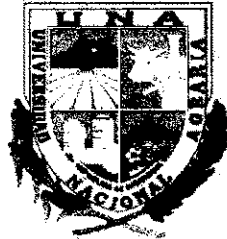


**UNIVERSIDA NACIONAL AGRARIA
UNA
SEDE CAMOAPA**



TESIS.

Utilización de la Propolina en el Control de la mastitis bovina en la finca el carmen del Municipio de Camoapa Departamento de Boaco.

Por:

**Claudia Carolina Flores Marengo.
José Antonio García González.**

Tutor: MV. Enrique Pardo Cobas MSc.

**Septiembre, 2005
Camoapa, Nicaragua.**

**UNIVERSIDA NACIONAL AGRARIA
UNA
SEDE CAMOAPA**



TESIS.

Utilización de la Propolína en el Control de la mastitis bovina en la finca el carmen del Municipio de Camoapa Departamento de Boaco.

Sometida a la Consideración del Honorable Tribunal Examinador de La Universidad Nacional Agraria Sede Camoapa, como requisito parcial para optar al Grado de:

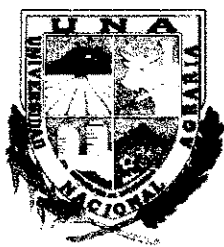
MEDICO VETERINARIO

Por:

**Claudia Carolina Flores Marengo.
José Antonio García González**

Tutor: MV. Enrique Pardo Cobas MSc.

**Septiembre, 2005
Camoapa, Nicaragua.**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
SEDE CAMOAPA**

CARTA DEL TUTOR:

Considero que el presente trabajo titulado Utilización de la Propolina en el Control de la mastitis bovina en la finca el carmen del el Municipio de Camoapa Departamento de Boaco. Reúne todos los requisitos para ser presentado como trabajo de tesis.

Los diplomantes. Claudia Carolina Flores Marengo. José Antonio García González desarrollaron, un extenso análisis del comportamiento de la propolina en el control de la mastitis en dicho Municipio, que sin lugar a duda dará pautas al desarrollo pecuario de la zona.

Felicito a los sustentantes por su excelente trabajo desarrollado, por su dedicación e interés y por su gran esfuerzo en la realización de este trabajo.

Atentamente



MV Enrique Pardo Cobas MSc.
Tutor

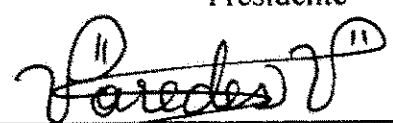
Esta tesis fue aceptada, en su presente forma, por la Universidad Nacional Agraria Sede Camoapa y aprobada por el tribunal examinador como requisito parcial para optar a grado:

MEDICO VETERINARIO

Miembros del Tribunal Examinador:



Dr. Lázaro Morejon Aldama
Presidente



Dra. Varinia Paredes
Secretario



Dr. German Pérez Barrera
Vocal

TUTOR:



MV. Enrique Pardo Cobas MSc.

SUSTENTANTES:



Claudia Carolina Flores Marengo.
Estudiante



José Antonio García González
Estudiante

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis a DIOS por haberme dado inteligencia perseverancia para lograr concluir mi carrera

A mi madre Felipa Marengo por darme su apoyo incondicional por estar conmigo en los momentos más difíciles de mi vida y que con mucho esfuerzo y sacrificio logro que alcanzara una de mis metas.

En memoria de mi padre y abuelita

Enrique Antonio Flores olivar por haber sido un excelente padre y amigo.

Claudia Miranda por haber sido como mi segunda madre y darme sus buenos consejos y muestras de cariño

A mi hija

Claudia Karolina Sándigo Flores por ser el pilar que me sostiene la razón de mi vida y la fuerza para seguir adelante y alcanzar todas mis metas.

A mis hermanos

Francis del Carmen, Rafael Enrique, Oswaldo José Flores Marengo

Claudia Carolina Flores Marengo.

AGRADECIMIENTO

Al Dr.: Enrique Pardo Msc. Por su tutoría en este trabajo de tesis.

Al Dr.: Lázaro Molejón Aldama por sus consejos y aportes brindados.

Al Ing. Luis Hernández por sus aportes brindados

Lic. Miriam Aragón de Morales por sus consejos oportunos.

A todo el personal docente que contribuyo a mi formación profesional.

Al Sr.: Juan Carlos García por habernos facilitado los animales por que sin ellos no hubiera sido posible este estudio.

Claudia Carolina Flores Marengo.

DEDICATORIA

Dedico la culminación de mi trabajo a **DIOS** por haberme dado ,la vida la inteligencia la sabiduría y a los mejores padres del mundo , gracias a su apoyo logre romper todos los obstáculos que se me presentaron en el transcurso de mi tesis.

Con todo el corazón le dedico a mis preciosos padres Maria Danelia González Corea y José Antonio García Marín este valioso y maravilloso trabajo que gracias a su inmenso amor y cariño me llenaron siempre de fe y confianza para hacer realidad mi sueño de coronar mi carrera

A mis hermanas Narfaelia del Carmen García G. y Anayra Auxiliadora García G. por todo el apoyo , cariño , y paciencia que me brindaron siempre en el transcurso de mi vida

José Antonio García González

AGRADECIMIENTO

Le agradezco de manera muy especial Dr: Enrique Pardo Cobas por su inmenso apoyo e idea para elegir un precioso tema y aceptar tutoriarno en el transcurso de nuestra tesis.

Al Dr: Lázaro Morejon Aldama por su valiosa enseñanza, consejos y su incondicional apoyo.

Al Dr: German Pérez por todo el apoyo y disposición y paciencia que tuvo para enseñarnos.

Al Ing: Luis Guillermo Malueño le agradezco mucho el apoyo que nos brindo en el transcurso de nuestro trabajo.

Al Dr: Otilio González Obando por todo el apoyo que me brindó durante los 5 años de la carrera.

José Antonio García González

Indice.

Lista de tablas	iv
Lista de grafico	v
Lista de anexo	vi
Lista de figuras	vii
Resumen	viii
I. Introducción.	1-2
II. Objetivos.	
2.1. Objetivos generales	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. Hipótesis.	4
IV. Revisión bibliografía	
4.1. Conceptos generales	5
4.2. Propiedad físico químico de la leche	6
4.3. La producción de leche en Nicaragua	8
4.4. Tipos de mastitis	9
4.5. Forma de manifestación de la mastitis	10
4.6. Desarrollo de la enfermedad	11
4.6.1. Invasión del pezón	12
4.6.2. Establecimiento de la infección e inflamación de la ubre dañada	12
4.6.3. Destrucción del tejido alveolar	13
4.7. Microorganismos causantes de la mastitis	13
4.8. Transmisión de varios tipos de microorganismos de la mastitis	14
4.9. Factores que afectan el número de células somáticas en la leche	16
4.9.1. Ganado enfermo	17
4.9.2. Muestreo	17
4.9.3. Edad de la vaca	17
4.9.4. Estado de lactación	18
4.9.5. Stress	18
4.9.6. Frecuencia del ordeño	18
4.9.7. Época del año	19

4.9.8. Tamaño del hato	19
4.10. Detección	19
4.10.1. Conteo de células somáticas y su relación con pérdidas en la producción	19
4.10.2. Bacterias en la leche	20
4.11. Detección en vacas individuales	21
4.11.1. Examen físico de la ubre	21
4.11.2. Aspecto de la ubre	21
4.11.3. Prueba para el diagnóstico de mastitis	21
4.12. Enjuiciamientos de resultados por el método CMT	24
4.13. Pérdidas económicas que ocasiona la mastitis	25
4.14. Evidencia científica del propolio desde el punto de vista médico	26
4.14.1. Apiterapia y los principales recursos que ofrece	26
4.14.2. Propiedades antimicrobianas	27
4.14.3. Antibacteriana	27
4.14.4. Antiviral	28
4.14.5. Cicatrizante y antiinflamatorio	29
4.14.6. Inmunomodulador	30
4.14.7. Propiedades antiinflamatorias	30
4.14.8. Toxicología	31
4.15. Como cosechan y procesan el propolio las abejas	32
4.15.1. Métodos de cosecha	33
4.16. Producción de propóleos	34
4.17. Limpieza, almacenamiento y conservación	35
4.18. Es importante	36
V. Materiales y métodos	
5.1. Ubicación del experimento	37
5.2. Descripción de la finca	37
5.2.1. Manejo y alimentación de los animales	37
5.3. Manejo del experimento	38
5.3.1. Diseño experimental	38
5.4. Modelo estadístico	38
5.5. Variables a evaluar	39
5.5.1. La afectación de mastitis se codificó en las siguientes categorías	39
5.5.2. Prevalencia	39
5.6. Análisis estadísticos	41
5.7. Procedimiento	41
5.7.1. Inspección clínica de las glándulas mamarias	41
5.7.2. Pruebas de diagnósticos individual	41
5.7.3. El muestreo	42

5.7.4. Manejo y codificación de la información	42
5.7.5. Instrumento y reactivos utilizados	43
5.7.6. Desarrollo	43
5.7.7. Prueba de California	43
5.7.8. Preparación de los tratamientos	43
5.7.9. Aplicación de tratamiento	44
VI. Resultados y discusión	
6.1. Prevalencia de la mastitis en las vacas examinadas	45
6.2. Prevalencia de la mastitis por cuartos afectados	46
6.3. Efectividad de los tratamientos	47
6.4. Costos económicos	49
VII. Conclusión	51
VIII. Recomendaciones	52
IX. Bibliografía	53

LISTA DE TABLAS

TABLA N°.	pag
Tabla N° 1. Cambios en la concentración de algunos componentes de la leche asociados con altos valores de RCS	7
Tabla N° 2. Tipos de mastitis y sus síntomas	9
Tabla N° 3. Signos de la inflamación de la glándula mamaria	10
Tabla N° 4. Fuentes más comunes (de la de mayor a menor prevalencia) y formas de diseminación de las bacterias más comunes Productoras de mastitis	14
Tabla N° 5. Relación entre conteo de células somáticas (CCS) medido en la leche del tanque a granel, pérdida de la producción y prevalencia de las mastitis subclínicas en el hato	18
Tabla N° 6. Enjuiciamientos de resultados por el método CMT	21
Tabla N°7. Reacción a la prueba de mastitis (CMT) de la leche bovina.	41
Tabla # 8. .- Prevalencia de la mastitis por cuartos afectados	42
Tabla # 9. - costo de la dosis de propolina y la unificlina 200 LA	45

LISTA DE GRAFICOS

	Pag.
Grafica # 1 Efectividad de los tratamiento según el tiempo	47

Lista de anexos

pag.

1. Mapa del municipio de camoapa
2. Protocolo de diagnóstico de los tratamientos

57

58

Lista de figuras	pag
Figura 1: despunte del pezón	60
Figura 2: toma de las muestras de cada cuarto	60
Figura 3: adición de reactivo a la muestra de leche en igual volumen	61
Figura 4: movimiento circular de la muestra durante 20segundos	61
Figura 5: aplicación de tratamientos testigo	62
Figura 6: aplicación de propolina al 1.5%	62
Figura 7: aplicación de propolina al 3%	63

Flores M,C. Garcia G.J:A. 2005. Utilización de la propolina en el control de mastitis bovina en la finca el carmen del Municipio de Camoapa departamento de Boaco. Tesis para optar al Título de Medico Veterinario Camoapa, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. Sede Camoapa.

Palabras Claves: prevalencia, cuartos, propolina.

RESUMEN.

El presente estudio se realizó con el objetivo de la utilización de la propolina en el tratamiento de la mastitis bovina en el Municipio de Camoapa Departamento de Boaco. El municipio de Camoapa esta ubicado en la parte sudeste del departamento, su extensión territorial es de 1,478 Km² siendo el de mayor extensión territorial del departamento de Boaco, limita al norte con el departamento de Matagalpa y el municipio de Boaco, al sur con Chontales, al este con la RAAS y al oeste con el municipio de San Lorenzo. La zona donde se encuentra ubicado corresponde a una parte ondulada y baja que se extiende descendiendo hacia la llanura aluvial del Caribe, con predominancia de una cultura productiva ganadera y donde la tenencia de la tierra está orientada hacia haciendas de ganadería extensiva. El trabajo experimental se utilizara un diseño completamente al azar (D.C.A) el que estará compuesto por un lote de 30 animales divididas en 3 grupos, cada grupo formado por 10 animales seleccionadas al azar y sometidas a tratamientos distintos **Tratamiento I:** Tratamiento testigo, Uso de Uniciclina 200 LA . **Tratamiento II:** Solución al 1.5% de propolina. **Tratamiento III:** Solución al 3% de propolina. Existe una prevalencia de la mastitis en el hato del 73% de esto el 71% de mastitis subclínica y el 2% de mastitis clínica, y el 27% resultado negativo. EL cuarto más afectado fue el anterior derecho (AD) el 75.8. % reaccionaron positivos. Los tratamientos 1 y 2 tuvieron las mejores respuestas en el control de la mastitis, con un porciento de efectividad del 60%. A través del análisis de costos, se determinó, que es económicamente factible la utilización de la propolina en el control de la mastitis.

I.-INTRODUCCION.

Nicaragua como país en vías de desarrollo atraviesa serios problemas en cuanto a la alimentación de la población; trayendo como consecuencia la desnutrición, problemas sanitarios y altas tasas de mortalidad infantil, causado por el elevado costo y bajo producción per cápita de alimentos básicos como es la leche.

La leche es uno de los alimentos de mayor importancia por su composición y consumo. Forma parte de la dieta diaria humana **Medina (1967)**. Esta constituye un producto básico en la alimentación y que por su notable combinación de elementos alimenticios representa un producto perfecto para el hombre en forma satisfactoria que cualquier otro alimento natural, y cada día aumenta su demanda, al grado que actualmente es una preocupación de los productores, la búsqueda de alternativas para producir más y atender esas demandas (**Castillo 1978**).

