

USO DEL PROPÓLEO EN EL CONTROL DE MASTITIS CLÍNICA Y SUBCLÍNICA EN VACAS Y BÚFALAS

Recibido: 31/01/2022

Aceptado: 15/03/2022

César Paredes* Neyo Pérez**

Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora
UNELLEZ

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo, medir el efecto del propóleo sobre cuartos con mastitis clínica y subclínica en vacas y búfalas. El ensayo se dividió en tres etapas: Diagnóstico, Laboratorio y Campo. El diagnóstico se realizó utilizando la prueba del test de california, seleccionando los cuartos mamarios que presentaron dos y tres cruces. Se conformaron 4 grupos totalmente al azar: T0 etanol, T1 EEP al 15%, T2 con EEP al 25% y T3 correspondiente al antibiótico comercial, el cual es una mezcla de Cefalexina + Kanamicina. Seguidamente de las muestras de leche de vacas y búfalas, se sembraron en medios bacteriológicos, donde se aisló el *Staphylococcus sp.* como agente etiológico causal de la patología. La metodología empleada fue difusión agar-gel. En la etapa de campo se aplicaron dos dosis por cuanto afectado, en los 4 tratamientos evaluados. El análisis económico indica que el tratamiento 2 fue el más eficiente en el control de la bacteria y aumento de la producción láctea.

Palabras Clave: Mastitis, Clínica, Subclínica, Propóleo.

USE OF PROPOLIS IN THE CONTROL OF CLINICAL AND SUBCLINICAL MASTITIS IN COWS AND BUFFALOES

ABSTRACT

The objective of the research was to measure the effect of propolis on quarters with clinical and subclinical mastitis in cows and buffaloes. The trial was divided into three stages: Diagnosis, Laboratory and Field. The diagnosis was made using the California test, selecting the mammary quarters that presented two and three crosses. Four groups were formed totally at random: T0 ethanol, T1 EEP at 15%, T2 with EEP at 25% and T3 corresponding to the commercial antibiotic, which is a mixture of Cephalexin + Kanamycin. Following the samples of milk from cows and buffaloes, they were planted in bacteriological media, where *Staphylococcus sp.* as the causal etiological agent of the pathology. The methodology used was agar-gel diffusion. In the field stage, two doses were applied as affected, in the 4 treatments evaluated. The economic analysis indicates that treatment 2 was the most efficient in controlling the bacteria and increasing milk production.

Keywords: Mastitis, Clinical, Subclinical, Propolis.

INTRODUCCION

El término Mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria, sea cual fuere su causa. Se caracteriza por alteraciones físicas, químicas y, casi siempre, bacteriológicas de la leche y por modificaciones patológicas del tejido glandular (Blood y Radostits, 1992:539). Aunque de mayor importancia económica en la vaca lechera, la mastitis puede afectar cualquier especie y se trata de la misma manera en todas ellas. Esto ocasiona pérdidas económicas en la industria láctea y afecta a los productores de leche en sus rebaños por hembras que deben ser descartadas tempranamente, riesgo de subsecuentes mastitis, y problemas de salud pública que pueden ocurrir dado que se trata de una enfermedad zoonótica (Mantilla, 2018).

En este sentido, los gastos en tratamientos, básicamente antibióticos, causan erogaciones de dinero que conllevan a disminuir la rentabilidad del sistema de producción. Actualmente se ha creado una gran presión sobre el uso de antibióticos para el control de las mastitis, ya que sus residuos afectan las características organolépticas de la leche y la de sus productos, causando en algunos casos, una posible resistencia bacteriana por el uso de dichos antibióticos lo cual afecta la salud humana.

Animales bien cuidados y adecuadamente manejados, experimentarán un mejor bienestar, serán menos propensos a las infecciones y necesitarán menos antibióticos (Laguens, 2016). Por esta razón, en la actualidad organismos internacionales han ejercido presión sobre el uso de antimicrobianos para el tratamiento de las mastitis bovinas y sus periodos de retiro para el consumo humano y el procesamiento industrial.

