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2323/9788497508704\\_content.pdf;jsessionid=BBC4EEB404AA0F48066BBF8C6FED61A6?sequence=1](https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2323/9788497508704_content.pdf;jsessionid=BBC4EEB404AA0F48066BBF8C6FED61A6?sequence=1)
16. Valles GM. Mastitis en bovinos. Bib. Orton IICA / CATIE; 1983. 24 p.
17. Olguera, A,. Granja integral autosuficiente: manual. Editorial San Pablo; 2004. 308 p.
18. Dohoo IR, Meek AH, Martin SW. Somatic cell counts in bovine milk: relationships to production and clinical episodes of mastitis. Can J CompMed. abril de 1984;48(2):130-5.
19. Michel A. Wattiaux. Mastitis: La enfermedad y su transmisión [Internet]. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera, Universidad de Wisconsin-Madison; 2005. Disponible en: <http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de/24.es.pdf>.
20. Figueroa M. Enfermedades infecciosas de los animales domesticos en Centroamerica. EUNED; 1984. 784 p.
21. IICA. Area de Ganaderia Tropical. Bib. Orton IICA / CATIE; 96 p.
22. Nmlennart N.. week EIGHT: Taking Sterile Milk Samples & The California Mastitis Test [Internet]. UW MilkQuality. 2013 [citado 12 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://milkquality.wisc.edu/tool-box-for-udder-health/week-eight-taking-sterile-milk-samples-the-california-mastitis-test/>

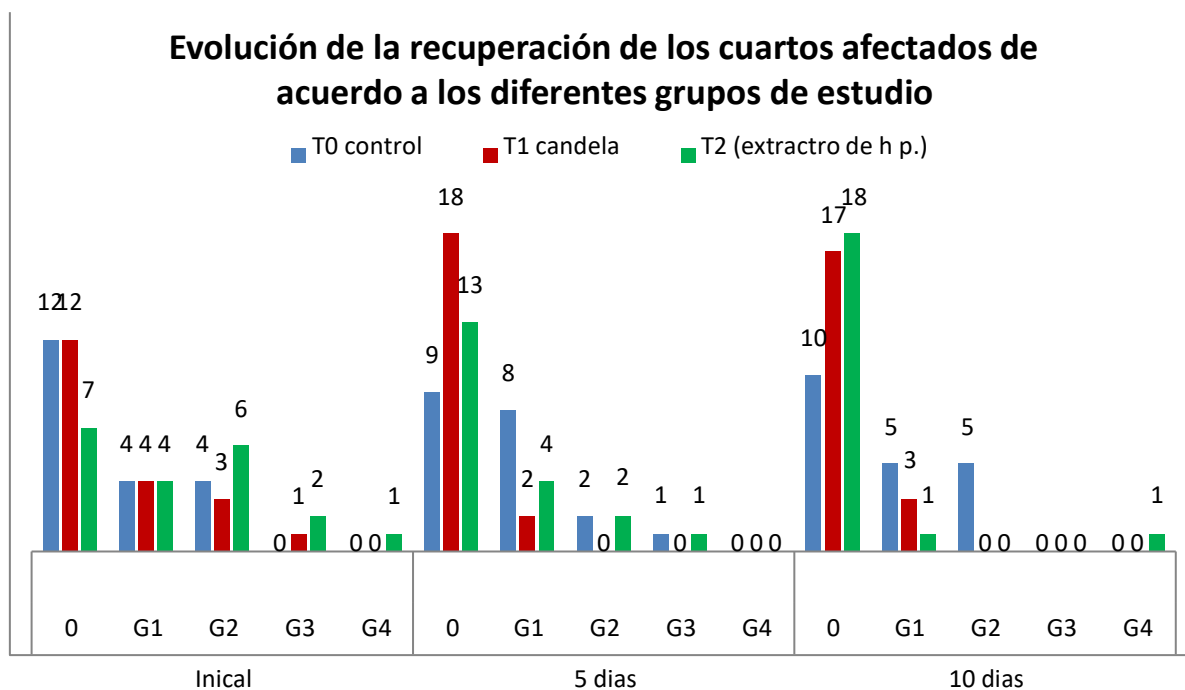
23. Rios MY. Aguilar-Guadarrama AB. Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). *Rev Cuba Plantas Med.* abril de 2006;11(1):0-0.
24. Gómez-Quispe OE, Santivañez-Ballón et, al. Criterios de interpretación para California Mastitis Test en el diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos. *RevInvestigVet Perú.* enero de 2015;26(1):86-95.

**XIV. ANEXO:**

**Tabla N°4 Distribución de unidades experimentales por Grupo**

N°	Cod	ID vaca	Tratamiento
5	4496	Chinga	T0 control
8	4504	cuzuca	T0 control
9	4467	Cochona	T0 control
12	S/N	Peineta	T0 control
15	4479	cola blanca	T0 control
3	S/N	Corona	T1 candela
4	4480	Sirena	T1 candela
10	S/N	Garsita	T1 candela
13	4466	Estrella	T1 candela
14	4471	Preciosa	T1 candela
1	4468	Rojita	T2 (extracto de h p.)
2	4478	servilleta	T2 (extracto de h p.)
6		Conga	T2 (extracto de h p.)
7	S/N	Pinta	T2 (extracto de h p.)
11	4521	Careta	T2 (extracto de h p.)

**Grafico N°4 Evolución de la recuperación de los cuartos afectados de acuerdo a los diferentes grupos de estudio**



**Tabla N° 5 Prueba de Kruskal-Wallis T0 vs T1 vs T2**

<b>Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup></b>			
	CMT inicial	CMT 5 días	CMT10días
Sig. asintótica	.311	.141	.026
a. Prueba de Kruskal Wallis (P= 0.05)			
b. Variable de agrupación: Tratamiento T0,T1,T2			

**Tabla N°6 Prueba de Mann-Whitney T2 vs T1**

	CMT inicial	CMT 5 días	CMT10 días
U de Mann-Whitney	7.500	7.500	10.000
W de Wilcoxon	22.500	22.500	25.000
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	.310 <sup>b</sup>	.310 <sup>b</sup>	.690 <sup>b</sup>
a. Variable de agrupación: Tratamiento			
b. No corregido para empates.			



**Ilustración 1 Aplicación de tratamiento alternativo o extracto.**



**Ilustración 2 Masaje del pezón para distribución del tratamiento botánico**



**Ilustración 3 Aplicación del tratamiento comercial candela para mastitis**

**FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS: MENCIONARLA EN MATERIAL Y MÉTODO**

**Libro de campo**

**Título del proyecto inv.:**

---

---

---

**Finca:** \_\_\_\_\_.

**Municipio:** \_\_\_\_\_.

**Época de siembra y/o fecha de inicio:** \_\_\_\_\_

**Nombre de la finca:** \_\_\_\_\_

**Nombre del productor:** \_\_\_\_\_

**Fecha de finalización:** \_\_\_\_\_

**Responsable de la evaluación:** \_\_\_\_\_

**Colaboradores de la evaluación:** \_\_\_\_\_

Cuadro #1 Prevalencia de mastitis en los Finca preseleccionadas.

<b>N° de Finca</b>	<b>Nombre</b>	<b>N° de Vacas en ordeño</b>	<b>N° Vacas Positivas</b>	<b>% Prevalencia</b>