La producción lechera se ve seriamente afectada por diversos factores como: Factores genéticos, climáticos y sanitarios, entre otros. De los padecimientos sanitarios, por su frecuencia y relevancia económica, la mastitis es considerada una de las enfermedades más importantes, por ser infectocontagiosa y por los considerables daños económicos, causados por la disminución en el rendimiento, calidad de la leche y el incremento de los costos de la producción por los gastos en su tratamiento. Desde el punto de vista económico la mastitis reduce el rendimiento y acorta la vida productiva de las vacas afectadas (**Etgen y Reaves 1989**).

La mastitis es una enfermedad de todo hato lechero y se presenta en cualquier condición de manejo. Es una enfermedad particular por sus diversas causas de origen y manifestación, siendo muy difícil de detectar, principalmente en su fase subclínica. Al respecto, **Cordero y Salas (1994)**, consideran que los animales subclínicamente enfermos sufren una disminución de la producción y la leche que se produce es de menor calidad higiénica.

Además conociendo el estancamiento que confronta el sector pecuario que se ha caracterizado por el alza indiscriminada de los insumos médicos veterinarios, se hace necesario la búsqueda de alternativas económicamente accesible a los productos, que demuestren eficacia en la practica y capacidad para biodegradarse evitándose él cúmulo de residuos tóxicos en los alimentos y en el medio ambiente. Una de estas alternativas es el propolio.

El problema a investigar consiste en determinar si es factible utilizar la propolina como bactericida natural en el tratamiento de la mastitis, sin causar daños y paralelamente reducir los costos en dicha actividad.

II.-OBJETIVOS.

2.1.- Objetivo general.

Utilización de la propolina en el tratamiento de la mastitis bovina en la finca el carmen del Municipio de Camoapa Departamento de Boaco.

2.2.- Objetivo específico.

1.- Determinar la prevalencia de mastitis subclínica y clínica en el hato de la finca el carmen del Municipio de Camoapa Departamento de Boaco.

2.- Determinar el efecto de la propolina en el tratamiento de la mastitis bovina en la finca el carmen del Municipio de Camoapa Departamento de Boaco.

3.- Evaluar los costos del tratamiento de la propolina vs tratamiento químico en la finca el carmen del Municipio de Camoapa Departamento de Boaco.

III.- HIPÓTESIS.

Ho: La propolina tiene efecto significativo en el control de la mastitis

Ha : La propolina no tiene efecto significativo en el control de la mastitis

IV.- REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.

4.1. Conceptos generales.

Mastitis o Mamitis. Es el proceso inflamatorio que sufre el tejido glandular mamario causado por varios factores, destacándose entre ellos, los físicos, mecánicos y los infecciosos **(Pijoan y Tortora 1986).**

También se define al proceso como la inflamación de la glándula mamaria casi siempre causada por infección con patógenos bacterianos o micóticos, destacándose como factores predisponentes la época, higiene durante el ordeño, máquinas de ordeño defectuosas, manejo erróneo del ordeño, lesiones y úlceras en las tetillas y poblaciones de patógenos en el medio ambiente. **(Merck y Col 1994).**

La inflamación de la glándula mamaria es una afección de importancia económica en los bovinos porque como consecuencia del proceso inflamatorio se producen cambios patológicos de diversa intensidad que alteran profundamente la calidad y cantidad de leche producida.

La mastitis de los bovinos es una enfermedad extendida por todo el mundo siendo mayor problema en explotaciones lecheras que en ganado de doble propósito.

(Mateus 1983).

La mastitis constituye una de las enfermedades más importantes de la ganadería lechera. La importancia radica en su amplia difusión y las enormes pérdidas económicas, debido a la disminución en el rendimiento de las vacas, su desecho prematuro, así como el empeoramiento de las características biológicas y tecnológicas de la leche, los gastos para el tratamiento de los animales afectados etc.

Además la mastitis tiene importancia desde el punto de vista de la salud humana, ya que gran parte de los gérmenes causantes de esta enfermedad son patógenos para el hombre. **(Callejas 1998).**

Leche. Producto natural de secreción de la glándula mamaria de vacas sanas, obtenida por ordeños completo, después del tercer día del parto (**Revilla 1996**).

Leche cruda. Es la leche entera, en su condición natural que no ha sido sometida a la acción de calor (**Revilla 1996**).

Leche entera. Es la leche que mantiene sus componentes originales, y también se le conoce como leche integral.

4.2.- Propiedades físico- química de la leche

Sabor: La leche fresca normal tiene un sabor ligeramente dulce debido, principalmente, a su alto contenido de lactosa; El sabor de la leche al final de la lactancia es ligeramente salado, debido al aumento de cloruros. También la leche puede absorber el sabor de los alimentos, del medio ambiente, del equipo y utensilios usados o generados a partir de la misma leche.

Olor: La leche recién ordeñada tiene un ligero olor al medio ambiente donde es obtenida, pero luego este aroma desaparece.

Color: La leche es un líquido blanquecino, ligeramente amarillo y opaco. Su color se debe principalmente, a la dispersión de la luz por las micelas de fosfocaseinato de calcio. Los glóbulos grasos dispersan la luz pero contribuyen muy poco al color blanco. El caroteno y la riboflavina son los responsables del color amarillo de la leche de algunas razas de vacas o especie animal.

Viscosidad: La viscosidad de la leche esta dada por el grado de resistencia a fluir, o sea que es el coeficiente de frotamiento entre las moléculas. La viscosidad, aumenta con la disminución de la temperatura, el incremento del contenido graso, el proceso de homogenización, fermentación ácida y el envejecimiento o maduración.

Calor específico: El calor específico de la leche varía según la temperatura en la que se encuentre; ejemplo: leche con 0° C contiene un calor específico de 0.92, 15° C es de 0.94, de 40° C es de 0.93. El calor específico es necesario para determinar la cantidad de energía requerida al enfriar o calentar la leche de una temperatura a otra.

Punto de congelación: La leche se congela a 0.54° C en promedio, pero puede variar entre 0.53-0.57° C, en casos extremos puede llegar a 0.50-0.61° C. El punto de congelación se utiliza para detectar adulteraciones con agua; ya que la adición de esta aproxima a 0° C el punto de congelación.

Punto de ebullición: La leche hierve a 100.17° C, a nivel del mar, debido a las sustancias solubles que posee.

Gravedad específica: Es el peso de un líquido o sólido a una determinada temperatura comparado con el peso de un volumen igual de agua, a la misma temperatura. La gravedad específica de la leche es de 1.032.

Reacción química: La leche normal se comporta como un compuesto anfoterito, lo que significa que puede comportarse como base y como ácido. El pH de la leche normal es de 6.5 y 6.7; la leche con pH de 6.8 o mayor se considera proveniente de una ubre con mastitis, si la leche tiene un pH de 6.4 o menor es posible que contenga calostro o que este ácida por la acción microbiana. (Revilla 1996).

Tabla N° 1. Cambios en la concentración de algunos componentes de la leche asociados con altos valores de RCS

Componentes	Leche Normal %	Leche con Altos Valores de RCS %
Grasa	3.5	3.2
Lactosa	4.9	4.4
Proteína Total	3.61	3.56
Caseína Total	2.8	2.3
Suero	0.8	1.3
Albúmina	0.02	0.07
Lactoferina	0.02	0.10
Inmunoglobulina	0.10	0.60
Sodio	0.057	0.105
Cloro	0.091	0.147
Potasio	0.173	0.157
Calcio	0.120	0.04

www.ordemex.com.mx/mastits.html

4.3. La producción de leche en Nicaragua

La producción nacional de leche ha permanecido estancada entre 150-170 millones de litros anuales en los últimos 10 años. Esta tiene por característica su alta estacionalidad, ya que la mayor oferta de leche se concentra en los 6 meses del período lluvioso, que transcurre de junio a noviembre, cuando se produce el 66.5% de la producción anual.

Históricamente el país ha reportado una escasez de leche en la época seca, en los meses de Enero a Mayo, debido a la falta de precipitaciones que va desde Noviembre a Mayo y el período de pariciones de la vaca que aumenta a partir del mes de Abril.

Otro factor que influye es la trashumancia practicada por los ganaderos de la zona central en la época seca, para aprovechar la disponibilidad de pasto verde en la zona montañosa de mayor precipitación, donde no hay caminos de penetración lo que duplica las dificultades de la entrega de la leche.

En la época lluviosa la producción de leche experimenta un aumento, haciendo bajar mucho el precio de la leche pagado al productor y también la demanda del producto lácteo (Cajina 1993).

De acuerdo con lo anterior en el mes de Junio de cada año se produce lo que se conoce como "el golpe de leche" denominado así por el incremento en la disponibilidad de este producto a partir de este mes. Esto provoca a su vez, una marcada fluctuación en el acopio de leche (MAG 1994).

4.4.- Tipos de mastitis

La mastitis se puede presentar bajo formas distintas: Aguda, gangrenosa, crónica y subclínica (Etgen y Reaves 1989), la tabla a continuación muestra tipos y su sintomatología:

Tabla N° 2. Tipos de mastitis y sus síntomas

Tipos de Mastitis	Sintomatología
Aguda	Cuartos calientes, dolorosos e hinchados; vacas con falta de apetito, alta temperatura y leche con escamas, fragmentos, coágulos o sangre.
Gangrenosa	Cuartos fríos al tacto, con coloración azulada, la vaca pierde uno de sus cuartos mamarios.
Crónica	Ataques repetidos que causan induración de la glándula, la cual se siente con la palpación, la leche contiene escamas, fragmentos o coágulos
Subclínica	No son evidentes síntomas clínico y el diagnóstico puede alcanzarse por selección de leucocitos.

4.5. Formas de manifestación de la mastitis

Los signos de la mastitis que se manifiestan en las vacas lecheras, van de leves a severos, algunas veces no hay signos visibles, este tipo de manifestación se denomina "subclínica" y se destacan por cambios en los constituyentes de la leche (Winkler y col 1987). La leche parece como normal, la ubre no esta inflamada y sin ningún cambio morfológico en apariencia; pero los constituyentes de la leche se alteran teniendo un mayor número de células como leucocitos y células tisulares; menor cantidad de caseína, lactosa, grasa, un aumento de lipasa, sodio y cloro. Estos cambios indican mastitis y también reducen el valor de la leche. Además los cambios en los constituyentes, usualmente se hallan bacterias patógenas.

Las pérdidas de leche y de ganancias debido a las mastitis clínicas son obvias, la producción de leche cae en forma abrupta y la leche de las vacas tratadas con antibióticos debe ser descartada durante tres o cuatro días. Además, mucho más leche se pierde debido a mastitis subclínicas debido a que: www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

- La gran mayoría de los casos son subclínicos (en promedio, por cada caso clínico, existen de 20 a 40 subclínicos);
- La reducción en la producción de leche debido a mastitis subclínica tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas.

La presencia de mastitis subclínica puede determinarse realizando pruebas de leche para ver los cambios que ha sufrido. Si la reacción inflamatoria es suficientemente grave se puede notar cambios. Esta contiene escamas o tapones de desechos tisulares debido al daño tisular o la leche puede ser delgada o acuosa lo que indica que están dañadas las células secretoras de leche.

Algunas reacciones son suficientemente severas como para producir el aumento de volumen del cuarto afectado. Además de la inflamación hay evidencia de dolor y esta caliente. En la leche de la glándula enferma también se encuentran los gérmenes que la han afectado.

Por eso gran parte de los exámenes que se realizan para diagnosticar la mastitis se basa en el examen de la leche, es decir en el descubrimiento de sustancias y células anormales en la leche. Otro signo clínico importante es la inflamación de los ganglios mamaros (retromamaros).

Frappe (1982), reitera que cuando la mastitis llega a su periodo óptimo es fácil de ser diagnosticada, pues la glándula mamaria es un órgano accesible al examen clínico. En ella se puede observar los cinco signos de la inflamación: Tumor, Calor, Rubor, Dolor y alteración funcional de la glándula mamaria.

Los signos de la inflamación se describen en la siguiente tabla:

Tabla N° 3. Signos de la inflamación de la glándula mamaria

Signos de la Inflamación	Sintomatología
Tumor	Existe presencia de exudado, glándula inflamada, turgente y endurecida.
Calor	Cambio de temperatura de la glándula con el resto de la piel del animal.
Rubor	Presenta pelos finos y cortos que recubren la ubre del animal.
Dolor	Incomodidad del animal al tocar la glándula o tratar de ordeñarlo.
Alteraciones Funcionales de la G M	Alteración de la leche tanto en cantidad como en composición.

4.6. Desarrollo de la enfermedad

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

www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

4.6.1. Invasión del pezón

El pezón en sí es la primera **línea de defensa** contra la penetración de bacteria 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 e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanente-mente abierto. Los organismos del ambiente (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 parcialmente el canal. (www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23)

4.6.2. Establecimiento de la infección e inflamación de la ubre dañada

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 moviéndose 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. www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

4.6.3. 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 encerrada hace que las células secretoras pasen a una etapa de descanso (sin producir) y el alveolo comienza a reducir su tamaño. Las sustancias liberadas por los leucocitos conducen a una destrucción completa de las estructuras alveolares, que son reemplazadas por tejido conectivo y cicatriza. La destrucción del tejido secretor de leche es, en efecto, la **tercera línea de defensa** de la vaca para mantener a 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.

www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

4.7. Microorganismos causantes de la mastitis

La mastitis de origen infeccioso son causadas por bacterias y se ha encontrado que por lo menos 26 microorganismos pueden causar la enfermedad. A continuación se detalla los nombres de algunas de esas bacterias, ordenadas en cinco grupos:

1. *Los Streptococcus: S. agalactiae; S. dysgalactiae; S. uberis y S. zooepidemicus.*
2. *Los Staphylococcus: S. aureus y S. epidermidis.*
3. *Bacterias Coliformes: Escherichia coli; Enterobacter aerogenes; Klebsiella pneumoniae y pseudomona aeruginosa.*

4. Microorganismos que causan enfermedades específicas: *Listeria*; *Brucella*; *Leptospira*; *Rickettsia* y *Salmonella*.
5. Otros Agentes infecciosos: *Mycoplasma californicum*; *Nocardia sp*; *Clostridium perfringens* y *Spherophorus Necróphorus*. (Mateus 1983).