Por esta razón hemos estudiado el uso del propóleo para el control de las mastitis clínicas y subclínicas en vacunos y búfalos. Para ello se realizó una investigación de laboratorio y campo en la finca: La Granja de hoy, ubicada en el municipio Obispo del estado Barinas. Esta investigación se ha realizado en tres etapas: La primera de campo, para el diagnóstico de las mastitis y la toma de muestras. La segunda etapa de laboratorio para realizar cultivos, identificar las bacterias presentes y evaluar la sensibilidad de las bacterias a antibióticos y al propóleo a través de los antibiogramas y la tercera etapa de campo donde se aplicaron las soluciones etanólicas a base de propóleo y luego se evaluó su eficacia.

METODOLOGIA

La investigación se realizará en la finca La Granja de Hoy, ubicada en la parroquia La Luz, municipio Obispo del Estado Barinas, entre los meridianos 70° 0' y 70° 30' y los paralelos 8°30' y 9°00'. El municipio limita hacia el norte con los municipios Rojas, Cruz Paredes y Alberto Arvelo Torrealba, al sur con el municipio Barinas y el estado Apure, al este con los municipios Alberto Arvelo Torrealba, Rojas y Sosa y al oeste con el municipio Barinas. La topografía es principalmente plana con <2% de pendiente general. Presenta una temperatura media de 26,4°C y una precipitación promedio entre los 1.400-1.600mm anuales. El municipio de caracteriza dentro de una zona de vida: Bosque Seco Tropical (bs-T) Geoambiental, (2011).

Esta investigación se orientó bajo el paradigma cuantitativo (Hernández et al., 2010) dado que se trata de un trabajo que estableció claramente la relación entre los propóleos y su efecto antimicrobiano en búfalas y vacas diagnosticadas con mastitis. Para la clasificación del de la investigación se utiliza los planteamientos propuestos por Palella y Martíns (2012). Al respecto la propuesta se enmarca dentro de una investigación experimental con un enfoque cuantitativo.

El diseño de la investigación corresponde a un diseño completamente aleatorizado y se desarrollará en tres etapas: 1) Bacteriológica de diagnóstico, 2) Laboratorio (pruebas in vitro) y 3) Campo (pruebas in vivo). En esta unidad de producción, se efectuará el ensayo con 30 búfalas y 22 vacas en ordeño, para la mastitis subclínica, de un lote total de 38 búfalas y 30 vacas con que cuenta la finca. En el caso de las mastitis clínicas, se evaluarán los casos que se presenten durante el ensayo.

RESULTADOS Y DISCUSION.

RESULTADOS DE ETAPA I: BACTERIOLÓGICA DE DIAGNÓSTICO

Manejo Higiénico-Sanitario de la Unidad de Producción.

La Granja de Hoy, es una unidad de producción enmarcada dentro de un Sistema de Producción de Bovinos Doble Propósito. En ella se explotan vacas y Búfalas en un Modo de Producción sistema vaca-maute para ambas especies. El Ordeño se realiza de forma manual, una vez al día, con apoyo del becerro y bucerro respectivamente.

Es importante señalar que, desde el punto de vista de higiene, los ordeñadores no se lavan las manos al iniciar el ordeño de cada nueva vaca o búfala, ni se realiza lavado de los pezones o de la ubre según sea el caso. Así mismo se observó que la vaquera carece de puntos de agua potable (grifos) para el lavado de pezones, manos de los ordeñadores o cualquier otra necesidad. Para ello toman agua en baldes del bebedero del ganado y la utilizan para la higiene.

En el tiempo que duró la investigación en la unidad de producción, se modificaron conductas higiénicas del personal, en ordeñadores y becerrero, capacitándolos sobre la importancia de la asepsia y limpieza en la faena de ordeño. Así mismo se habilitó una manguera con suficiente agua para el lavado de pezones y manos y en el caso de las búfalas el lavado total de la ubre cuando se ameritaba, seguido del secado de la misma con toallas de tela limpias. De igual manera se instruyó al personal sobre la importancia de realizar la prueba de fondo oscuro con los primeros chorros de leche en el pre-ordeño, todo esto basado en la Norma Venezolana Covenin 903-93.

Calculo de Prevalencia

Durante los 13 días de duración del ensayo, se calculó la prevalencia de mastitis subclínica, prevalencia total por cuartos e Índice de Mastitis Subclínica, al inicio y al final del mismo, midiendo los parámetros en vacas, búfalas y el general de la unidad de producción.

