

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA PARACENTRAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONOMICAS**



“EVALUACIÓN DE CUATRO EXTRACTOS BOTÁNICOS (RUDA *Ruta graveolens* L, AJO *Allium sativum*, ACHIOTE *Bixa orellana*, y TOMATILLO *Lycopersicum esculentum* Miller Var.), COMO UNA FUENTE ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE LAS BACTERIAS MAS FRECUENTES EN LOS PROCESOS DE MASTITIS EN EL GANADO BOVINO EN EL DEPARTAMENTO DE SAN VICENTE.”

POR:

MARIO GONZALEZ AYALA

LUIS ALONSO ROMERO LOPEZ

JORGE ANTONIO SEELIGMAN MOLINA

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

SAN VICENTE, SEPTIEMBRE 2003.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA : DRA. MARIA ISABEL RODRIGUEZ

SECRETARIA GENERAL : LIC. LIDIA MARGARITA MUÑOS VELA

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA PARACENTRAL

DECANO : LIC. JOSE NOEL ARGUETA IGLESIAS

VICE-DECANO : LIC. JOSE MARTIN MONTOYA POLIO

SECRETARIA : LICDA. ELIDA CONSUELO FIGUEROA LOPEZ

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONOMICAS

ING. AGR. Msc. RENE FRANCISCO VASQUEZ

DOCENTES DIRECTORES:

ING. AGR. Msc. RENE FRANCISCO VASQUEZ

DR. PEDRO ALONSO PEREZ BARRAZA

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el municipio de San Vicente, ubicado a 60 Km al oriente de San Salvador, el análisis se efectuó con diez muestras de leche procedentes nueve de la colonia Los Ángeles situada a 0.5 Km. al oriente de la ciudad y una muestra en la finca Corral de Piedra, ubicada en el Playón a 6 Km. al sur de la ciudad de Tecoluca, departamento de San Vicente.

Las características climáticas más importantes del departamento de San Vicente son: elevación de 380 m.s.n.m., temperatura media anual de 24° C y la humedad relativa promedio de 68 %, durante los meses de mayo a junio de 2002.

En la investigación se evaluó cuatro extractos botánicos (RUDA *Ruta graveolens* L, AJO *Allium sativum*, ACHIOTE *Bixa orellana*, y TOMATILLO *Lycopersicum esculentum* Miller Var), en concentraciones al 100 % y se usó la tetraciclina como testigo relativo, para determinar su sensibilidad en el control de las bacterias más frecuentes en los procesos de mastitis bovina dichos análisis se efectuaron en el Laboratorio Clínico Bacterium de la ciudad de San Vicente, encontrándose las bacterias siguientes: *Klebsiella* sp, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli* y *Streptococcus* sp, como los procesos causantes de mastitis bovina.

Los tratamientos evaluados fueron:

Tratamiento relativo (Tr) = Tetraciclina (concentración de 30 mcg).

Tratamiento uno (T1) = Extracto de ruda

Tratamiento dos (T2) = Extracto de ajo

Tratamiento tres (T3) = Extracto de achiote

Tratamiento cuatro (T4) = Extracto de tomatillo

Por medio de la presencia del halo se descubrió la sensibilidad de las bacterias, y se midieron y analizaron las variables siguientes: El tamaño del halo, su área y diámetro de los tratamientos (Tr, T1, T2, T3, T4) en las muestras de estudio. Por el tamaño del crecimiento del halo se determinó la efectividad bactericida de los extractos de ajo, achiote y tomatillo. Todas las bacterias fueron sensibles en cierto grado al extracto de ajo, pero el testigo (tetraciclina) experimentó el mayor crecimiento de la mayoría de las muestras, cabe mencionar que de algunas muestras el extracto de ajo fue más efectivo que el tratamiento Tr (tetraciclina). El extracto de achiote y tomatillo no

presentaron mayor acción bactericida, ya que fue mínimo el número de muestras con formación del halo.

AGRADECIMIENTOS

- Al Ing. Msc. Agr. René Francisco Vasquez y Dr. Pedro Alonso Pérez Barraza, por el interés demostrado durante el desarrollo del trabajo de investigación; además, agradecemos sus consejos como amigos.
- A la Licda. Gloria Antonieta Calderon Alferez, Licda. María Vicenta Perez y a todo el personal del Laboratorio Clínico Bacterium de San Vicente, por orientarnos en el análisis clínico realizado en el presente trabajo de investigación.
- Al Ing. Agr. Santos Ruben Rodriguez Pineda por habernos guiado en la elaboración de la investigación.
- A los señores ganaderos: Antonio Amaya, Jesús Urquilla y Gilberto Aguiluz por su desinteresada colaboración en el permitir la toma de muestras de sus vacas infectadas por mastitis bovina.
- A la Universidad de El Salvador por habernos permitido realizar nuestra formación académica.

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico con profundo respeto, admiración, cariño y agradecimiento a:

- **DIOS TODO PODEROSO Y SU MADRE LA VIRGEN MARIA:** Por que a pesar de todos los obstáculos que tuve en mi camino, me dio siempre fuerzad para seguir adelante y lograr así culminar mi carrera.

- **A MIS PADRES: MARIO GONZALEZ MOLINA Y ANA GLADYS AYALA DE GONZALEZ.** Que fueron pilares fundamentales de mi éxito ya que a pesar de todas las dificultades económicas me lograron apoyar en todo momento dándome su amor, cariño, comprensión y paciencia “Gracias Padres”.