Harmon. R. J. (2003) la infección de la glándula mamaria causada por bacterias patógenas, tiene como resultado un decrecimiento en la producción de leche, así como también cambio en la composición química, los cuales varían en dependencia de la intensidad y duración de la infección.

4.8. Transmisión de varios tipos de microorganismos de la mastitis

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, etc.). 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.

Streptococcus agalactiae

El *Streptococcus agalactiae* es la causa más común de infecciones subclínicas pero muy rara vez produce una severa enfermedad (mastitis aguda). Este organismo vive en la ubre de la vaca y sobrevive solamente un corto período de tiempo por fuera de la glándula mamaria. Se disemina principalmente durante el ordeño por medio de la máquina de ordeño, las manos contaminadas del operador, materiales (tela) utilizados para lavar la ubre.

Este organismo puede infectar también la ubre de una ternera joven si ha sido alimentada con leche contaminada. La infección permanece en forma indefinida en la glándula mamaria de la novilla. EL *Streptococcus agalactiae* puede ser erradicado del hato con un tratamiento apropiado combinado con buenas prácticas de manejo. Aún así, se puede llegar a diseminar fácilmente en el hato luego de la compra de un animal infectado.

Estos organismos se encuentran en la cama (especialmente camas orgánicas: paja, aserrín, etc.), aguas estancadas y tierra. Pueden encontrarse también en la piel de la vaca (pezón y abdomen) y en los órganos reproductores. Estos organismos son generalmente transferidos desde el medio ambiente al pezón entre los ordeños, pero algunas transferencias pueden tener lugar durante el ordeño. Estos organismos no pueden ser eliminados del hato debido a que son parte normal del medio ambiente. El grado de infección de estas bacterias tiende a incrementarse cuando las condiciones favorecen su crecimiento, por ejemplo, durante los meses húmedos del año. El *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* son responsables también por la mayoría de las mastitis que se presentan ya sea al comienzo o al final del período de seca. Además de estas dos especies de bacterias, existen muchos otros estreptococos ambientales (*Strep. bovis*, *Strip. fecalis*) que pueden causar mastitis.

Tabla N° 4. Fuentes más comunes (de la de mayor a menor prevalencia) y formas de diseminación de las bacterias más comunes productoras de mastitis

Tipo de bacteria	Porcentaje de todas las infecciones	Causa primaria	Principales formas de difusión
Streptococcus agalactiae	> 40%	Ubre infectada	De cuarto a cuarto; vaca a vaca durante el ordeño
Staphylococcus aureus	30 - 40%	Ubre infectada, pezón lesionado	De cuarto a cuarto, vaca a vaca durante el ordeño
Streptococo ambiental	5 - 10%	Cama, materia fecal	Medio ambiente de la vaca
Coliformes	<1%	Materia fecal	Medio ambiente de la vaca

Bacterias coliformes

Las bacterias coliformes son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Los coliformes pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. A diferencia de las bacterias descritas previamente, los coliformes no se adhieren a los conductos y al alveolo de la ubre, en lugar se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio. Como resultado, las infecciones por coliformes conducen a mastitis clínicas agudas. La temperatura corporal de la vaca puede elevarse a 40°C y el cuarto infectado se inflama y se volverá sensible al tacto. Los mecanismos de defensa de la vaca pueden eliminar las bacterias de la ubre, pero las toxinas permanecen y la vaca puede llegar a morir. Las vacas libres de otras bacterias causantes de mastitis (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias coliformes.

www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

4.9. Factores que afectan el número de células somáticas en la leche

Se observó en un experimento de la Universidad de Kentucky, que en 4,213 muestras de leche que fueron negativas a crecimientos bacterianos, el promedio geométrico de las mismas fue de 29,000 células por ml. de leche. Se considera que conteos somáticos superiores a 200,000 células por ml. De la leche son una indicación de inflamación e infección del tejido mamario.

Existen varios factores que podrían afectar el número total de células somáticas en la leche, como son la edad de la vaca, los días en leche, stress, variaciones diurnas y vespertinas, así como variaciones de temporada, frecuencia del ordeño y por supuesto mastitis que es el factor más importante en la elevación de los ccs.

4.9.1. Ganado enfermo

Se ha observado en hatos con conteos muy elevados, que uno de los factores mas común es la de no detectar o no querer detectar ganado clínicamente enfermo de mastitis y enviar esta leche al tanque frío. La simple práctica de la taza de fondo oscuro realizada rutinariamente en cada ordeño, el informe del ganado de vacas enfermas y la separación inmediata de esa leche, será un factor que reducirá considerablemente el ccs elevado. Así como también colocar durante el ordeño una pezonera en algún cuarto casi seco, que produzca una muy pequeña cantidad de leche, pero con un elevadísimo ccs y al ordeñar esa secreción, ayudará irremediamente a la elevación del contenido celular en el tanque de enfriamiento.

4.9.2. Muestreo

La toma de la muestra de leche para realizar el ccs, Debe de ser después de agitar 15 minutos la leche del tanque frío y tomar la muestra de la parte superior de la leche, nunca de la parte inferior del tanque de enfriamiento.

4.9.3. Edad de la vaca

Vacas de edad avanzada y que no han estado infectadas de la glándula mamaria y/o que no han tenido lesiones en los pezones deben de mantener un conteo somático bajo. Aunque en las vacas adultas es común tengan conteos elevados por tener en su historial casos de mastitis. Los Drs. Philpot y Nickerson reportan que en un estudio se observó que vacas de la primera lactación, independientemente de la infección, tenían un promedio de 232.000 células por ml. de leche, mientras que vacas con mas de 7 años de edad tuvieron un promedio de 868,000 células por ml. de leche. (Winning the Fight Against Mastitis. W. Nelson Philpot, PhD. And Stephen Nickerson, PhD. Westfalia*Surge, Inc. 2000). Se podría considerar entonces un incremento de 100,000 células por cada lactación adicional. Se considera entonces, que al paso de la edad, hay una mayor exposición entre la glándula y el medio ambiente, estando mucho mas expuesta a los microorganismos causantes de mastitis. Algunas de las infecciones

pueden convertirse en casos crónicos, los cuales elevarán por consiguiente el total somático, por ejemplo las causadas por *Staphylococcus*.

4.9.4. Estado de lactación

Algo similar a la edad de la vaca, sucede con el estado de la lactación de la misma. Una infección presente va a influir altamente en el total de los conteos somáticos. En vacas sin infección hubo un pequeño incremento en los ccs al final de la lactancia, siendo un ligero aumento a 300 días en lactancia. Sin embargo, en vacas con mas de 300 días en leche y con infecciones leves, el promedio fue de 374 000 células y de 10 días fue de 31000 células en infecciones mayores.

Aunque se considera que un aumento en los ccs es normal al final de la lactación, se relaciona con un grado de infección en la ubre. Igualmente se considera, que al inicio de la lactancia, inmediatamente después del parto, debido al estrés del mismo y a la presencia del calostro se elevan los totales por vaca en los ccs.

4.9.5. Stress

Cualquier situación estresante para el ganado, como sería un día de tuberculización, calor excesivo, etc. Reducirá la producción láctea, y concentrará las células elevando por consiguiente el total de ccs por ml. de leche.

4.9.6. Frecuencia del ordeño

Cuando se acerca el período de secado de la glándula mamaria, existen ganaderos que van dando ordeños terciados a la vaca. En trabajos de experimentación, se observó que en casos de glándulas sin infección, el promedio de ccs era de 237,000 por ml. de leche y cuando se daba inicio al terciado de la glándula con un día que no se ordeñara el ccs se elevaba a 540,000 células. Si se dejaba un período de 4 días sin reordeñarse, el conteo se incrementaba a 7 600 000 o incluso en algunas vacas hasta 15 000 000 células por ml. de leche. Estos resultados nos demuestran que el secado debe de ser realizado abruptamente cuando la glándula llegue a una producción de cinco litros por día.

4.9.7. Época del año

Las condiciones climáticas regionalizadas tienen una influencia en el medio ambiente y por supuesto que ello repercute en los ccs debido al estado en que se encuentran los corrales en los diferentes hatos. La temporada de lluvias afecta directamente a estas condiciones ambientales y elevara por consiguiente, debido a un aumento en los microorganismos, los ccs a nivel individual y de hato.

Un buen trabajo por parte del ganadero se verá reflejado en los ccs a nivel hato. De lo cual, deducimos, que un ccs de tanque es un indicador del trabajo realizado por el responsable del hato.

4.9.8. Tamaño del hato

Los establos de elevadas producciones lecheras tienden a tener conteos más bajos que los establos pequeños.

4.10. Detección

4.10.1. Conteo de células somáticas y su relación con pérdidas en la producción

Más del 98% de las células somáticas que se encuentran en la leche provienen de las células blancas que ingresan a la misma en respuesta a la invasión bacteriana de la ubre. Un alto conteo de células somáticas se asocia con la pérdida de la producción de leche. Cuando la leche de todas las vacas en el hato se mezcla, como en el tanque a granel, el conteo de células somáticas en una muestra compuesta es un buen indicador de la prevalencia de la mastitis en el hato. Un conteo de células somáticas mayor de 200,000 células/ml indica la presencia de mastitis subclínicas. Los conteos de células somáticas por debajo de 400,000 células/ml son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no hacen un particular énfasis en el control de la mastitis. Los hatos que poseen un programa de control efectivo de la mastitis poseen en forma consistente conteos por debajo de las 100,000 células/ml. Conteos de células somáticas mayores de 500,000 células/ml indican que un tercio de las glándulas se encuentran infectadas y que la pérdida de leche debido a mastitis subclínica es mayor de 10%.

El conteo de células somáticas de una muestra compuesta no revela el tipo de infección, ni la identidad de las vacas infectadas.

Tabla N° 5. Relación entre conteo de células somáticas (CCS) medido en la leche del tanque a granel, pérdida de la producción y prevalencia de las mastitis subclínicas en el hato

Conteo de células somáticas	Cuartos infectados	Perdida de producción (%)	Mastitis subclínica
< 200,000	6%	0-5	Cerca de cero
200,000 - 500,000	16%	6-9	Unos pocos casos
500,000 - 1,000,000	32%	10-18	Diseminada
> 1,000,000	48%	19-29	Epidémica

4.10.2. Bacterias en la leche

Los cultivos de bacterias en la leche pueden ser útiles para cuantificar las bacterias e identificar los organismos causantes de mastitis y altos conteos de células somáticas. Con más frecuencia, una mezcla de diferentes tipos de bacterias es encontrada, pero algunas veces, una especie de bacteria puede predominar (Ej. *Strep. agalactiae*). Si los conteos bacterianos se encuentran elevados (>50,000 bacterias/ml), un cultivo puede proveer claves para la fuente(s) de contaminación. La presencia (o ausencia) de organismos específicos ayuda a formular recomendaciones para prevenir la difusión de organismos que se encuentran en el hato. Hatos bien manejados poseen conteos bacterianos de menos de 1,000 células/ml.

4.11. Detección en vacas individuales

4.11.1. Examen físico de la ubre

Los signos de mastitis aguda incluyen cuartos inflamados, con temperatura elevada y dolor al tacto. Los cambios en el tamaño y la presencia de tejido cicatrizal pueden ser detectados más fácilmente luego del ordeño, cuando la ubre se encuentra vacía. www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

4.11.2. Aspecto de la leche

La observación de los primeros chorros de leche permite la detección de leche anormal que debe de ser retirada del consumo. La leche anormal puede mostrar decoloración (aguado), descamaciones, o coágulos. Se debe tener la precaución, al remover esta leche de la ubre, de no salpicar esta leche contaminada en las patas, cola o ubre del animal. Además, el operador no debe de co-lectar estos primeros chorros de leche en la palma de su mano debido al riesgo de transferir bacterias de un cuarto a otro y de una vaca a otra. En los establos donde la leche se ordeña en el mismo lugar donde se alojan las vacas, la primera leche es volcada en una taza especial o plato.

En los echaderos de ordeño, puede ser volcada directamente al piso para ser lavada inmediatamente luego de ser evaluada.

www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

4.11.3. Prueba para el diagnóstico de mastitis

El diagnóstico temprano de mastitis es importante, debido a que una vez que se desarrolla con severidad la enfermedad es imposible que los medicamentos se pongan en contacto con los microbios después que todas las glándulas están afectadas y la inflamación ha cerrado los conductos, lo que trae como consecuencia pérdidas económicas irreparables (Stamm y Col 1995).

El diagnóstico de infección se basa en el cultivo e identificación del agente patógeno a partir de una muestra de leche tomada asépticamente. El descubrimiento del grado de infección de mastitis, subclínica, se debe a los resultados de ensayos diseñados para descubrir aumento en el recuento de leucocitario de la leche.

Estas pruebas están basadas en el examen de leche, considerando que el exudado característico de la inflamación, pasa a mezclarse con la leche, en ella se puede detectar las bacterias que producen la mastitis.

Prueba de california. La prueba california Mastitis Test (CMT), También conocida como prueba de Schalm para mastitis constituye un plan que se efectúa paso por paso con evidente éxito en el control de la mastitis subclínica (**Stamm y col 1995**).

Esta prueba esta basada en el hecho de que los leucocitos siempre se acumulan en el sitio de la inflamación y cuando la parte interna de la ubre se inflama, gran número de ellos son impulsados por la leche. La prueba de Schalm descubre el número de leucocitos existentes; en otras palabras descubre la gravedad de la inflamación con una exactitud sorprendente. Aunque es altamente sensible, la prueba es fácil de efectuar (**Stamm y col 1995**).