Tabla 1. Prevalencia y Prevalencia Total por Cuartos Mamarios

Prevalencia	Inicial	Final	Diferencia
P. Vacas	68,18	63,63	+ 4,55
P. Búfalas	40,0	40,0	0
P. finca	51,92	50,0	+ 1,92
PTC vacas	41,37	34,48	+ 6,89
PTC búfalas	33,33	28,33	+ 5,0
PTC finca	36,71	30,91	+ 5,8

Fuente: El Autor

Según Ferraro, Scaramelli y Troya, (1999) en Venezuela, los índices de prevalencia de Mastitis Subclínica se han estimado en 30,18%. Y unidades de producción por encima de esta prevalencia, se consideran seriamente afectadas.

En el caso de la Granja de Hoy, al inicio del ensayo, presentó una prevalencia del 51,92%, siendo mayor en vacas que en búfalas. En cuanto a la prevalencia total por cuartos mamarios, la cual es más específica, la finca presentó inicialmente una PTC de 36,71% igual con mayor participación en vacas que en búfalas. Al final del experimento, hubo una disminución de la prevalencia de 1,92% y PTC de 5,8 en la unidad de producción con una mayor participación de vacas en la disminución del mismo.

RESULTADOS ETAPA II: LABORATORIO PRUEBAS IN VITRO:

Fueron procesados los cuatro pools de muestras de leche, provenientes de vacas y búfalas con dos y tres cruces en la prueba del CMT, para el aislamiento bacteriológico y medición de los halos de inhibición.

Identificación de los Agentes Etiológicos.

Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología de la UNELLEZ-VPDS, aislándose en cada una ellas el *Staphylococcus sp*, lo que identifica esta bacteria como el agente causal.

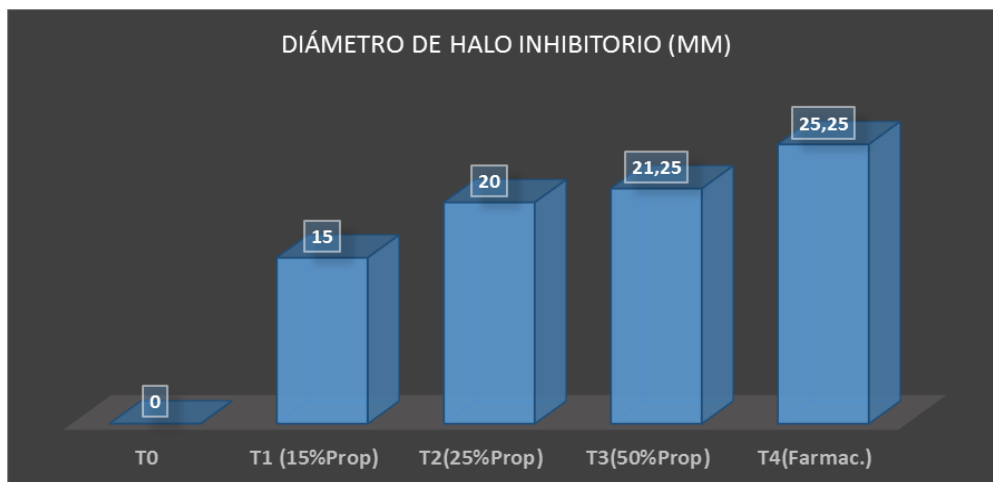


Figura 1. Crecimiento (mm) del halo inhibitorio (Antibiograma)

Antibiograma. Medición de halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

Para esta prueba se procedió a medir los halos de inhibición de las cuatro muestras de leche sembradas en placas de Petri que contiene agar Müller-Hinton, realizando la distribución de la manera siguiente: a) Etanol (control negativo). b) Propóleo al 15%. c) Propóleo al 25%. d) Propóleo al 50% y e) Antibiótico comercial (Cefalexina + Kanamicina).

En la figura 1, se evidencia la diferencia de la inhibición de crecimiento bacteriano, merced de los 5 tratamientos probados, siendo el más eficiente en la prueba “in vitro”, el tratamiento 4(antibiótico comercial) y el menos eficiente el tratamiento 0 a base de 5 tratamientos etanol.