- **A MI HERMANA VIRGINIA.** Ya que siempre mantuvimos buenas relaciones como hermanos en los buenos y malos ratos.

- **A LOS DOCENTES DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONOMICAS:** Lic. Nelsus, Ing. Alas, Ing. Victor, Ing. Bartolomé, Ing. Fredy, Ing. Agustín, Ing. Henriquez, Ing. Dagoberto, Ing. Felipe, Ing. Isidro, a ellos “GRACIAS”.

- **EN ESPECIAL A LA ING. AGR. ANA LILIAN CABRERA DE LAZO:** Por su apoyo en todas las materias que curse con ella. Además por sus consejos oportunos.

- **AL ING. Msc. AGR. RENE FRANCISCO VASQUEZ:** Por darnos su tiempo y experiencia en el desarrollo de esta investigación.

- **AL DR. PEDRO ALONSO PEREZ BARRAZA:** Por enseñarme durante mi época de estudiante todos los conocimientos que posee, además yo no lo considero como un docente, mas sino como un excelente amigo.

- **A MIS COMPAÑEROS DE TESIS:** Por el esfuerzo realizado en la elaboración de esta investigación.

- **AL PERSONAL DEL CAMPO:** Luis y Adán por su ayuda en mi época de estudiante.

- **A TODOS MIS COMPAÑEROS:** Que compartí a lo largo de toda la carrera.

MARIO GONZALEZ AYALA

DEDICATORIA

- **A DIOS TODO PODEROSO:** Porque a pesar de todos los obstáculos que tuve en mi camino, me dió siempre fuerzas para seguir adelante y lograr de esta manera coronar mi carrera.

- **A MIS PADRES: SANTOS EMILIO ROMERO VAQUERANO Y FELICITA LOPEZ.** Pilares esenciales de mi éxito, que a pesar de todas las dificultades económicas me lograron apoyar en todo momento dándome amor, cariño, y sobre todo comprensión.

- **A MI ESPOSA: INGRIDG BEATRIZ PEREZ DE ROMERO, Y A MI HIJO LUIS EDUARDO ROMERO PEREZ.** Por su comprensión, ayuda, apoyo moral y paciencia en todo el devenir de la carrera.

- **A MIS HERMANOS: GERMAN, ANA, MARTA, SAUL, MATEO, CESAR, DAVID, SANDRA, NOEMI, NORA, MAURICIO Y ADA.** Que siempre mantuvieron su ideal a que siguiera a delante en los momentos más difíciles de la carrera.

- **A MIS FAMILIARES, DOCENTES Y AMIGOS:** Por su apoyo moral y espiritual.

LUIS ALONSO ROMERO LOPEZ

DEDICATORIA

ESTA INVESTIGACION ESTA DEDICADA A:

- **A DIOS TODOPODEROSO:** Por proporcionarme la vida, guiarme por el camino a seguir e iluminar mi pensamiento y darme fortaleza para concluir mis estudios académicos.

- **A MIS PADRES:** MARIA GUADALUPE MOLINA DE SELIGMAN Y JORGE ATILIO SELIGMAN AYALA, con cariño y amor por el sacrificio que me han proporcionado para poder obtener mi título académico.

- **A MI ESPOSO E HIJO:** CONCEPCION GUADALUPE RODRIGUEZ DE SELIGMAN Y JORGE ENRIQUE SELIGMAN RODRIGUEZ, por darme confianza, apoyo y amor durante mi carrera.

- **A MI TIA:** MARIA REFUGIO AYALA DE ESPAÑA, por su apoyo tanto moral, espiritual y económico.

- **PARA EL PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONOMICAS:**

Por darme confianza, apoyo con sus consejos, y por todo eso GRACIAS.

- **A MIS FAMILIARES Y AMIGOS:** por su fiel apoyo en las buenas y malas durante mi carrera.

- **A TODOS MIS COMPAÑEROS:** por todos los momentos que hemos pasado juntos.

- **A MIS COMPAÑEROS DE TESIS:** por haber hecho posible esta investigación.

JORGE ANTONIO SELIGMAN MOLINA

INDICE

RESUMEN	vi
I- INTRODUCCION	1
II-REVISION DE LITERATURA	2
2.1 Generalidades de la enfermedad.....	2
2.2 Etiopatología.....	2
2.3 Factores predeterminantes.....	3
2.3.1 Higiene deficiente en establos.....	3
2.3.2 Receptividad aumentada	3
2.4 Transmisión.....	3
2.5 Síntomas.....	4
2.6 Manifestación de mastitis.....	4
2.7 Diagnostico	5
2.7.1 Análisis de mastitis junto a la vaca.....	5
2.7.2 Diagnostico de mastitis en el laboratorio.....	5
2.8 Control	6
2.9 Descripción botánica de la ruda (<i>Ruta graveolens</i>)	7
2.9.1 Uso terapéutico.....	7
2.9.2 Análisis fotoquímico.....	7
2.9.3 Propiedades curativas de la ruda (<i>Ruta graveolens</i>)	7
2.10 Descripción botánica del ajo (<i>Allium sativum</i>).....	8
2.10.1 Uso terapéutico.....	9
2.10.2 Análisis fotoquímica.....	9
2.10.3 Propiedades curativas del ajo (<i>Allium sativum</i>)	9
2.11 Descripción botánica del achiote (<i>Bixa orellana</i>).....	9
2.11.1 Análisis fotoquímico	10
2.11.2 Propiedades curativas del achiote (<i>Bixa orellana</i>)	10
2.12 Descripción botánica del tomatillo (<i>Lycopersicum esculentum</i> Millar Var.).....	10
2.12.1 Uso terapéutico.....	10
2.12.2 Forma de preparación.....	10
2.12.3 Análisis fotoquímico.....	11