El propósito de la prueba CMT es poner de manifiesto el aumento del contenido leucocitario en la leche de vacas mastíticas, produciéndose la reacción debido a la liberación de ácido desoxiribonucleico (DNA) de las células, lo que es provocado por la acción del reactivo sobre el núcleo celular, provocando una gelinificación, cuya intensidad dependerá del volumen de DNA.

Se plantea que la prueba de california mastitis Test (CMT) es la prueba más rápida y segura que existe para determinar la enfermedad. Esta prueba utiliza como reactivo el alquil aril sulfonato, el cual reacciona con los leucocitos (Proteína de origen celular) contenidos en la leche produciendo un gel, además contiene indicador púrpura de bromocresol para determinar el pH (**Figuroa y col 1984**).

Por su parte **Cordero y Salas (1994)** indica que en zonas rurales la prueba mas usada para el diagnostico de la mastitis es el California Mastitis Test (CMT) conocido como prueba california para mastitis y en su realizaci3n se utiliza 2Cc del reactivo y 2Cc de leche. El reactivo contiene un detergente aniónico o jab3n de carga negativa y un colorante. El detergente tiene la funci3n de romper las c3lulas somática presente en la leche y al mismo tiempo reaccionar el ácido desoxirribonucleico que es liberado del núcleo. De este modo se forma una materia más o menos consistente dependiendo de la cantidad de c3lulas somáticas presentes en la leche.

El equipo usado para la prueba es sencillo, barato y fácilmente obtenible en las casas distribuidoras de productos veterinarios. Consiste en una lamina blanca de plástico con cuatro posillos pocos profundos y un reactivo llamado alquil aril sulfonato que tiene un indicador púrpura de bromocresol.

Para efectuar la prueba se extrae menos de una cucharada mediana de leche (5cc aproximadamente) de cada cuarto mamario y se deposita en cada uno de los posillos lo que da una muestra independiente por cada cuarto mamario. Inmediatamente se deposita en cada posillo una cantidad de reactivo igual a la cantidad de leche obtenida **Stamm y Col (1988)** se mezcla la lectura donde las reacciones positivas varían de un ligero precipitado a la formaci3n de un gel (**Frappe 1982**).

La leche positiva a la mastitis se vuelve viscosa a veces hasta la consistencia es parecida a la clara de huevo, con practicas se puede distinguir hasta cuatro grados de viscosidad.

4.12. Enjuiciamientos de resultados por el método CMT Tabla Nº 6

GRADO	Cuantificaci ón de la reacción	Reacción	Probable numero de células por ml de leche	Perdidas de Leche %
- Negativo	0	La muestra queda líquida sin ninguna alteración de consistencia	0 – 200,00 de ellas 0-25% de poli nucleares	Negativo 0%
± Dudoso	1	Aparición de grumos finos, que se disuelven al poco tiempo	150,000 – 550.000 de ellas 30-40% de poli nucleares	6%
+ Débilmente Positiva	2	Formación reforzada de grumos, sin que se llegue todavía a la gelificación. A veces es aun reversible	400,000 – 500,000 de ellas 40-60% de poli nucleares	10%
++ Claramente Positiva	3	Clara y rápida formación de mucosidad que se acumula en el centro del receptáculo cuando se le da un movimiento rotatorio. Si cesa el movimiento, se dispersa de nuevo	800,000 – 5,000,000 de ellas 60-70% de poli nucleares	16%
+++ Intensament e Positiva	4	Manifiesta gelificación con superficie convexa; el liquido no cae	Corrientemente, más de 5 millones; de ellas 70-80% de poli nucleares	20%

Figueroa y col (1984).

Existe alguna norma de clasificación de la mastitis subclínica: Cuando no hay gel en la muestra el resultado es negativo o sea el cuarto esta sano, pero si en la muestra aparecen trazas indica el inicio de la mastitis subclínica, la presencia de grumos o coágulos que desaparecen rápidamente demuestran que la mastitis subclínica ha avanzado.

La anterior forma de clasificación de mastitis subclínica reflejan que el grado uno dos y tres, son grados crecientes de mastitis subclínica que si no se tratan a tiempo llegan a una mastitis clínica.

4. 13.- Pérdidas Económicas que ocasiona la mastitis

Ciertas enfermedades de los bovinos causan altas pérdidas económicas y otras son causas de ineficiencia en la producción. Entre estas últimas tenemos las que causan retraso en el crecimiento y las que afectan la producción diaria de leche.

En la totalidad de las fincas no existen mucho control sobre las pérdidas ocasionadas por la mastitis y la mayoría de los estudios no hacen reporte de las mismas. Estas comprenden las pérdidas por reducción de la producción de leche, los gastos por tratamiento, el descarte de vacas y reducción de la vida productiva de las mismas.

El impacto de la mastitis va junto con la leche, más allá de las puertas de la explotación lechera. Los cambios en la composición de la leche (reducción de calcio, fósforo, proteína y grasa, e incrementos de cloro y sodio) reducen su calidad. Además, los antibióticos utilizados en el tratamiento de la mastitis son una preocupación industrial y de salud pública importante. La presencia de residuos de antibióticos en la leche interfiere con el proceso de fabricación de muchos productos lácteos (quesos y otros productos fermentados). Los sabores indeseables reducen el valor de los productos lácteos y la presencia de bajos niveles de antibióticos puede causar problemas de salud a los consumidores.

(Blood y col 1987).

Guerrero (1977) señala que los efectos clínicos y subclínicos de la mastitis reduce la producción de leche entre un 5-15% al respecto **Castillo (1978)** cita una pérdida aproximada de un 20% en la producción de leche.

4.14.- EVIDENCIA CIENTÍFICA DEL PROPÓLEOS DESDE EL PUNTO DE VISTA MÉDICO

4.14.1.- Apiterapia y los principales recursos que ofrece

Se conoce como Apiterapia "la disciplina médica que emplea los productos de la colmena para el tratamiento y la prevención de enfermedades". Miel, polen y jalea real son valiosos complementos nutricionales que a su vez poseen propiedades terapéuticas.

El Propóleo, ocupa lugar destacado dentro de la Apiterapia, capaz por si mismo de congregar especialistas de tantos países como en este Congreso o hasta el presente los principales usos que se han dado al propóleo se vinculan a la capacidad antimicrobiana, cicatrizante y antiinflamatoria (luego nos referiremos). Pero las propiedades que le reservan un espacio de trascendencia insospechada son la antioxidante, inmunoestimulante y la citotóxica, propiedades acerca de las cuales se informará en las secciones científicas. En los últimos años se ha reactivado el interés por el propóleo, debido al significado que han alcanzado los antioxidantes en la medicina preventiva. La potente capacidad antioxidante le permitirá al propóleo ganar espacios en la prevención de enfermedades de gran incidencia en la sociedad moderna como es la aterosclerosis, en particular el infarto de miocardio, principal causa de mortalidad. Importantes estudios epidemiológicos realizados en Europa y Japón muestran que las poblaciones con mayor consumo de flavonoides, principales componentes del propóleo, tienen menor mortalidad por enfermedad coronaria. (Hertog M, and col. Flavonoid ,1995)

4.14.2.-Propiedades Antimicrobianas.

La compleja composición le confiere al propóleo capacidad antibacteriana, antimicótica y antiviral.

4.14.3.-Antibacteriana:

Una de las primeras propiedades constatadas, múltiples estudios bacteriológicos in vivo e in vitro confirmaron su acción bacteriostática y bactericida. Entre los investigadores pioneros se destacan Kivalkina y Villanueva en Europa y Rojas en Cuba.

Los principales responsables de esta propiedad son los flavonoides galangina y pinocembrina y derivados de los ácidos benzoico, ferúlico y cafeico. El efecto antibacteriano se observa principalmente sobre los gérmenes gram positivos estafilococo dorado y estreptococo beta hemolítico, pero numerosas bacterias gram negativas también son sensibles entre las que se encuentran algunas cepas de *Pseudomonas* y *Proteus*.

En la Conferencia Internacional sobre: "Bee Products" realizada en Tel-Aviv en 1996, Tsuguo Yamamoto, (1996) presentó una síntesis sobre estudios realizados del propóleo en Japón. Refiriéndose a la capacidad antibacteriana, hizo referencia al trabajo de Nakano y col. del Hayashibara Biochemical Laboratories. Demostraron la acción antibacteriana de propóleos de origen brasileño ante el *Staphylococcus Aureus* Meticilino resistente, estableciendo que el componente responsable es un derivado del ácido cinámico, que posee una potencia entre 100 y 400 veces superior a los demás compuestos e incluso al propóleo total.

Yamamoto T (1996) evaluó la capacidad antimicrobiana de diferentes propóleos ante el *Helicobacter pylori*. Existe un cúmulo de evidencia que atribuye a esta bacteria la génesis de la gastritis, úlcera gastroduodenal e incluso el cáncer gástrico. Una muestra de origen Argentino demostró poseer la mayor capacidad ante esta bacteria, siendo el principal responsable los flavonoides: pinocembrina en primer lugar y luego la galangina y la crisina.

Durante la década del 70 y del 80 se estableció sensibilidad bacteriana y se determinó la diferente potencia antibacteriana de los propóleos considerando su origen. Centros de referencia mundial en los 90 comenzaron a investigar, utilizando métodos altamente sofisticados, comenzándose a conocer el mecanismo por el cual este producto natural ejerce su acción. Un estudio realizado en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford, publicado en *Microbiologie Research* . Gri. Mirzoeva OK shanin RN, (1996) informa que el ácido cinámico y algunos flavonoides desactivan la energía de la membrana citoplasmática, inhibiendo la motilidad bacteriana, haciéndola más vulnerable al ataque del sistema inmunológico y potenciando los ATP. Previamente se determinó que el propóleos desorganiza el citoplasma, la membrana citoplasmática y la pared celular causando bacteriolisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica.

4.14.4.-Antiviral.

En Francia los Dres. Amoros y Sauvager (1992); de la Facultad de Medicina de Rennes, confirmaron la acción virulicida frente al herpes tipo 1 y 2, pero también ante poliovirus. Establecieron que reduce la síntesis del ADN viral y que los responsables son flavonoides, que actúan en sinergismo con un éster del ácido cafeico y el ácido ferúlico . Otros investigadores han corroborado estos hallazgos. Dumitrescu M. Crisan I(1993). En Uruguay utilizamos el propóleos en cremas, apósitos y una "solución adhesiva" formulada para aplicar en mucosas. En los pacientes con herpes simple bucal o genital se acorta el período de estado, reducen las sobre infecciones, disminuye significativamente la molesta sintomatología local e incluso en muchos pacientes no vuelven a ocurrir recidivas. En estos pacientes empleamos el propóleos en forma tópica y sistémica, lo cual coadyuva por su acción inmunomoduladora. Otra tipo de patología viral que responde favorablemente al propóleos es el Herpes Zoster "culebrilla", patología con expresión cutánea, dolorosa de pobre respuesta a los tratamientos convencionales. Tratado precozmente en el período eruptivo, la remisión se acorta y se evita la neuralgia postherpética.

Los condilomas acuminados también responden a este producto. Este año fue publicado un estudio. Vynograd N, Vynograd I (2000), comparándola eficacia de propóleos con acyclovir y placebo en 92 pacientes con herpes genital recurrente tipo 2. Los autores concluyeron que el propóleos es más efectivo que acyclovir y placebo en la curación de lesiones herpéticas y reduciendo los síntomas. Acerca de la capacidad antiviral se referirán más profundamente los Profesores Park de Brasil y Hegazi de Egipto, quienes investigan en ese campo. Otro virus como el VIH también ha llamado la atención. Un grupo de investigadores del Albert Einstein College of Medicine de Nueva York, publicaron en (1997) un trabajo donde determinaron la capacidad del propóleos de suprimir la replicación del VIH-1 y su efecto inmunoestimulante.

4.14.5.- Cicatrizante y antiinflamatorio.

El propóleos ganó espacios importantes en el tratamiento de heridas, por su capacidad antibacteriana y por su notable capacidad cicatrizante y antiinflamatoria. Esto último es comparable a la de antiinflamatorios de síntesis como el diclofenac. Se señaló al ácido cafeico como responsable de inhibir la dihidrofolato reductasa, reduciendo la producción de interleuquinas y prostaglandinas. (Khayyal M, Ghazaly M Strehl E, Volpert R. 1993).

En 1996 fue publicado un trabajo elaborado en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford, los autores atribuyen esta acción del propóleos a un éster del ácido cafeico (CAPE), el ácido cafeico y a la quercetina. Mirzoeva O Actuando a nivel de los macrófagos suprime la producción de prostaglandinas y leucotrienos. Empleando modelos "in vivo" e "in vitro" constataron que el propóleos suprime la vía de la lipooxigenasa del ácido araquidónico. Este año fue publicado un trabajo realizado en el Departamento de Oftalmología de la Facultad de Medicina, Universidad de Celal Bayar en Turquía, empleando un modelo animal, la quemadura de cornea, concluyeron que el propóleos tiene un efecto antiinflamatorio comparable a la dexametasona $p > 0,05$...

4.14.6.-Inmunomodulador.

Diversos trabajos demuestran que el propóleo estimula la inmunidad inespecífica y la específica, tanto inmunidad celular (linfocitos T) como la humoral (linfocitos B). En ratones infectados con el virus influenza tipo A y tratados con propóleo, se constató un aumento de los linfocitos T, un mayor nivel de fagocitosis y una menor mortalidad, en comparación con animales testigo no tratados.