Es importante señalar que se eligió el etanol como T0, debido a que es el vehículo (solvente) utilizado en las soluciones de propóleo evaluadas y se quiere dejar constancia de su nula actividad antimicrobiana, lo cual coincide con reportes de Gonsales *et al.*, (2005) donde midieron la actividad antimicrobiana de propóleos de varias zonas de Brasil y, utilizando etanol al 70% como blanco y concluyeron que no mostró actividad antibacteriana en cepas estudiadas. Estos resultados sugieren que la acción antibacteriana de extracto etanólico de propóleo (EEP) contra *Staphylococcus sp.* se debió a los componentes del propóleo.

RESULTADOS ETAPA III: PRUEBAS DE CAMPO O PRUEBAS IN VIVO:

En la etapa de campo se trabajó con 54 cuartos mamarios de los cuales 24 pertenecen a vacas y 30 a búfalas respectivamente, que resultaron positivas con 2 y 3 cruces a la prueba del CMT. Dichos cuartos mamarios, fueron agrupados aleatoriamente en cuatro grupos a saber: T-0: Solo etanol. T-1: Propóleo al 15%. T-2: Propóleo al 25% y T-3: Antibiótico comercial.

El análisis estadístico General (ambas especies), para un diseño con modelo simple, ejecutado con la prueba de Kruskal y Wallis por la escala ordinal de medición de la mastitis, no detectó diferencias significativas ($P > 0,05$) entre tratamientos, antes de la aplicación, lo que avala el análisis posterior ya que cualquier diferencia que se detecte debe ser a tribuida al efecto de tratamiento y no a los animales.

El análisis tampoco detectó diferencias en las tendencias en las dos primeras

evaluaciones, sin embargo, a partir de la tercera medición(5 días) se obtuvieron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) generales por lo que podemos inferir que los tratamientos T2 y T3 redujeron significativamente el grado de mastitis en los animales (sin diferencias entre estos) en general y esto es un buen síntoma que favorece el efecto positivo el propóleo al 25% ya que rivalizó eficientemente con el tratamiento convencional con antibióticos, al reducir el grado de mastitis en la misma magnitud y tendencia que el fármaco. Un poco más tarde, en la última evaluación, ya la dosis baja del propóleo mostraba un efecto similar a los dos tratamientos mencionados, indicando con esto que desde el 15%, el propóleo es efectivo para controlar el efecto de esta patología en vacas y búfalas en producción.

Estos resultados (Tabla 3) muestran claramente, que el tratamiento con propóleo presentó reducciones del grado de mastitis tanto en vacas como en búfalas, por lo que podemos decir que el tratamiento con propóleo resultó tan efectivo como el fármaco para controlar el efecto de esta patología en vacas y búfalas en producción.

Tabla 3. Aproximación a F de Kruskal y Wallis y comparación de medias (MDS) de rango (Medianas por escala ordinal) del grado de la mastitis en cada tratamiento y cada especie (Interacción)

Tratamiento	Mast.Inic.	Mast. 3	Mast.4	Mast. 5	Mast.7	Mast.12
T0V	3 a	3 a	3 a	3 a	3 a	3 a
T1V	2 a	2 a	2 a	2 a	1 a	0,9 ab
T2V	2 a	2 a	2 a	1 b	1 b	0,3 c
T3V	2 a	2 a	2 a	2 a	1,5 b	2 a
T0B	2 a	2 a	2 a	2 a	2 a	2 a
T1B	2 a	2 a	2 a	2 a	1,5 a	0,7 b
T2B	2 a	2 a	2 a	2 a	1 b	0,5 c
T3B	2,5 a	2,5 a	2 a	1,5 b	1 b	0,7 b
Aprox a F.	2,04 ns	0,04 ns	1,51 ns	3,44**	5,27**	9,51**

NOTA: Letras Distintas en la misma columna, indican medianas o tendencias estadísticamente diferentes. *

NOTA: ns; No hay diferencias significativas; *, Diferencias significativas ($P < 0,05$); **Diferencia altamente significativas ($P < 0,01$) entre tratamientos.

Fuente: El Autor

Discusión del caso clínico.