2.13 Principales bacterias encontradas en las diferentes muestras de leche con procesos de mastitis bovina.....	11
2.13.1 <i>Klebsiella sp.</i>	11
2.13.2 <i>Staphylococcus epidermidis</i>)	12
2.13.3 <i>Staphylococcus aureus</i>)	13
2.13.4 <i>Esherichiae coli</i>)	15
2.13.5 <i>Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis</i>) ...	17
III- MATERIALES Y METODOS	20
3.1 Localización.....	20
3.2 Factores climáticos.....	20
3.3 Características edificas.....	20
3.4 Metodología de campo.....	21
3.4.1 Identificación de vacas portadoras de mastitis.....	21
3.4.2 Técnicas de recolección de leche.....	21
3.4.3 Características de las vacas muestreadas.....	21
3.5 Procedimientos para la preparación de extracto.....	22
3.5.1 Ajo (<i>Allium sativum</i>)	22
3.5.2 Achiote (<i>Bixa orellana</i>).....	22
3.5.3 Ruda (<i>Ruta graveolens</i>).....	22
3.5.4 Tomatillo (<i>Lycopersicum esculentum</i> Millar Var.).....	22
3.6 Cantidad usada.....	23
3.7 Trabajo de laboratorio	23
3.7.1 Materiales.....	23
3.7.2 Medios de cultivo	23
3.7.3 Reactivos	24
3.7.4 Equipo	25
3.7.5 Selección del antibiótico para control.....	25
3.7.6 Procedimiento técnico laboratorial bacteriológico.	25
3.8 Aislamiento e insolación de bacterias.....	26
3.9 Procedimientos del antibiogramas con los extractos botánicos.....	27
3.10 Variable de evaluación	28
IV- RESULTADOS Y DISCUSION	29

4.1 Resultados del análisis laboratorial bacteriológico de las muestras de leche.....	29
4.2 Resultado general de insolamiento de bacterias.....	33
4.3 Bacteria: <i>Staphylococcus epidermidis</i>)	34
4.4 Bacteria: <i>Staphylococcus aureus</i>)	37
4.5 Bacteria: <i>Streptococcus sp</i> (colonia beta hemolítica).....	41
4.6 Bacteria: <i>Escherichiae coli</i>)	44
4.7 Bacteria: <i>Klebsiella sp</i>)	47
4.8 Análisis económico.....	50
V- CONCLUSIONES	52
VI- RECOMENDACIONES.....	53
VII- BIBLIOGRAFIA	54
VIII- ANEXOS	57

INDICE DE CUADROS Y ANEXOS

CUADRO	PÁGINA
1- Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: <i>Staphylococcus epidermidis</i> , en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina.....	34
2- Evaluación del diámetro, area y porcentaje de halo en Tr y T2 en la bacteria: <i>Staphylococcus epidermidis</i> ,	35
3- Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: <i>Staphylococcus aureus</i> en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina	37
4- Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: <i>Streptococcus sp</i> , en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina	41
5- Efectos de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: <i>Escherichiae coli</i> , en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina.....	44
6- Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: <i>Klebsiella sp</i> , en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina.....	47
7- Costos por tratamiento de productos masticadas.....	71
8- Presupuesto para la evaluacion de extractos botanicos con propiedades bactericidas.....	73

INDICE DE FIGURAS Y ANEXOS.

FIGURA	PÁGINA
1- Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Staphylococcus epidermidis</i>)	34
2- Determinación del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Staphylococcus epidermidis</i>)	35
3- Determinación del porcentaje del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Staphylococcus epidermidis</i>)	36
4- Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>)	38
5- Determinación del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>)	39
6- Determinación del porcentaje del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>)	40
7- Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Streptococcus sp.</i>)	41
8- Determinación del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Streptococcus sp</i>)	42
9- Determinación del porcentaje del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Streptococcus sp</i>)	43
10- Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Escherichiae coli</i>)	44
11- Determinación del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Escherichiae coli</i>)	45
12- Determinación del porcentaje del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Escherichia coli</i>).	46
13- Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Klebsiella sp</i>)	47
14- Determinación del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Klebsiella sp</i>)	48

15- Determinación del porcentaje del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria <i>Klebsiella sp</i>).....	49
16- Muestra. 1. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	58
17- Muestra.2. <i>Streptococcus sp</i> (colonia beta hemolitica)	59
18- Muestra.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	60
19- Muestra.3.1. <i>Escherichiae coli</i>	61
20- Muestra.4. <i>Klebsiella sp</i>	62
21- Muestra.5. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	63
22- Muestra.5.1. <i>Escherichiae coli</i>	64
23- Muestra.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	65
24- Muestra.7. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	66
25- Muestra.8. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	67
26- Muestra.9. <i>Staphylococcus aureus</i>	68
27- Muestra.10. <i>Staphylococcus aureus</i>	69
28- Muestra.10.1. <i>Escherichiae coli</i>	70

I- INTRODUCCIÓN

En el contexto mundial la mastitis bovina ha ocasionado grandes pérdidas económicas en las granjas de explotación lechera y en El Salvador es un problema que afecta en gran medida el nivel productivo de la ganadería; siendo controlada con productos químicos, lo cual resulta ser anti-económico para el pequeño productor de leche debido a su elevado costo.