Los autores determinaron que se estimula la liberación del factor inhibidor de la migración de los leucocitos Neychev H, and col (1988). Durante el 1º Simposio Internacional sobre Apiterapéuticos, realizado en La Habana en 1991, se mostraron resultados positivos con el empleo de propóleo en pacientes con inmunodeficiencia. Uno de los grupos de investigadores cubanos evaluó su respuesta en niños con síndrome respiratorio alto o bajo recidivante y con inmunodepresión celular o mixta, lográndose primero una mejoría clínica y luego la normalización paraclínica. Se ha comprobado que el propóleo estimula la actividad de los macrófagos a casi el doble y aumenta el número de linfocitos incrementándose la respuesta inmune. (De Los Reyes Rodríguez, 1991).

4.14.7.-Propiedad antiasmática.

El propóleo se trata de un recurso terapéutico capaz de mejorar a muchos pacientes con asma, sin efectos secundarios. Nosotros lo utilizamos en jarabe o mezclado con miel. Su empleo permite reducir o retirar otro tipo de medicación. Los utilizamos solo o asociado a la medicación convencional (broncodilatadores). El efecto positivo en esta patología es atribuida a su acción sobre el sistema inmune, pero también por su capacidad de inhibir la liberación de histamina y a la antiinflamatoria (Miyataka H, Nishiki M. 1998)

Diversos usos. Se lo emplea con buenos resultados en amigdalitis y faringitis. Los profesionales de la voz son grandes consumidores de miel con propóleo, caramelos o jarabe. Pero este producto brinda resultados ventajosos en infecciones respiratorias altas en forma de colutorios o inhalaciones, solo o asociado a ATB (Miyataka H, Nishiki M. 1998)

Antioxidante En los últimos años ha tomado relevancia el consumo de antioxidantes, en especial los de origen natural, para la prevención de enfermedades de gran trascendencia como la aterosclerosis, reuma e incluso el cáncer. El Propóleo posee una potente capacidad Antioxidante, que le permite adquirir insospechables perspectivas de desarrollo. La trascendencia que asignamos a esta propiedad llevó a que en el Congreso se incluyera un Mini Simposio: Radicales Libres y Antioxidantes

Desde la década del 70 la Apiterapia ha ocupado espacios en Congresos, Simposios y Jornadas de apicultores en los 5 continentes. Las comunicaciones presentadas, en general han mostrado resultados favorables, incluso sorprendentes, llegando en algunos casos a parecer increíbles. A pesar de ello estos productos no han logrado la penetración deseable en la medicina convencional, por lo que debemos rever acerca de lo realizado hasta ahora. Creemos que están ocurriendo hechos favorables.

4.14.8.-Toxicología

Múltiples estudios realizados en el mundo han demostrado la buena tolerancia y la inocuidad de este producto natural administrado por vía oral, no lográndose establecer la dosis letal 50 por su alta tolerancia. (Lorenzo J y col. Lebeda D. 1984).

Estudios en animales y nuestra propia experiencia en la clínica nos permiten afirmar que este producto posee una capacidad hepatoprotectora.

4.15.- COMO COSECHAN Y PROCESAN EL PROPOLEO LAS ABEJAS

La recolección responde a un patrón específico de forrajeo, las pecoreadoras extraen propóleos de las yemas valiéndose de sus mandíbulas y con ayuda del primer par de patas. La secreción de las glándulas mandibulares ácido (10 - hidroxidecenoico) el ablandamiento para triturarlo y transportarlo a las cestillas. Al ingresar a la celda se dirigen inmediatamente al lugar donde éste es requerido y permanecen quietas permitiéndoles a las abejas propolizadoras tomar algunas partículas de las sustancias, comprimirlas y agregarles cera para proceder al propolizado.

Las abejas utilizan el propóleos para barnizar el interior de las colmenas con fines desinfectantes, cerrar grietas, reducir vías de acceso y conservar los componentes estructurales.

También es utilizado para recubrir los cadáveres enemigos que se hayan introducido en la colmena (escarabajos, roedores, etc.) Que quedan embalsamados evitando su descomposición. Esta propiedad del propóleos ya era conocida por los egipcios y los sacerdotes lo utilizaban para mantener los muertos.

Se considera que la costumbre que tienen las abejas de utilizar el propolio para protegerse de sus enemigos y para recubrir los interiores de las colmenas se remplace en la época en que vivían en estado salvaje en los bosques, en troncos de árboles y cuevas. Las distintas razas de abejas presentan peculiaridades a la recuperación o utilización del propóleos.

4.15.1.-METODOS DE COSECHA

Disponemos de dos grandes grupos.

1. Método artesanal o método de raspado

Para un adecuado raspado, retirar las alzas y cuadros al preparar las colmenas invernadas, ya que aprovechamos ese momento para confinar las colonias al menos espacio posible y el material excedente será transportado al taller del apicultor además en esa época la temperatura baja y facilita la separación del propóleos de manera y el estado regido de la resina limita la posible contaminación con trozos, madera, abejas y otros contaminantes microscópico.

Es recomendable utilizar una espátula de acero inoxidable, sin mucho filo para impedir el riesgo de arrastrar virutas de madera. Cuidar de no raspar donde hay pintura sobre la madera, pues esta es una de los mayores responsables de la contaminación de propóleos y es fácilmente detectable. Se debe realizar el raspado del propóleos que se encuentra en la superficie interior de la colmena. Tapa, cuadro y cajas, desechando el que se encuentra en el fondo, pues generalmente está muy contaminado.

La recolección se debe realizar con las manos y espátula libre de restos de miel o cualquier otra sustancia que pueda contaminar. Durante la cosecha, el propolio debe exponerse a la incidencia directa de los rayos solar evitándose su almacenamiento cerca de fuentes de calor como el ahumador. No debe mezclar la cera que se encuentra en la tapa, entre los marcos y sobre ellos.

Siempre debe evitarse que el propolio se compacte. Para lograrlo, el propóleos **colectado** no se debe comprimir con las manos para formar pelotas; contrario se debe mantener en forma de escama y / o trozos sueltos.

Los propóleos procedentes de diferentes zonas de recolección no se deben mezclar medios de transporte para trasladar la producción de propolio deben de estar limpio, seco, libre de combustible u otras sustancias tóxicas que le impregnan olores, sabores extraños que afectan la calidad del propóleos. Si las colmenas que fueron utilizadas para obtener propóleos se desean utilizar realizar trashumancia hacia otra zona de recolección.

Se debe raspar todo el producto en las partes interiores de la colmena inmediatamente antes o después que se efectue

2. Método técnico (internos y externos) o método de proceso dentro de los métodos

Dentro de los métodos técnicos en este fascículo solo describiremos lo impuesto en la región

.Mallas matrizadas de diferente procedencia (brasileñas, alemanas y otras)

.Mallas de tejido mosquitero plástico.

Recordar que no sirven las metálicas que contaminan el propóleo y las fibras de vidrio tienden a romperse en el primer intento de manipuleo. Las mallas de tejido mosquitero, es recomendable que sean blancas o de colores claros, evitar color negro (hasta no demostrar que este color no sea contaminante). Es útil conocer esta última forma simétrica sobre el ancho del alza y luego moverlas hacia el otro extremo, de tal modo que incentivamos a las obreras

4.16.-PRODUCCION DE PROPOLEOS

La cantidad de propóleos que produce una colmena depende del comportamiento pecoreador (de recolección) de resina de la colonia y de la vegetación circundante. *Apis mellifera* recoge mayor cantidad de resina de brotes de árboles, principalmente álamo, sauce, coníferas (ciprés, pino, thuya) pero también se destacan especies anacaguita, algarrobo, jarilla, acacia.

La bibliografía al respecto es escasa y, por lo tanto, la información resulta imprescindible pero podemos considerar que mediante los métodos tradicionales de raspado es la obtención de 100 a 200 gramos de propóleos anualmente, mientras se pueda alcanzar hasta 500 gr. . Con el método de mallas mejorando la calidad sin incrementar demasiado los costos de producción.

Si bien la calidad del propóleos depende del tipo de flora y del ambiente, es decir este sentido el trabajo del apicultor. La calidad del producto resultante estará directamente relacionada con los métodos de extracción y almacenamiento.

4.17.-LIMPIEZA, ALMACENAMIENTO Y CONSERVACION

El primer paso luego de obtenido el propóleos es la limpieza del mismo con una cuidando de retirar contaminantes microscópicos como abejas, trozos de madera pastos etc. Cuidar de retirar aquellos trozos de propóleos que puedan venir adheridas ya que esta es una de las principales fuentes de contaminación.

Es útil disponer de una bandeja de dimensiones apropiadas para depositar el propóleos mientras se procede a su inspección. Es conveniente que la bandeja sea de poco centímetro de altura, de material plástico o de madera, que este ubicado sobre mesa, apropiadamente iluminada para que el operario trabaje cómodamente.

Para que las propiedades del propóleos recogido no se pierdan o alteren, es recomendable acopiarlo en bolsas de plástico transparente, hasta su utilización. Se debe tener la precaución de no almacenar grandes volúmenes para evitar que se compacten desmereciendo significativamente la calidad del propóleos; es prudente guardar estas bolsas dentro de cajas de cartón, madera o un recipiente apropiado que lo proteja de la alta temperatura y especialmente de la luz. Otra posibilidad sería conservarla en frascos de vidrio de color ámbar.

En general si el propóleos recolectado se va a almacenar por largo tiempo, se debe concebir sometiéndolo a temperatura que oscile entre -10 y -20 durante horas. Se pueden utilizar los freezer de uso doméstico, siendo recomendable las cuatro estrellas o tropicales. Una vez retirado del mismo, no se debe dejar impulsar aire ya que tiende a condensar la humedad ambiente. Es conveniente cubrirlo con plástico (preferentemente incoloro) hasta que alcance la temperatura del lugar donde se conservara.

El almacenamiento se realizara en locales limpios, libres de roedores y plagas, ventilados; separándolo del piso y de las paredes. Nunca se debe almacenar el propóleos a la intemperie, ni cerca de fuentes de contaminación como son las acumulaciones de paneles viejos o materiales apícolas en desuso después de la cosecha si por alguna razón, y a pesar de las medidas de conservaciones aplicadas se determina fragmentos de propóleos atacados por polilla, el mismo se debe separar inmediatamente y destruirlo.

Posteriormente se debe inspeccionar el resto de las muestras para descubrir y en caso necesario cualquier otro foco de contaminación. A modo de seguridad muestra que presentó polillas se somete a congelamiento utilizando las condiciones previamente establecidas.

4.18.-ES IMPORTANTE

Si obtiene propóleos de raspados trate que no se mezcle con cera o con residuos de pintura .Trate que el producto permanezca en forma de escama o trozos evitándose se apelmacen .Los distintos tipos y calidad de propóleos deben empaquetarse por separado para su comercialización.

Almacene el propóleos en un sitio fresco, oscuro y seco, evitando la exposición directa a la luz solar, a tubos de neon, o a focos de gas a mercurio.

Evite la contaminación en el almacenamiento, no útiles sitios con polvo, lugares donde se depositen agroquímicos, o se enciendan motores acción combustible (tractores, autos, grupos electrogenos etc.)

www.estarinformado.com.ar

V.- MATERIALES Y METODOS.

5.1.- UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.

El Municipio de Camoapa esta ubicado en las Coordenadas 12° 23' de latitud Norte con 85° 30' de Longitud Oeste, con una altura sobre el nivel del mar de 200- 700 metro, una precipitación promedio entre 1200- 2000 mm, con una temperatura promedio 24-27°C.

5.2.- DESCRIPCIÓN DE LA FINCA.

La finca el Carmen esta ubicada en una zona húmeda y tiene un área de 600 mz divididas en varios potreros en donde se encuentran sembrabas 4 mz de caña de azúcar 3mz de Taiwán ,35mz de brachiaria decumbre y pastos naturales (india)

Anexo Pág. 58

POBLACIÓN ANIMAL

Categorías	Cantidad
Vacas horras	50
Vacas en producción	44
Vaguillas	15
Ternereras destetadas	2
Toretas	3
Terneros	44
Toros	2
Equinos	15
Total	175

5.2.1- MANEJO Y ALIMENTACIÓN DE LOS ANIMALES.

Incluye las actividades de ordeño manual con apoyo del ternero una vez/ día de 6 am a 7:30 AM. No realizan ninguna medida de higiene. Posterior al ordeño las vacas son alimentadas con Taiwán y caña de azúcar picada a una ración promedio por vaca de 25 lbs por vaca y a las 11: 30 AM se realiza el aparto .El sistema de manejo es tradicional. La reproducción se realiza por monta natural.

Entre las actividades de manejo sanitario se realizan baños para el control de ectoparásitos vacunación contra las enfermedades de ántrax y pierna negra cada 6 meses, y desparasitación y vitaminación.

Las enfermedades que más afectan el hato en vacas en producción es la mastitis y el tratamiento que aplican es la unicitlina 200 L.A y en terneros la enfermedad que más afecta es la diarrea y el tratamiento que utilizan es emicina 5cc por 2 días

5.3. - MANEJO DEL EXPERIMENTO.

5.3.1. - DISEÑO EXPERIMENTAL.

En el trabajo de investigación se utilizó un diseño completamente al azar (D.C.A) compuesto por un lote de 30 animales divididos en tres grupos de 10 cada uno seleccionados al azar y sometidos a tratamientos distintos **Tratamiento I:** Tratamiento testigo, Uso de Unicitlina 200 LA . **Tratamiento II:** Solución al 1.5% de propolina. **Tratamiento III:** Solución al 3% de propolina.

Anexo Pág. 59

5.4.- MODELOS ESTADÍSTICOS.

El modelo estadístico que se utilizo en el ensayo es un (DCA) diseño completamente aleatorio.

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \sum ij$$

Y_{ij} = Observación correspondiente a las variables.

μ = Media general de las variables evaluadas.

t_i = Efecto del i - esimo de los tres tratamientos sobre las variables evaluadas.

$\sum ij$ = Error experimental.