Durante la realización del presenta ensayo, se presentó un caso de mastitis clínica en

una vaca identificada con el arete N° 1397 perteneciente al grupo testigo (T-0) la cual presentaba mastitis subclínica grado 3 (+++) en los cuatro cuartos de la ubre. El cuarto mamario que presentó esta patología fue el anterior derecho, por lo que se procedió a su tratamiento. El cuarto afectado, fue evaluado el día 12 del ensayo, mientras se realizaba la prueba CMT correspondiente a ese día (CMT 12). En el momento del ordeño, cuando se realiza la prueba de fondo oscuro y toma de muestras en la paleta del test, se observó que el cuarto presentaba aumento de volumen, enrojecimiento, calor y dolor a la palpación. Seguidamente se procedió a exprimir totalmente el cuarto afectado, a lo cual la vaca expresaba dolor e incomodidad.

Para el tratamiento del cuarto, se tomó la decisión de utilizar la solución de propóleo al 50%, que se tenía reservada para tal fin, y se le realizaron 3 aplicaciones de 10 ml a un intervalo de 12 horas. En la evaluación del tratamiento se pudo evidenciar que, a las 36 horas del inicio del mismo, ya no se presentaron grumos de leche en la prueba de fondo oscuro y la leche presentaba su color y fluidez normal. De igual manera se realizó la prueba del CMT los días 3, 5 y 7 post tratamiento y se observó que a partir del día 7, la leche del cuarto anterior derecho no presentó ningún tipo de reacción al test de california, por lo que fue diagnosticado como cuarto sano.

Este comportamiento del propóleo, coincide con los resultados publicados por Mendoca (2017) y Fiordalisi *et al.* (2016), donde el propóleo tiene la particularidad de actuar de manera bactericida o bacteriostática, frente a algunas cepas bacterianas, dependiendo de la zona y tipo de vegetación donde fueron recolectadas las resinas.

Análisis económico

En el presente ensayo, se procedió a evaluar el impacto económico de los tratamientos de propóleo al 15%, 25% y antibiótico comercial, midiendo para ello la producción de leche obtenida, en base a 30 días post tratamiento, como parámetro de producción.

Tabla 5. Efecto de un tratamiento contra la mastitis a base de propóleo, sobre la producción de leche en un sistema con búfalas y vacas (en Lt/a/día).

Tratamiento	Prod. Inicial (Lt/a/día)	Prod. Final (Lt/a/día)	Incremento	
			(Lt/a/día)	%
T0	4,78	5,13	0,35	7,43
T1	4,38	5,18	0,80	18,26
T2	4,25	5,60	1,35	31,76
T3	3,95	4,64	0,69	17,47

Fuente: El Autor.

Se observa, en la tabla 5, el efecto del tratamiento aplicado contra la mastitis aplicado en un sistema con búfalas y vacas, para lo cual se muestra la producción inicial de litros de leche obtenidos por día y su producción final, luego de haber recibido tratamiento, observándose como resultados el incremento porcentual en un lapso de 30 días. Es importante señalar que, en este análisis, se mantiene la tendencia superior de T2 en el incremento de la producción lechera. T1 y T3 presentan un comportamiento similar, como sistema de producción con vacas y búfalas, y T0 mostró un leve incremento.

CONCLUSIONES FINALES.

- Se realizó una evaluación de las instalaciones y del manejo sanitario de la faena de ordeño. Se observó falta de puestos para el ordeño y falta de puntos de agua potable, para el lavado de ubres y manos de los ordeñadores, para lo que se instruyó al personal sobre las normas sanitarias del ordeño, basado en la norma COVENIN 903-93.
- Según los resultados de las pruebas de CMT, la prevalencia en vacas presentó una mejoría de 4,55%. En búfalas no se observó diferencia y en la finca, incluyendo vacas y búfalas, se obtuvo una disminución de 1,92%. En cuanto a la prevalencia total en cuartos mamarios, se presentó una mejoría de 6,89% en vacas, 5,0 en búfalas y 5,8 en la finca. Con estos resultados se concluye que el manejo integrado, tanto sanitario, como terapéutico en vacas y búfalas, disminuye la prevalencia de mastitis subclínica en la unidad de producción.
- El *Staphylococcus sp.* fue el principal agente etiológico diagnosticado en las muestras de leche con mastitis subclínica, grado 2 y grado 3, en la unidad de producción La

Granja de Hoy del municipio Obispos, parroquia La Luz, aislándose tanto en las muestras de vacas como de búfalas.