El estudio se realizó en los meses de mayo a junio del 2002, en el Laboratorio Clínico Bacterium de San Vicente, con muestras procedentes de los establos ubicados en la Colonia Los Ángeles de la ciudad de San Vicente y El Playón, municipio de Tecoluca, departamento de San Vicente. Las variables evaluadas en cultivo in Vitro fueron las siguientes: presencia, crecimiento o tamaño del halo, diámetro del halo, sensibilidad de la bacteria al poder bactericida de los cuatro extractos botánicos (RUDA *Ruta graveo lens L*, AJO *Allium sativum*, ACHIOTE *Bixa orellana*, y TOMATILLO *Lycopersicum esculentum Miller Var.*), y al testigo relativo (tetraciclina). Se recolectó la leche de diez vacas con procesos de mastitis y en el laboratorio se procedió a aplicarle a las muestras técnicas de laboratorio para dejar a las bacterias en su estado puro, y luego se efectuaron antibiogramas utilizando el antibiótico tetraciclina (30 microgramos) por ser de amplio espectro y los extractos de ruda, ajo, achiote y tomatillo en concentraciones al 100 %.

Las bacterias encontradas en las muestras de leche con procesos de mastitis fueron: M1 = *Staphylococcus epidermidis*, M2 = *Streptococcus sp*, M3 = *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichiae coli*; M4= *Klebsiella sp*; M5 = *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichiae coli*; M6 = *Staphylococcus aureus*; M7 = *Staphylococcus epidermidis*; M8 = *Staphylococcus epidermidis*; M9 = *Staphylococcus aureus* y M10 = *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli*.

II- REVISION DE LITARATURA

2.1 Generalidades de la enfermedad

El término de mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria en las vacas, lo cual trae como consecuencia que se alteren las características físicas, químicas y bacteriológicas de la leche y que se modifique el tejido glandular. Por lo tanto, se produce una reducción en la cantidad de leche producida.

Aunque la mastitis ocurre esporádicamente en todos los mamíferos, adquiere mayor importancia económica solamente en las vacas lechera. Es sin duda, la enfermedad más importante con la cual debe enfrentarse la industria lechera (Noguera, 2003).

La mastitis comúnmente reduce la producción de leche en un 10 % aproximadamente de ahí su gran importancia económica. Esta enfermedad no solamente afecta el ganado vacuno sino también las ovejas, cabras, cerdas, afectándole uno o varios cuartos, ya que se transmite de un animal a otro, por las manos del ordeñador, o la maquinaria ordeñadora, por la suciedad de los corrales, establos o moscas (Bayer, s.f.).

2.2 Etiopatología

Entre los principales orígenes están: agua contaminada, falta de condiciones higiénicas (corrales, establos, maquina ordeñadora) manos sucias del ordeñador, ordeño incompleto, heridas en la ubre y traumas (Campos, et al.1995).

Los microorganismos causantes en la mastitis son: *Streptococcus agalactiae*, *S. Dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. zooepidermicus*, *S. bovis*, *Proteus ssp.*, *Glostridium pergringens*, *Corynebacterium pyogenes*, *C. bovis*, *Nocardia asteroides*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichiae coli*, *Klebsiella pneunoniae*, *Candida tropicalis*, *C. pseudotropicalis* (Figueroa, 1984. Rodríguez, 1999).

2.3 Factores predisponentes

2.3.1 Higiene deficiente en establos

Existe una serie de elementos que ejercen influencia en la explotación lechera, una de la más importante es la higiene en los establos para mantener un hato libre de infecciones. Los suelos irregulares cuando la cama no es abundante, son causas de traumatismo. Pisos con mal drenaje no ofrecen buenas condiciones para el ganado, camas que no se cambian con frecuencia, las pajas como rastrojos y henos, favorecen la proliferación de hongos y bacterias y no son buenos aislantes para el suelo (Figueroa, 1984) .

2.3.2 Receptibilidad aumentada

La aparición de la mastitis puede ser favorecida por la edad, fase de lactación, factores hereditarios, influencias hormonales, factores alimenticios y padecimientos generales (Campos, et al., 1995).

El ordeño defectuoso: tosco e inexperto y el descamado predisponen a la mastitis. También con la maquinaria de ordeño, el uso de pezoneras mal diseñado, o dejar las pezoneras en un cuarto vacío puede conducir a problemas. Las magulladuras son una importante causa de predisposición, por eso nunca debe apresurarse a las vacas principalmente antes del ordeño, ya que la ubre puede resultar herida esto se aplica particularmente a las vacas viejas en que su ubre es grande y pedicular (Pérez, 1994).