5.5. - VARIABLES A EVALUAR:

5.5.1.- La afectación de mastitis se codificó en las siguientes categorías:

0 = no afectación,

1 = Sospechosa/ dudosa,

2 = Débilmente positiva,

3 = Claramente positiva,

4 = Intensamente positiva.

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.

5.5.2.- Prevalencia

$p = d/n$ donde p = prevalencia, d = número de individuos que tienen la enfermedad y n = número de individuo; de una población en un tiempo y momento dado.

A) Prevalencia de mastitis subclínica y clínica en el hato

Para la determinación de esta variable se examinó de manera individual a cada una de las vacas en ordeño de la finca, las reacciones positivas se dividieron entre el total de las vacas examinadas y el resultado se multiplicó por cien para presentar los resultados de forma porcentual.

.FORMULA: $PM = NVP / TVE \times 100$

PM: Prevalencia de la mastitis

NVP: Numero de vacas que resultaron positivas a la prueba

TVE: Total de las vacas examinadas

B) Cuartos mamarios con mayor nivel de afectación a mastitis.

Para la determinación de esta variable se examinó de manera individual cada uno de los cuartos mamarios de las vacas en ordeño, en la finca bajo estudios. Las reacciones positivas se analizaron individualmente para cada cuarto mamario y posteriormente se realizaron las comparaciones porcentuales respectivas, para los grados de positividad, intensidad y negatividad con la siguiente fórmula.

$$PM = RPP/TCE \times 100$$

$$PM = RPA/ TCE \times 100.$$

Donde

PM = prevalencia de la mastitis.

RPP = relación positiva de los cuartos posteriores.

RPA = relación positiva a los cuartos anteriores.

TCE = total de cuartos examinados.

Controlador biológico

Propolina.

Controlador químico.

Uniciclina 200 LA.

Costos económicos.

Costo para la elaboración de la propolina para los distintos tratamientos.

Costo por aplicación = Costo de prep.. de la sol. (P 1.5% y 3%) + Depreciación de jeringa

Costo / lt = Costo de prep.. de la sol. / cantidad de solución (lt).

Costo de mano de obra = Pago del día / horas trabajadas.

Costo total = Costo por aplicación / costo de mano de obra.

5.6. - ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Todos los análisis de varianza así como las estimaciones de los parámetros de cada factor fueron realizados con el Statistical Analysis System (SAS) del Instituto NEW YORK, Versión 8 para Windows. Para ello se utilizó el procedimiento PROC CATMON con una función de modelo lineal reducido con factores principales para dos respuesta de la variable dependiente diagnóstico de mastitis CMT.

El análisis estadístico que se utilizó para analizar los resultados de los tratamientos fue por (Chi - Square) $p < 0.05$.

5.7. - PROCEDIMIENTO.

5.7.1.- Inspección clínica de las glándulas mamarias

Durante la prueba de diagnóstico individual, además de efectuarse el despunte en superficie oscura, se procedió a la inspección clínica cuidadosa de las glándulas mamarias, en cada caso para determinar mastitis clínica y el número de cuartos que han dejado de producir leche por la enfermedad.

5.7.2.-Prueba de diagnóstico individual

Para conocer la prevalencia de mastitis en el hato se efectuó una prueba de diagnóstico individual a todas las vacas en ordeño utilizando la prueba de California mastitis test (CMT), recomendada por **Cordero y Salas (1994)**, en donde se utilizó volúmenes iguales de reactivo y leche de cada cuarto mamario, previo despunte manual y eliminación de los primeros chorros.

El grado de infección por cuarto mamario, se considero de acuerdo al grado de gelificación, según lo indicado por **Figueroa y col (1984)**.

5.7.3.- El muestreo

Para llevar acabo el experimento se incluyo el 100% del hato en ordeño de ganado doble propósito de la finca el carmen.El muestreo se realizo cada 7 días por un periodo de un mes .mayo del 2004 , al momento del ordeño 6: 00am a 7 : 30a.m.

Durante el estudio se realizaron cuatro muestreo correspondiente a 7, 14, 21, 30 las que suman un total de 120 vacas y un total de 480 cuartos experimentados

5.7.4.- Manejo y codificación de la información

Se recolectaron en total ciento veinte muestras individuales correspondientes a cada cuarto de las vacas muestreadas. De los registros de cada vaca, se procedió a codificarlo de la siguiente forma:

De los números de parto (**NUMPA**) de las vacas se codificaron los 1, 2, 3, 4, 5.

Los periodos de lactancia (**PERL**) de las vacas, se codificaron tomando en consideración la duración de la lactación, periodo de puerperio, pico de lactancia, postpico, caída y en vía de secado, divididos cada uno en cuarenta y cinco días como sigue:

Número 1 de 0- 45 días.

Número 2 de 45-90 días.

Número 3 de 90-135 días.

Número 4 de 135 – 180 días.

Número 5 de 180 o más

Los cuartos de la ubre (**C**) se codificaron con números los que correspondían a la posición de cada cuarto.

1= Cuarto anterior derecho. (AD)

2= Cuarto anterior izquierdo (AI).

3 = Cuarto posterior derecho (PD).

4 = Cuarto posterior izquierdo. (PI)

5.7.5. Instrumentos y reactivos utilizados.

- Paletas de plástico con cubeta de 7 cm. de diámetro por 2 cm de alto.
- Dosificador.
- Solución para California mastitis Tes.

5.7.6. Desarrollo.

Una vez fijado los animales se procedió a la exploración clínica de las glándulas mamaria apreciando su conformación, implantación y equilibrio entre los cuartos, comprobando, este en los anteriores y posteriores. Se realizo el despunte de los cuartos individuales en los jarros de fondo oscuro. Se comprobó las características organolépticas de la leche (grumos, cambio de densidad, color).

5.7.7. Prueba de California.

Se tomaron muestra de leche (2 ml) individualmente de cada cuarto, en la paleta de diagnóstico. Se le adiciono igual cantidad (2ml) de reactivo de California. Se le dio a la paleta un movimiento circular de 20 segundos, y se procedió a la lectura de la reacción observando si existía grumo o gelinificacion, así como cambio del ph que lo identifica el color púrpura tomado por la muestra, la interpretación se hizo siguiendo lo indicado en la tabla # 8

Luego seleccionamos al azar los diez animales por tratamiento haciendo tres grupos identificándolos, llenar su historial clínico individual para tener estricto control de cada uno de ello.

5.7.8.- Preparación de los tratamientos.

Se utilizaron 20 gramos de propolion para 80 ml de alcohol al 70% para obtener una solución madre, se diluyó por varios días a una temperatura de 37 a 38° hasta disolver totalmente el propolio en el alcohol.

Luego se utilizó .100ml de la solución madre al 20% para 340 ml de agua destilada estéril y quedó la solución al 3% se mezclo en condiciones asépticas se envaso en frasco color ámbar de 100 ml sellado y rotulado, con todos los datos del producto.

Se realizaron los mismo pasos anteriores pero con 100 ml de la solución madre al 20% para 680 ml de agua destilada .para obtener una solución al 1.5%.

5.7.9. Aplicación de los tratamientos

Se lavó la ubre de las vacas con agua y jabón, posteriormente se secaron con toallas Para la aplicación de este tratamiento. Se utilizó una jeringa desechable por vaca afectada y las cánulas metálicas se desinfectaron con alcohol y este lo utilizamos también para desinfectarnos las manos antes de cada aplicación.

Se aplicó una dosis de 5ml por cuartos afectados cada 24 horas por 3 días. Este tratamiento se efectuó después de un ordeño a fondo. El tratamiento químico se aplico de acuerdo al prospecto. Uniciclina 200 L.A cada ml contiene oxitetraciclina clorhidrato e.q.a oxitetraciclina base 200mg, 2 pirrolidona 400 mg, providote 50 mg vehículo c.h.p dosis 1ml/10kg de peso vivo vía de administración intramuscular y sub cutánea .Se aplico intramuscular.

Las pruebas diagnosticas se realizaron a los 7 días de comenzado el tratamiento, y se repetirán a los, 14, 21, 30 días respectivamente.

VI.- RESULTADOS Y DISCUSION.

6.1.- Prevalencia de la mastitis en las vacas examinadas.

Según la tabla N° 7 los resultados de la prueba de CMT muestran que de 120 pruebas realizadas que corresponden al mismo numero de vacas, 88 (73%) resultaron positivas al menos con una cruz en unos de sus cuartos mamarios. el 71% corresponde a la mastitis subclínica y el 2% de mastitis clínica, y 32 vacas resultaron negativas a la prueba representando el 27%.

Tabla N°7 Reacción a la prueba de mastitis (CMT) de la leche bovina.

CMT	Numero de Pruebas	%
Positivas	88	73
Negativas	32	27
Total	120	100

Esto datos concuerdan según lo expuesto por Motañez, (1981) que se consideran como afectadas aquellas fincas que durante el periodo de evaluación (seis meses) presentaron una prevalencia mayor al 2% de mastitis clínica y mas del 20% de positividad a la prueba al test de California (CMT) ; así como resultados negativos en el 66% de la prueba. Por lo tanto basado en este criterio podemos decir que este hato es considerado como una unidad AFECTADA.

También concuerdan con los obtenidos por Núñez y col (1998), el señala que el grado de reacción positiva a la prueba de mastitis es de 81.17%, Guerrero (1977), los que reportan un porcentaje de reacción positiva de 60 – 80%.

Estos resultados no concuerdan con Duarte (2004) que obtuvo un 13.88% de reacción positiva a la prueba de mastitis en el ganado de doble propósito, también con los de Castillo, (1978) que señala un 9.5% de reacción positiva y Medina, (1967) el cual reportó una positividad de 12.5%.

6.2.- Prevalencia de la mastitis por cuartos afectados.

La tabla número 8 indica que de los 480 cuartos examinados reaccionaron positivos a la prueba 298 y 182 negativos. Resultando una prevalencia de mastitis del 62.1% .Con relación al comportamiento por la posición de los cuartos mamarios, los resultados muestran que en el cuarto (AD) el 75.8. % reaccionaron positivos y 24.2. % negativos, en el cuarto (AI) el 55 %reaccionó positivo y el 45 % negativos, en el cuarto (PD) el 62.5% reaccionaron positivos y 37.5 % negativos y en el (PI) 55 %.reaccionaron positivo y el 45% negativos.

Tabla # 8. .- Prevalencia de la mastitis por cuartos afectados.

Cuartos	Positivos	Negativos
AD	75.8. %	24.2 %
AI	55 %	45 %
Anteriores	65.4%	34.6%
PD	62.5%	37.5 %
PI	55 %	45%
Posteriores	58.7%	41.2 %

Como se puede observar en la tabla N° 10, los cuartos anteriores fueron los que presentaron más reacciones positivas y el más afectados es el cuarto anterior derecho con el 75.8%. Esto puede deberse a que los cuartos anteriores por su posición anatómica en la ubre al momento del ordeño son los que el operador toma primero, ejerciendo mucho mas presión sobre estos que sobre los posteriores, además por observación los primeros cuartos que amamanta el ternero son los anteriores (sobre todo el derecho), por la posición que ocupan, estando estos mas expuestos a golpes por parte del ternero, el operador y heridas causadas por objetos cortantes.

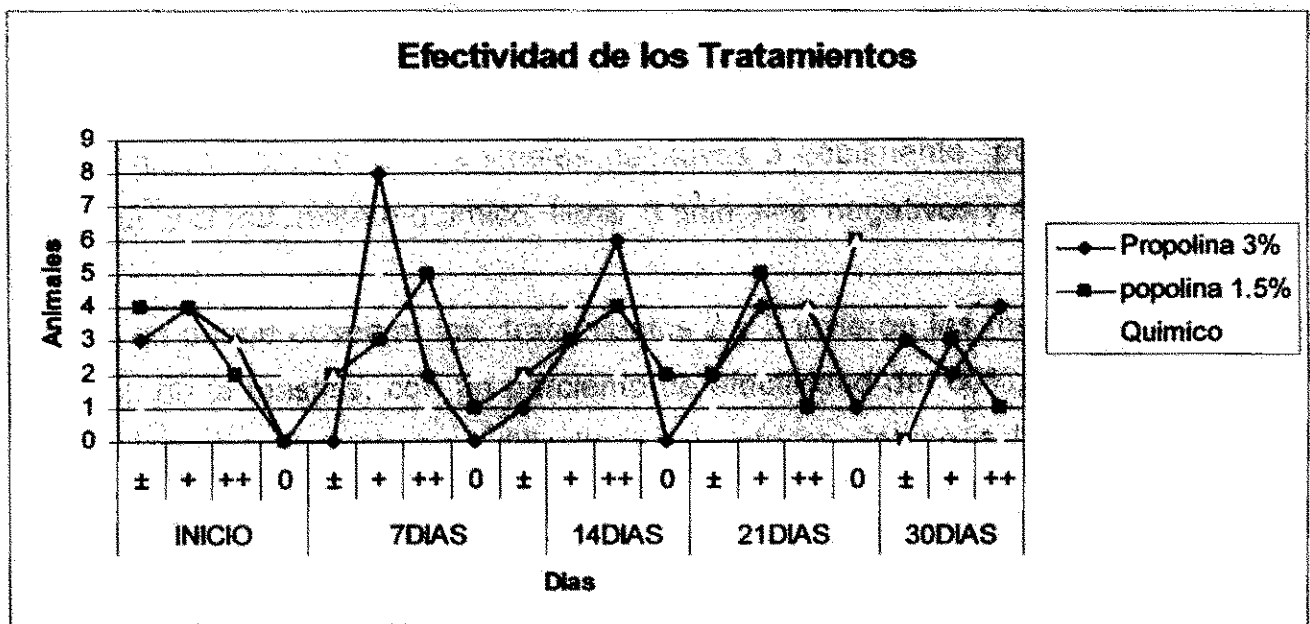
También si el ordeñador anteriormente ordeño una vaca infectada y pasa a ordeñar las otras vacas, sin haberse lavado las manos, este comienza el ordeño por los primeros pezones transmitiendo directamente la enfermedad. Cabe mencionar que el manejo del ordeño es el factor que mas esta influenciando en la prevalencia en los cuartos anteriores.