- Los resultados obtenidos en el antibiograma indican que, para la cepa de campo, el extracto etanólico de propóleo al 50% (21,25 mm), 25% (20 mm) y el tratamiento comercial (25,25 mm) arrojaron todos ellos halos de inhibición mayores en a 20mm por lo cual se clasifican, según la escala de Duraffourd, como sumamente sensibles. Por otra parte, el tratamiento de extracto etanólico de propóleo al 15% (15 mm) resultó con sensibilidad media. Por lo cual se concluye que los tratamientos con propóleos tienen efecto antimicrobiano para esta cepa de *S. aureus* y pueden ser recomendados para su uso a nivel de campo.
- De los tratamientos utilizados en el presenta ensayo, el tratamiento 2 presento la mayor producción de leche al final del ensayo, mejo relación costo-beneficio. El tratamiento 1 presenta el segundo mejor desempeño seguido del tratamiento 3 y tratamiento 0 respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Blood, D. C., Radostits. O. M. (1992). *Medicina Veterinaria*, McGraw-Hill Interamericana. Healthcare Group. Volumen II Séptima edición. Pp. 539-602
- Ferraro, L., Scaramelli, A., & Troya, H. (1999). *Prevalencia de la mastitis subclínica bovina en Venezuela y evaluación de la prueba de Mastitis de California (CMT) como prueba diagnóstica*. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias, 9(2), 81. [Documento de línea]: <https://link.gale.com/apps/doc/A498674929/IFME?u=anon~81fd1010&sid=googleScholar&xid=88ecb780>. Consultado, 11, May, 2019.
- Fiordalisi S, Honorato L, Loiko M, Avancini C, Veleirinho M, Machado L, Kuhnen S. (2016). *The effects of Brazilian propolis on etiological agents of mastitis and the viability of bovine mammary gland explants*. Journal of Dairy Science, Vol. 99, Issue 3. [Documento en línea]. En <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030215009418> Consultado el: 23 Dic. 2020. p2308–2318
- Geoambiental, (2011). Informe Geoambiental. Instituto Nacional de Estadística. Gerencia de Estadísticas Ambientales. Estado Barinas.
- Gonsales, G. Orsi, R., Fernandez, A., Rodriguez, P., Funari, S. (2005). *Antibacterial Activiti of Ptopolis Collected in Different Regions of Brazil*. Toxins incl. Trop. Dis. V.12, n.2, p.276-

284, 2006. [Documento en línea]: <https://www.scielo.br/j/jvatitd/a/LBhqPTyWfQHz6fkm89k3z7Q/?lang=en>. Consultado, 06 Abr 2020.

Hernández C, Hernández R, Fernández C, Baptista P. (2010). *Metodología de la Investigación*. Cuarta edición. McGraw-Hill Interamericana. México.

Laguens, R. (2016). *Relationship between animal welfare and the use of antibiotics in food animals*. Federation of Veterinarians of Europe. FVE/015/doc/063 Adopted at the FVE General Assembly of 3 June 2016.

Mantilla, L. (2018). *Efecto de Propóleos en búfalas con cuadros de mastitis subclínica* Caso de estudio: Finca Parcela 7 ubicada en la zona norte del estado Táchira. Tesis de Grado no publicada.

Mendoca, J. (2017). *Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras: verde e vermelha*. Revista Electronica, Acta Apicola Brasilica, Editorial Verde. ISSN 2358-2375 [Documento en Linea]: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/APB>

Neacato, S. (2005). *Uso de Extractos Etanólicos de Propóleo para el Control de staphylococcus aureus in Vitro Obtenidos de Leche de Vacas con Mastitis*. Tesis de Grado no Publicada. [Repositorio] <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2593>. Consulta: 14 Jun, 2019.

Norma COVENIN, (1993). *La Comisión Venezolana de Normas Industriales, " Leche Cruda"*. N°903-87. Fecha 13-10-1993

Palella, S y Martins, F (2012). *Metodología de la investigación cuantitativa*. Editorial FEDUPEL. Caracas-Venezuela.

***-MSc. Producción Animal Sostenible. Médico Veterinario. Docente adscrito al Programa de Ciencias del Agro y del Mar UNELLEZ VPDS. Centro de Creación Intelectual en Neotecnología para la Genética y Producción Animal. Correo: paredes.ca@gmail.com**

****MSc. Producción Animal, mención Nutrición Animal. Ingeniero Producción Animal. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA. Departamento de Producción Animal. Barinas, Venezuela. Correo: neyoperez4@gmail.com**