2.4 Transmisión

No hay región en el mundo donde no haya vacas productoras de leche en explotación que no tengan mastitis. Se transmite muy fácilmente por medio de ordeño mecánico o manual, sin cuidados higiénicos, por contacto de los pezones con los pisos contaminados y sucios, por medio de moscas, por limpiar y secar los pezones de las vacas en el momento del ordeño con trapos o limpiadores contaminados poco antes por animales enfermos aumentan las posibilidades de infección, los traumatismos y heridas de los pezones (Life, s.f.).

La principal vía de penetración del microorganismo a la glándula mamaria es la ascendente, es decir por la teta, siendo poco frecuente la vía descendente, cuando el germen penetra por el torrente sanguíneo hasta la ubre (Merck, 1993).

2.5 Síntomas

La primera evidencia de infección se manifiesta por presencia de coágulos en la leche, inquietud y molestias en la vaca cuando se ordeña, inflamación de la ubre, falta de apetito y elevación de la temperatura en los casos generalizados agudos, baja producción de leche, después de la inflamación puede sobrevenir un hundimiento de uno o más cuartos, presentar abscesos internos (Life, s.f.).

El aspecto de la ubre es seroso, con pus y otros elementos que forman grumos blanco a amarillos como consecuencia del proceso inflamatorio que se forma, y en los casos graves, la leche puede ser rosada debido a la presencia de sangre (Merck, 1993).

2.6 Manifestación de la mastitis

Según Canales et al. (1996), la mastitis puede manifestar clínicamente en diversas formas, desde una mastitis muy severa con síntomas de afección sistemática generalizada y que puede conducir a la muerte, hasta una mastitis no detectable por simple inspección y examen físico del animal. Entre estos casos extremos se presentan cambios intermedios de mastitis que pueden variar de una sintomatología según la severidad así: infección, mastitis clínica, mastitis sub. clínica y mastitis crónica.

La mastitis se clasifica en la misma forma que las inflamaciones en otros tejidos. De acuerdo al tiempo que tenga el animal de padecerla puede ser agudo o crónico, aun cuando pueden existir infecciones sub.-agudas por un lapso de tiempo. (Merck, 1993).

La mastitis crónica puede demostrar pocos síntomas de alteración. Sin embargo, en tales casos, la leche puede tener un aspecto aguadoso o sanguinolento, tiene un sabor amargo y a veces coágulos en los primeros chorros de leche ordeñada del cuarto infectado. En los casos agudos esta inflamada, tenso y dolorosa. La producción de leche baja rápidamente y la vaca puede tener fiebre, inapetencia, pérdida de la vitalidad y a veces muere (Rivera, 2003).

2.7 Diagnostico

Existen dos tipos de diagnostico: el diagnostico de mastitis junto a la vaca y el diagnostico de mastitis en el laboratorio:

2.7.1 Análisis de mastitis junto a la vaca:

El diagnostico precoz de la mastitis es indispensable para poder tomar en forma inmediata las medidas que el caso reclame, las principales pruebas físicas para determinar la mastitis son: Examen de la vaca, prueba de mastitis de California (PMC), entre otras.

- a) Examen de la vaca: el examen clínico general de la vaca y de sus antecedentes sanitarios, productivos y reproductivos debe preceder al examen de la ubre. Debe ser examinada tanto llena como recién ordeñada, también se debe examinar los ganglios linfáticos detectables por palpación, la disminución de la cantidad de leche así como el cambio de sus características físicas, puede ser la primera manifestación de mastitis.
- b) Prueba de mastitis de California (PMC): existe comercialmente un juego que comprende una cuchara de plástico y reactivos necesarios, se mezclan cantidades iguales (2 ml), de reactivo y leche en las indentaciones de la paleta de plástico, por medio de un movimiento circular, las muestras negativas no forman el gel, las muestras positivas presentan grados variables de gelatinización lo que refleja el grado de inflamación de la ubre (Mateo, 1984).

2.7.2 Diagnostico de mastitis en el laboratorio:

En el laboratorio la leche puede ser sometida a varias pruebas a evaluar su estado sanitario así como para pronosticar el estado sanitario de la ubre, entre las principales pruebas de laboratorio están: recuento de células somáticas, conductividad eléctrica, y concentración de albúminas sericas de la leche (Mateo, 1984).

2.8 Control

La solución en gran parte, radica en establecer medidas profilácticas y de higiene en el método de ordeño, podemos señalar las siguientes:

1. Higiene en el ordeño para evitar la transmisión de gérmenes de una vaca a otra.
 - Se debe bañar a las vacas en conjunto antes del ordeño, dejándola reposar por un rato en un lugar aparte del sitio de ordeño. Esta medida hace que se estimule el defecado y la micción, evitando que lo hagan durante el ordeño.
 - Lavado de ubres en forma individual y secado con papel absorbente. Con esta practica no solo se retira el lodo y el estiércol de la piel, sino también se estimula la baja de la leche.
2. Realizar un buen ordeño con un buen escurrido total de la leche de la ubre. Al finaliza el ordeño debe aplicarse un sellador en el orificio del pezón, evitando así la penetración de gérmenes que infecten la ubre.
3. Revisión periódica de los pezones y del equipo de ordeño cuando es mecánico, sustituyendo pezoneras viejas y agrietadas que son fuentes de infección. Al finalizar el ordeño pasar las pezoneras por una solución desinfectante. Si el ordeño se realiza a mano el ordeñador debe lavarse las manos con agua y luego sumergirlas en una solución desinfectante.
4. Además de estas medidas profilácticas, cada cierto tiempo, el California Mastitis Test (CMT), al rebaño. Esta es una prueba para determinar la mastitis en rebaños más que en vacas individuales.
5. Tratar correctamente los casos clínicos. Ordeñar a fondo y a mano los cuartos afectados y aplicar el tratamiento curativo. Las vacas con mastitis deben ordeñarse al final
6. Establecer un programa de secado. Al secar una vaca se debe aplicar un tratamiento con antibióticos, especialmente en vacas con antecedentes de mastitis. Con esta practica se reducen las infecciones en el parto siguiente (Noguera, 2003).