Estos resultados obtenidos concuerdan con Duarte (2004,) donde los cuartos anterior fueron los que presentaron mayor reacciones positivas y el mas afectados es el cuarto anterior derecho con el 38.46%. También coinciden con Zeledón (2003) quien reporta una mayor afectación a favor de los cuartos anteriores, siendo el cuarto anterior derecho el mas afectado. Pero no coincide con Nuñez (1998) que reporta una mayor afectación a favor de los cuartos posteriores.

Al relacionar las prevalencia entre cuarto se encontró diferencia significativa $p < 0.05$ siendo los cuartos anteriores más afectados que los cuartos posteriores.

6.3.-Efectividad de los tratamientos.

Grafica # 1 Efectividad de los tratamiento según el tiempo



Al inicio la propolina al 3% tenía 3 animales dudosos 4 animales débilmente positivos y 3 animales claramente positivos. Y la propolina al 1.5% tenía 4 animales dudosos 4 animales débilmente positivos y 2 claramente positivos. El químico 1 dudosa, 6 animales débilmente positivo y 3 claramente positivo. La propolina al 3% a los 7 días de aplicada tenía ningún animal negativos, 8 animales débilmente positivos y 2 claramente positivos y la propolina al 1.5% no tiene ningún animal negativo y tenía 2 animales dudosos 3 débilmente positivos y 5 claramente positivos y el tratamiento químico tenía 2 animales negativos 2 animales dudosos 5 débilmente positivos y 1 claramente positivo. A los 14 días de su aplicación la propolina al 3% no tiene ningún animal negativo 1 animal dudoso y 3 animales débilmente positivo 6 claramente positivo y la propolia al 1.5% tiene 1 animal negativo y 2 animales dudosos 3 animales débilmente positivos y 4 claramente positivo. el tratamiento químico tiene 2 animales negativos. 2 animales dudosos y 4 débilmente positivo y 2 claramente positivo A Los 21 días de su aplicación la propolina al 3% tiene ningún animal negativo 2 animales dudosos y 4 animales débilmente positivos y 4 animales claramente positivos. Y la propolina al 1.5% tiene 2 animales negativos 2 animales dudosos 5 débilmente positivo y 1 claramente positivo y el tratamiento químico tiene 3 animales negativos 1 animal dudoso 2 animales débilmente positivos y 4 animales claramente positivos.

A los 30 días de su aplicación la propolina al 3% tiene 1 animal negativo 3 animales dudosos 2 animales débilmente positivos y 4 animales claramente positivos. La propolina al 1.5% tiene 6 animales negativos 3 débilmente positivos y 1 claramente positivo y el tratamiento químico tiene 6 animales negativos y 4 débilmente positivos.

Como se puede observar los tratamientos 2 y 3 tuvieron las mejores respuestas en el control, de la mastitis, con un porciento de efectividad del 60%, aunque en el trayecto del tiempo tuvieron algunas dificultades y esto es debido a las malas prácticas de manejo en el ordeño.

Al realizarse el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos. Pero en el análisis de varianza los animales que son tratado con la propolina al 1.5% tienden a curarse mejor que con los otros tratamiento.

Esto es debido que en los tratamientos naturista de origen animal a mayor dilución ejercen mejor efecto ya que estimula el sistema retículo endotelial para que se produzcan anticuerpos.

Estos resultados coinciden con De Los Reyes Rodriguez, (1991). Se ha comprobado que el propóleo estimula la actividad de los macrófagos a casi el doble y aumenta el número de linfocitos incrementándose la respuesta inmune. Al igual con un estudio realizado en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford, publicado en Microbiologie Research . Gri. Mirzoeva OK Shanin RN, (1996) informa que el ácido cinámico y algunos flavonoides desactivan la energía de la membrana citoplasmática, inhibiendo la motilidad bacteriana, haciéndola más vulnerable al ataque del sistema inmunológico y potenciando los ATB.

6.4.-Costos económicos.

Tabla # 9.- COSTO DE LA DOSIS DE PROPOLINA Y LA UNICICLINA 200 LA

Concepto	PROPOLINA 3%	PROPOLINA 1.5%	UNICICLINA
Costo del frasco de Uniciclina de 250cc			C\$ 190.00
Costo de 20 cc Uniciclina / dosis			C\$ 15.20
Costo de preparación de la Propolina			
Mano de obra	C\$ 35.00	C\$ 35.00	C\$ 15.00
Propolio.	C\$ 2.97	C\$ 1.48	
3 frascos cristal	C\$ 4.20	C\$ 4.20	
Depreciación de la jeringa dosificador	C\$ 12.00	C\$ 12.00	C\$ 24.00
Alcohol	C\$ 24	C\$ 24	C\$ 5.00
Costo de aplicación			C\$ 152.60
Costo total	C\$ 78.17	C\$ 76.68	C\$ 196.0
Costo de aplicación unitario	C\$ 7.80	C\$ 7.66	C\$ 19.6

En el cuadro anterior se refleja que con el medicamento natural de origen animal se logró aplicarles tratamiento a 10 animales. Con propolína al 3% con un costo total de C\$78.00 (setenta y ocho córdobas) y ha otros 10 animales se les aplicó propolína al 1.5% con un costo total de C\$76.68 (setenta y seis córdobas con sesenta y ocho centavos) con respecto al producto químico se trataron 10 animales con un costo total de C\$196.00 (ciento noventa y ocho córdobas) existiendo un incremento de C\$120.00 (ciento veinte córdobas) que podría ser destinado para la compra de otro producto.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Rodríguez y Salazar (2000) quienes obtuvieron un incremento de C\$23.05 con respecto al producto químico y con los resultados de Peralta y Mejía (1996) quienes obtuvieron un incremento de C\$ 27.45 también con respecto al químico. Estos resultados lo obtuvieron con productos naturales pero de origen vegetal.

VII: CONCLUSIONES.

Con base a los resultados obtenidos en el presente estudio se puede arribar a las siguientes conclusiones:

1.- Existe una prevalencia de la mastitis en el hato del 73% de esto el 71% de mastitis subclínica y el 2% de mastitis clínica, y el 27% resulto negativa.

2.- EL cuarto más afectado fue el Anterior derecho (AD) el 75.8. % reaccionaron positivos.

3.- Los tratamientos testigos unicyclina 200 LA y propolina al 1.5% tuvieron las mejores respuestas en el control, de la mastitis, con un porciento de efectividad del 60%,.

4.- A través del análisis de costos, se determinó, que es económicamente factible la utilización de la propolina en el control de la mastitis.

VIII.- RECOMENDACIONES.

- 1. Realizar una segunda fase de investigación en la zona seca y semihumeda aplicando otro tratamiento testigo con diferente forma de manejo.**
- 2. Mejorar las condiciones de manejo e higiene en la finca estudiada, basado en un programa de prevención. Que una sola persona se dedique a enrejar. Lavar la ubre con agua limpia y posteriormente secarla con toallas limpias, Ordeñar correctamente la vaca a manos llenas. No limpiar la ubre con los primeros chorros de leche o con la cola de la vaca. Eliminar el exceso de estiércol del corral**
- 3. Ordeñar primero las vacas recién paridas y continuar con las del segundo parto y así sucesivamente. Las vacas con mastitis, ordeñarlas por último ya que estas a través de las manos del operador contaminan los cuartos de las vacas sanas.**
- 4. Realizar el destete de los terneros entre los 7 y 8 meses, ya que terneros grandes predisponen a mastitis traumática.**

IX. - BIBLIOGRAFÍA.

- AMOROS M. SIMOES C, GIRRE L. 1992 Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *J Of Natural Products*;;55(12):1732-40.
- BLOOD, D. C; HENDERSON, J. A; RADOSTITS, O. M; ARUNDEL, J. H. Y GAY, C. C. 1987. *Medicina Veterinaria*. Nueva Editorial Interamericana. Sexta Edición. México. D. F.491-503 P.
- CALLEJAS, O.A. 1998. *Bibliografía anotada de mastitis*. Edición CIDA, ciudad de la Habana, Cuba. P 5.
- CAJINA, L.A. 1993. *Producción y Comercialización de Productos Lácteos*. Managua, Nicaragua. P 92.
- CASTILLO VILCHEZ, E. 1978. *Perdidas económica que ocasiona la mastitis en el departamento de Esteli*. Escuela de Agricultura y Ganadería. Esteli, Nicaragua. P 33.
- CORDERO, L. Y SALAS, JOSÉ. 1994. *Enfermedades de los Animales Domésticos*. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José Costa Rica. 107-110 P.
- DE LOS REYES RODRÍGUEZ. 1991. *Estudio del efecto inmunorregulador de un medicamento elaborado a base de propóleos en niños con trastornos de la inmunidad*. In: 1er Taller Internacional de Apiterapéuticos La Habana, Cuba.
- DUMITRESCU M. CRISAN I. ESANU V. 1993 The mechanism of the antiherpetic action of an aqueous propolis extract. II. The action of the lectins of an aqueous propolis extract. *Roumaine de Virologie*.;44(1-2):49-54.
- DUARTE, S. A. 2004. *Prevalencia de mastitis subclínica en el ganado criollo Reina en la Finca Santa Rosa de la UNA. Época de verano*. Facultad de Ciencia Animal.

Universidad Nacional Agraria. Tesis para optar el título de Ingeniero Zootecnista. 42 p

- ETGEN, W. M. Y REAVES, P. M. 1989. Ganado Lechero. Alimentación y Administración. Tomo # 2. Editorial Limusa S.A. México D.F. 201-227 P.
- FIGUEROA, M. Y COL. 1984. Enfermedades Infecciosas de los Animales domésticos en Centro América. Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica. 195-212 P.
- FRAPPE, R. 1982. Manual de Infectología Veterinaria, Enfermedades Bacterianas y Micóticas. Edición Francisco Méndez Oteo, México. D. F. 113-138 P.
- GUERRERO VALLE, F. 1977. Programa Sanitario del Ganado Lechero. Tesis Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. UCA. Managua, Nicaragua. P 43
- HARMON. R. J. 2003. Artículos de Revista. Fisiología de la Mastitis y Factores que Afectan el Conteo de Células Somáticas; Genética de la Resistencia a Mastitis en Ganado Lechero. Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Kentucky. [www.rupp\(a\)toulouse.inra.fr](http://www.rupp(a)toulouse.inra.fr)
- HERTOG M, AND COL. 1995; Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. Arch Intern Med. 155:381-86.
- .KHAYYAL M, GHAZALY M, KHATIB A. 1993 Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. Drugs Under Experimental & Clinical Research. ;19(5):197-203

- .LORENZO J Y COL. 1984. Propóleos: evaluación de efectos cardiovasculares y toxicológicos. Depto. de Farmacología y terapéutica. Fac. de Medicina-Uruguay.
- MATEUS, VALLE, G. 1983. Mastitis en bovinos. CATIE. Departamento de Producción Animal. Turrialba, Costa Rica.5-10 P.
- MAG, 1980. Diagnostico Socio económico del Sector Agropecuario. Managua, Nicaragua. Centro de Investigación y Estudio para la Reforma Agraria, Vol. # 13
- MIDINRA, 1998. Folleto Sobre Mastitis. Oficina de Documentación. Managua, Nicaragua
- MEDINA DELGADO, O. 1967. Contribución al estudio de Mastitis Bovina en le departamento de Managua. Tesis. ENAG. Managua, Nicaragua. 25-26 P.
- MERCK Y COL. 1993. El manual de merck de veterinaria. Editorial Océano Centrun. Cuarta Edición. Barcelona, España.790-796 P.
- MIRZOEVA OK SHANIN RN, CALDER PC. 1997 Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiol. R -es; 152(3):239-46
- MIYATAKA H, NISHIKI M, MATSUMOTO H, FUJIMOTO T, MATSUKA MA, ISOBE A, SATOH T. 1998 Evaluation of propolis (II): effects of Brazilian and Chinese propolis on histamine release from rat peritoneal mast cells induced by compound 48/80 and concavalin A. Biol Pharm Bull.;21(7):723-9.