2.9 Descripción botánica de la ruda *Ruta graveo lens*

Según Planter (1989) y Zona verde (2003). La ruda es una hierba lampiña, leñosa en la base, glauca de olor fuerte y desagradable de 30-60 cm. de altura o más. Hojas alternas bi o tri pinnadas, punteado –glandular, los segmentos lineales, elípticos u ovalados, flores en grupos terminales: corola de 4-5 pétalos amarillos, frutos cápsula, 4-5 loculos de 7-9 cm. de ancho.

2.9.1 Uso terapéutico

Se utiliza para el dolor de vientre, para sacar lombrices (antihelmíntico), para el aire (carminativo), contra la tos, dolor de estomago, estimula el flujo sanguíneo hacia los órganos digestivos y muscular liso en general, aumenta la resistencia a los capilares sanguíneos, también en el tratamiento de desordenes del sistema nervioso autónomo. (Zona verde, 2003).

Según la bibliografía en México, se utiliza como: ascarida, antidiarreico, antiespasmódico, antiepiléptico, antiparásito, antitusígeno, diurético, oxitóxico, analgésico y antibacteriano (Planter, 1989).

2.9.2 Análisis fotoquímico

El análisis fotoquímico de la ruda *Ruta graveo lens*, contiene en las hojas, tallo y raíz: Alcaloides, flavonoides, taninos, triperpenos y aceites esenciales. En las hojas y semillas, el aceite esencial se encuentra en concentraciones de 0.28 y 1.0 % respectivamente, además en los flavonoides, también encontramos rutina, queratina, azucars, materias resinosas, peptídicas, principios amargos, gomas, taninos, alcaloides y cumarinas (Zona verde, 2003).

2.9.3 Propiedades curativas de la ruda *Ruta graveo lens*

La ruda pertenece a la familia de las Rutáceas, originaria de la región del mediterráneo y se localiza en cultivares de poblaciones rurales y urbanas. Entre los usos terapéuticos populares tenemos: para controlar el dolor en el vientre, sacar lombrices (antihelmíntico), sacar el aire (carminativo), entre otros usos.

Existen dos recetas folclóricas relacionadas con las propiedades curativas de la ruda *Ruta graveo lens*: la primera para el dolor del vientre o del estomago, sacar el aire y la tos rebelde, se muelen dos cogollos de ruda por tasa de agua, se prepara la horchata y se coloca a hervir, tomar una tasa.

La segunda es para sacar las lombrices, hervir tres pulgadas de ramita de ruda en ¼ de botella de agua, ponerle una cucharadita de alcohol y tomar en ayuna (Planter, 1989).

En la actividad antimicrobiana y toxicidad, los cultivos etanolicos de tallo y raíz, mostraron actividad inhibitoria en cultivos de *Escherichae coli* y *Staphylococcus aerus*, mientas que los extractos etanolicos de hojas tallos y raíces fueron toxicas para los peces. Los extractos acuosos de tallos y raíz, en concentraciones de 40-500

ppm eliminaron algunos peces. La ruda tiene efectos abortivos y mutagénicos comprobados; el aceite esencial es extremadamente irritante para la piel y mucosas, se considera venenosa en dosis mayores de 2 gramos de polvo seco por día (Shimer, 1990).

La certificación de un medicamento de origen natural requiere de importantes estudios químicos, farmacognóstico y agronómico, lo que demanda grandes volúmenes de material vegetativo de la especie en análisis. Por lo tanto la ruda, actualmente esta siendo estudiada para corroborar sus actividades antimicrobianas y bactericida, de los cuales es utilizada por la población desde hace mucho tiempo (Ferrada, s.f.).

2.10 Descripción botánica del ajo *Allium sativum*

Planta perenne de la familia de las liliaceas de hasta 1.5mt. De altura. Las hojas planas de hasta 8 Mm. de anchura. Flores verdosas o blanquecinas, a veces rosada, muy poco abundantes. (Algunas veces inexistentes) que sobresalen con un largo pedúnculo sobre la cabezuela de bulbillos. Espata mucho más larga que la cabezuela. Bulbo (Cabeza de ajo).Formado por una envoltura blanca dentro de la cual se encuentran varios bulbillos. (Dientes de ajo). Su origen se ubica en Asia Central, donde se extendió ampliamente (Servicio wed.cl, 2003).

2.10.1 Uso terapéutico

Es utilizado para curar reumatismo, tos rebelde, es antiséptico diaforético, expectorante y antibacteriano, tiene acción bactericida en anginas de la garganta, colitis crónica, gastritis, inhibe las bacterias del *Microbacterium tuberculosis* (Rodríguez, 2003).