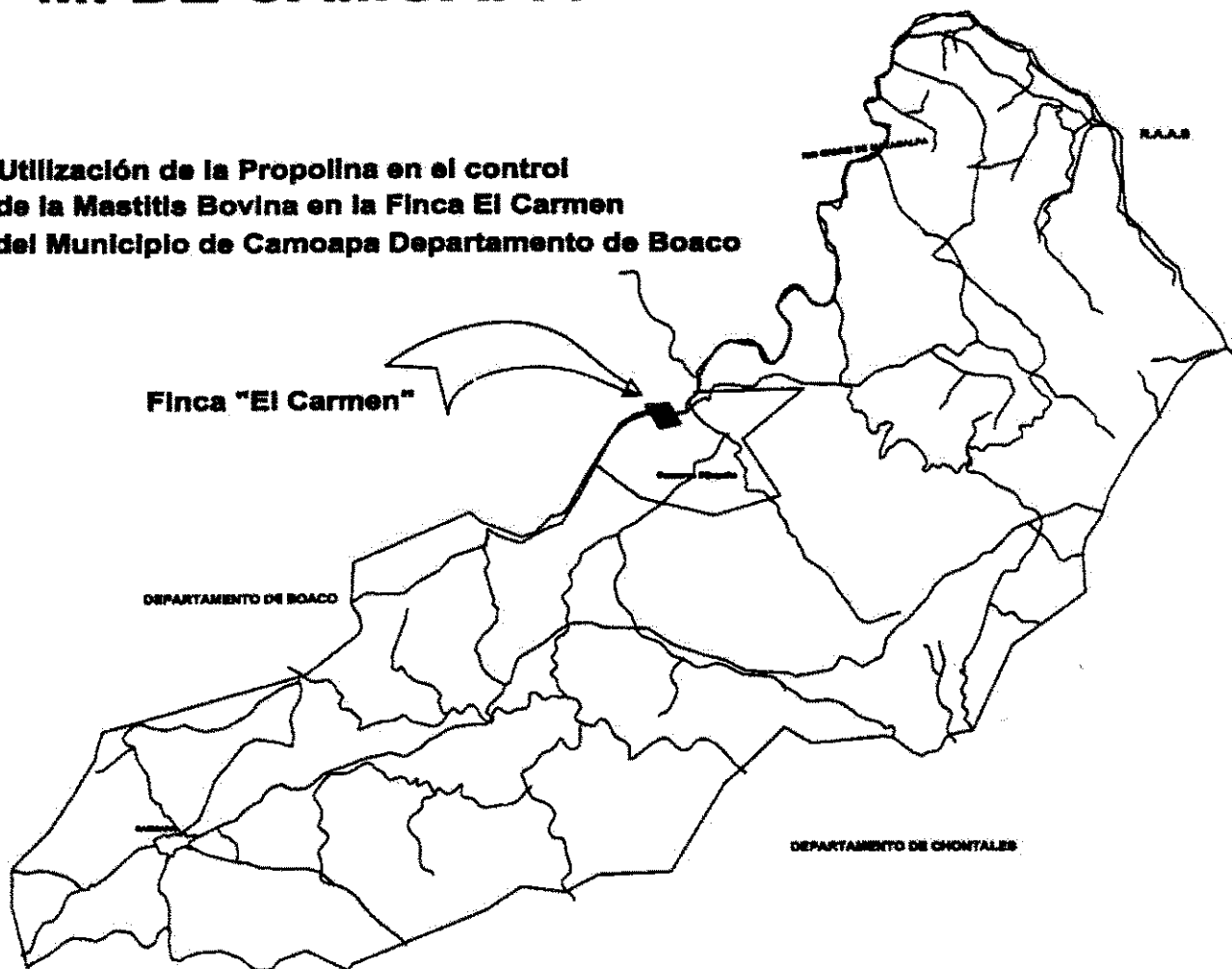
- MOTAÑEZ, G . J. (1981) Manual practico de epizootiología y enfermedades infecciosas II. Intitutio Superior de Ciencias Agropecuaria, Facultad de medicina Veterinaria de la Habana, Cuba . 9- 17p.
- NEYCHEV H, AND COL 1988. Immunomodulatory action of propolis. Acta Microbiol-Bulg.;23:58-61.
- NÚÑEZ, A. RODRÍGUEZ, L: DONALD B. 1998. Diagnostico de mastitis subclínica en rebaños lechero en la cuenca norte del Municipio de Estela. 33- 60 p.
- PIJOAN, P Y TORTORA. J. 1986. Principales enfermedades de los Ovinos y Caprinos. Universidad Autónoma de México, Cautitlan Iscallí. México. 225-263 P.
- PERALTA, K: MEJIA, M. 1996. Utilización del extracto acuoso de la hoja de Neem(Azadiracha indica) como desparasitante en cabra de la raza nubia de 4 a 5 meses de edad.Tesis para optar el grado de Licenciado en Zootecnia UCA. 49 p.
- REVILLA A." 1996. Tecnología de la leche". Departamento de Zootecnia. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano. Editorial Zamorano Academia Press. Tegucigalpa. Honduras,. 1-47 p.
- RODRÍGUEZ, E. Y SALAZAR. M.N. 2000. Efecto de la utilización de la hoja de Neem (Azadiracta indica), con relación al levamisol como desparasitante interno en cabras nubia en el centro de experimentación y Capacitación Agropecuaria, Granada , Nicaragua. Tesis Ingeniero Agrónomo con Especialidad en Zootecnia, Universidad nacional Agraria, 37 p.
- STAMM, G. W. 1988. Manual de Veterinaria Para Ganaderos. Editorial Hispano Americana. Editorial Concepto S. A. México. D. F. 104-116 P.

X. ANEXOS

MAPA DE M. DE CAMOAPA



**Utilización de la Propolisa en el control
de la Mastitis Bovina en la Finca El Carmen
del Municipio de Camoapa Departamento de Boaco**



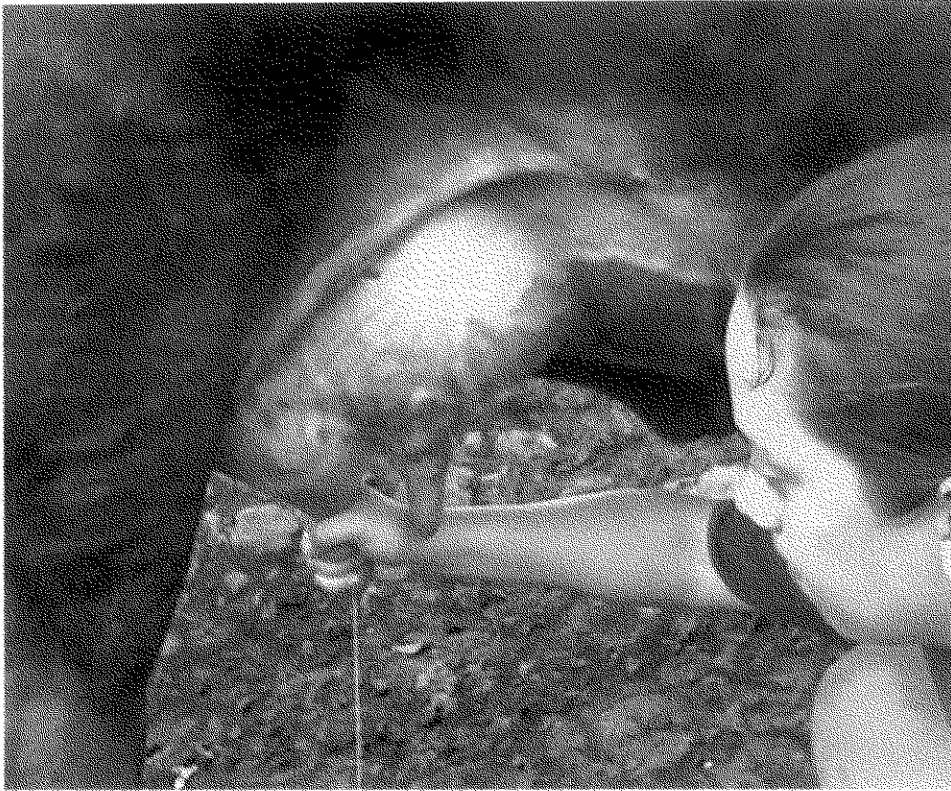


Figura 1 Despunte de los pezones

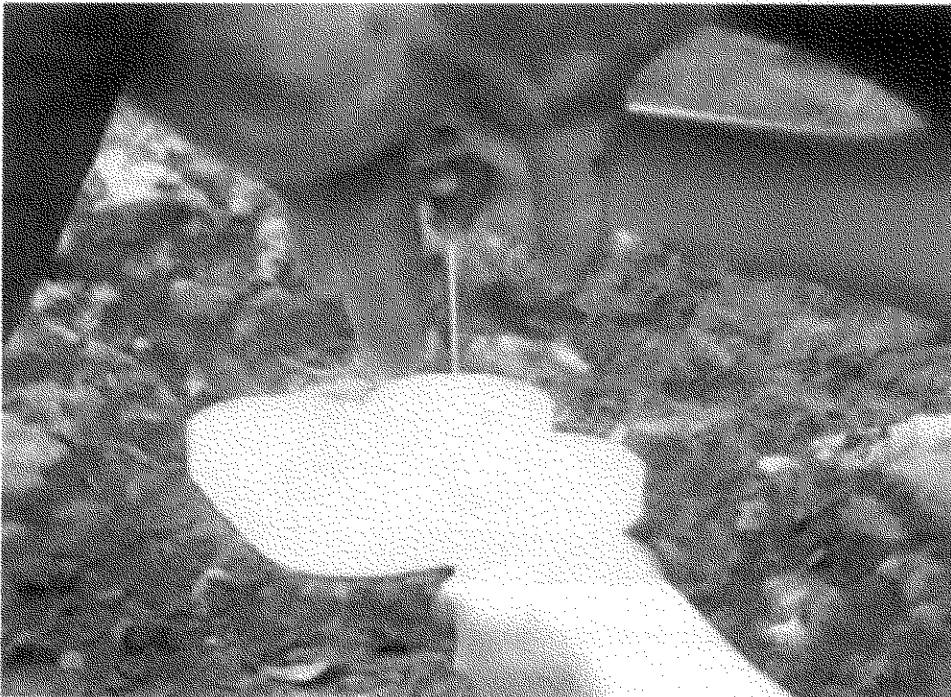


Figura 2 Toma de muestra de cada cuarto

VYNOGRAD N, VYNOGRAD I, SOSNOWSKI Z. 2000 A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the placebo in the treatment of genital herpes. *Phytomedicine*;7(1):1-6.

WINKLER Y COL. 1987. Control sanitario de poblaciones animales. Segunda edición. México. 165-171 P.

www.Ordemex.com.mx/mastits.html.

www.babcock.cals.wisc.edu/about/downloads/23

YAMAMOTO T. 1996 Present state of basic studies on propolis in Japan. Proceedings of the International Conference on: Bee Products: properties, applications and Apitherapy; May 26-30; Tel- Aviv, Israel.



Figura 3 Adición de reactivo a la muestra de leche en igual volumen

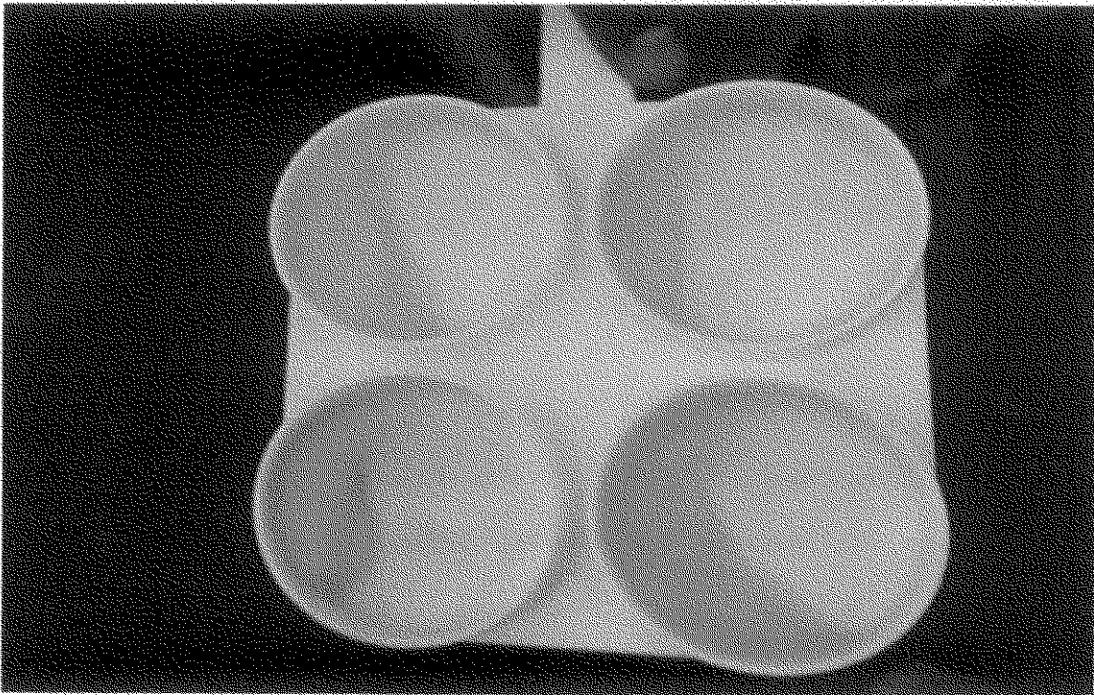


Figura 4 Movimiento circular de la muestra durante veinte segundos.



Figura 5 Aplicación de tratamiento testigo

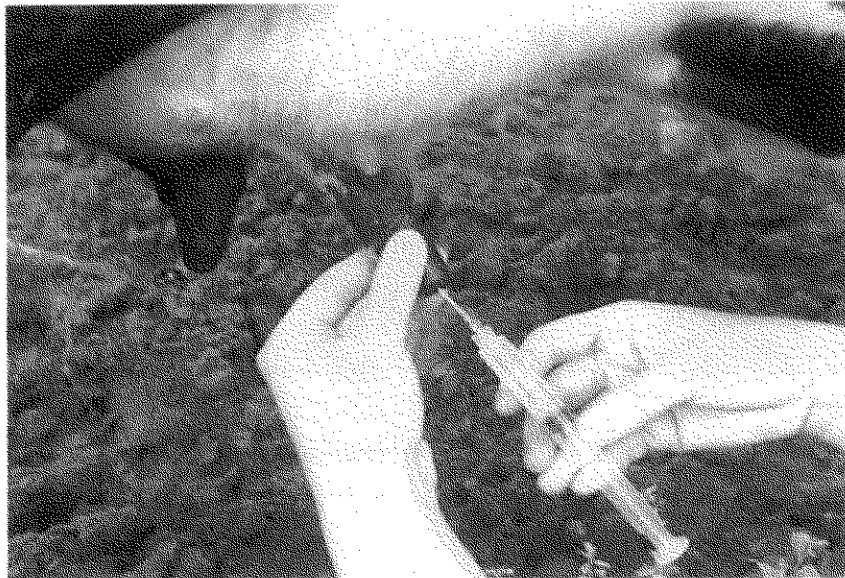


Figura 6 Aplicación de propolina al 1.5%



Figura 7 Aplicación de propolina al 3%