2.10.2 Análisis fotoquímico

El ajo demuestra que tiene antraquinonas, alcaloides, taninos, esteroides insaturados, aceites esenciales (Planter, 1989)

2.10.3 Propiedades curativas del ajo *Allium sativum*

Propiedades medicinales del ajo son el resultado de su contenido de componentes de sulfuro, incluyendo aquellos que son responsables de liberar el olor agrio, cuando un tubérculo es exprimido. El ajo en su estado natural (crudo), es más efectivo para el control de muchas enfermedades, ya que al cocinar varios componentes volátiles tienden a desaparecer (Planter, 1989).

Según estudios realizados por Rodríguez. (1999).El extracto de ajo en concentraciones al 25, 50, 75 y 100%, tiene propiedades bactericidas en los cultivos In Vitro en bacterias, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Echerichiae coli*, *Klebsiella sp.* Que son causantes de los procesos de mastitis bovina.

2.11 Descripción botánica del achiote *Bixa orellana*

Arbusto o árbol pequeño cuyas ramas se inician a un metro a la altura del suelo y puede crecer hasta uno a seis metros. Su aspecto es robusto, muy frondoso y ornamental, con hojas grandes codiformes, color pardo con algunas vetas rojizas.

Flores hermafroditas, muy vigorosas, blancas y rosadas, agrupadas en panículos o en inflorescencias terminales con estambres numerosos (Sabillon y Bustamante, 1996).

2.11.1 Análisis fotoquímico

Entre los componentes del achiote se encuentran la bixina, apiginina, luteína, beta caroteno, triterpenos (tocotrienol) (Wedcolombia, 2002).

2.11.2 Propiedades curativas del achiote *Bixa orellana*

Los extractos etanolicos de los frutos y hojas muestran actividad antibacteriana in Vitro sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli* y *Salmonella typhi*. Los extractos de la de la semilla en cloroformo y los acuosos, en incubación gástrica en perros presentan actividad hipoglucimienta (Wedcolombia, 2002).

2.12 Descripción botánica del tomatillo (*Lycopersicum esculentum* Miller Var.)

Herbáceo anual, erecto, extendido o trepador, llegando a alcanzar dos metros o más. Hojas alternas de 11 a 40 centímetros de largo, dentadas e irregularmente lobadas, flores amarillo pálido, dispuestas en racimos de cinco a seis centímetros de largo, frutos redondos pequeños, color rojo, tiene semillas redondas y planas (Sabillon y Bustamante, 1996).

2.12.1 Uso terapéutico

Se usa como fungicida, repelente, insecticida, atrayente, nematostático, antialimentario y antibacterial (Sabillon y Bustamante, 1996).

2.12.2 Análisis Fotoquímico

El tomatillo contiene alcaloides, taninos, glucósidos cardiotónicos y triperpenos (Planter, 1989).

2.13 Principales bacterias encontradas en las diferentes muestras de leche con proceso de mastitis bovina.

2.13.1 *Klebsiella sp.*

Su hábitat natural lo constituye el agua, lo que explica su frecuencia en el agua, así como su existencia en el intestino del hombre y los animales. Es raramente patógeno, pero ha sido aislado de cistitis humana y canina, se encuentra también en casos de mastitis bovina, donde persiste y produce casos clínicamente ostensibles de la enfermedad en los animales de la especie patógena es la *Klebsiella genitalium* (Brock et al, 1997).

a) Transmisión

Si se transmite con facilidad en el coito, especialmente en el semental infectado, la falta de la asepsia en la inseminación artificial y en el examen de las yeguas con anormalidades genitales es un factor de difusión de la infección (Brooks, 1992).

b) Morfología y tinción

Es un germen inmóvil basilar, en cápsula do, con morfología variable desde forma conoide hasta alargadas. Se tiñe fácilmente con los colorantes de añelina y es Gram. Negativo. La cápsula que rodea al germen puede apreciarse tiñendo por cualquiera de los métodos especiales de por la cápsula (Brock et al, 1997).

c) Resistencia

La bacteria muere fácilmente a la temperatura de 60° C, durante 20 minutos y ante las desinfectantes corrientes (Brooks, 1992).

d) Estructura antigénica y toxinas

Todas las cepas equinas pertenecen al mismo grupo antigénico, según las reacciones de aglutinación y precipitación. No produce exotoxina (Carter y Chengappa, 1994).

e) Poder patógeno

Produce septicemia en caballos y conejos, matándolos en 12 a 24 horas. La inyección intrauterina de suspensiones de gérmenes vivos en sueros fisiológicos, a la yegua en edad de

reproducción, produce intensa cervicitis y metritis acompañada de exudado viscosa–purulento abundantemente y los pocos días. La indeferencia del ciclo estral y la esterilidad permanente son secuelas frecuentes de la infección (Carter y Chengappa, 1994).

f) Diagnostico

La infección por *Klebsiella sp.* Se diagnostica mediante el aislamiento e identificación del germen. Se forman aglutinas sin duda durante la enfermedad, pero la reacción de aglutinación no se emplea en el diagnostico habitual de la infección (Merchant y Packer, 1980).

2.13.2 *Staphylococcus epidermidis*

a) Descripción de la bacteria

Los *Staphylococcus sp.* Son parásitos frecuentes de los animales y, los humanos y en casos especiales originan infecciones serias. En el hombre se conocen dos formas principales las cuales son: *Staphylococcus epidermidis* y la *S. aureus*. Las cepas de *Staphylococcus aureus* son generalmente coagulosa positiva mientras que el *Staphylococcus epidermidis* es coagulosa negativa (Brooks, 1992).

b) Identificación de *Staphylococcus epidermidis*

Para identificarla se hace a través de una prueba diagnostica. Se utiliza coagulosa cruzada, que causa la coagulación del plasma sanguíneo y se da un proceso que consiste en una suspensión líquida densa y mixta, de bacterias con plasma; buscar o incubar signos de coágulos en pocos minutos. La *S. aureus* es positiva (+) y la *S. epidermidis* es negativa (-) (Brooks, 1992).

2.13.3 *Staphylococcus aureus*

a) Sinonimia e historia

Staphylococcus pyogenes aureus, *Staphylococcus pyogènes*, *Micrococcus pyogènes* Var. Aureus, M. *pyogenes* var. *albis*. El germen fue descrito por el pus y otros elementos que se forman grumos blancos como consecuencia del proceso inflamatorio (Brooks, 1992).

b) Distribución y transmisión

Este *Staphylococcus* está difundido por todo el mundo formando parte de la flora bacteriana de la piel y mucosa del hombre y los animales. Se encuentra en las partes más altas del aparato respiratorio humano. Existen en una multitud de productos de origen animal, como la leche y la carne. El germen ha sido llamado “oportunista”, ya que espera las condiciones adecuadas para invadirlo (Carter y Chengappa, 1994).

c) Morfología y tinción

En un germen esférico y a veces ligeramente aplanado por uno de los lados, cuando hay dos juntos. En el pus y la sangre aparecen generalmente en forma de racimos, lo que justifica el nombre de *Staphylococcus*. En los medios, los cultivos se agrupan irregularmente, siendo raras las parejas cortas. El diámetro de las células varía de 0.8 a 1.0 μ . No produce esporas, ni cápsulas. Se tiñe bien de colorantes ordinarios de anilina y es Gram Positivo (Merchant y Packer, 1980).

d) Resistencia

De ordinario la temperatura a 60° C durante media hora destruye todos los gérmenes pero algunos requieren 80°C durante el mismo tiempo. Los *Staphylococcus* son gérmenes asporógenos pero resistentes a los desinfectantes.

Los *Staphylococcus* son sensibles a muchos antibióticos entre ellos la penicilina, estreptomina, clortetraciclina, oxitetraciclina, tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, basitracina, neomicina, estreptomina, espiramicina y vancomicina.

La penicilina ha sido el antibiótico tipo empleado en el tratamiento de la Staphylococia. En consecuencia siempre es aconsejable determinar cuál es el antibiótico más recomendable, para emplearlo frente a un cultivo recién aislado, realizando pruebas de sensibilidad con una serie de antibióticos diferentes (Merchant y Packer, 1980).

e) Poder patógeno

Esta bacteria interviene en mayor parte en los procesos supurados de heridas en el hombre y en los animales. Puede localizarse en cualquiera de los tejidos corporales, pero lo que es el germen que con más frecuencia produce piemia. En el hombre es uno de los agentes etiológicos de osteomielitis, sinusitis, tonsilitis, forúnculos, mastoiditis, endocarditis y queratitis ulcerativa. En los animales el germen se ha comprobado en los siguientes procesos: mastitis de la vaca y la

Oveja, dermatitis pustulosa del perro y abscesos en todas las especies incluidas, parece ser que su presencia en la mama bovina va en aumento se ha observado que las cepas bovinas eran atacadas por un bacteriófago que el recomendó como útil indicación de ciertas infecciones estafilococicas humanas. Las vacas más viejas están predisuestas a la infección aunque algunas pueden adquirir resistencia (Carter y Chengappa, 1994).

f) Diagnostico

La identificación del *Staphylococcus aureus* se logra empleando medios y técnicas especiales. Las células patógenas de este germen se identifican por la producción de hemólisis y coagulosa.

Se ha comprobado que las cepas estafilococis toxígenas coagulosa positivas producen reacciones típicas en la prueba hoticon muestra de leche. Estos gérmenes producen colonias adherentes verdes-pardo-verdosos, marrones o rojizas con centros blancos, tras la incubación de leche durante 16 a 20 horas. Después de la nueva incubación (40 horas) se digiere la leche. Sin embargo la presencia de hemólisis Beta en torno a las colonias del germen cultivado a partir de la muestra de leche, es suficiente para la identificación de microbios (Brooks, 1992).

2.13.4 *Eschrichiae coli*

Los microbios pertenecientes al genero *Eschrichia* están muy difundidos en la naturaleza y se encuentran corrientemente en el tracto intestinal normal del hombre y de los animales, en los que frecuentemente produce enfermedades (Carter y Chengappa, 1994).

a) Sinonimia e historia

Bacillus coli, *Bacterium coli* y Bacilo del colon del hombre son nombres que recoge, además de otros el manual de Bergey. *Escherichiae coli* fue aislada por primera vez por Echerichi en 1985, a partir de heces de niños, pero fue descrito mas detalladamente en 1886. Desde entonces los gérmenes han sido encontrado en el tracto intestinal de todos os vertebrados prácticamente (Brooks, 1992).

b) Distribución y transmisión

Esta bacteria cosmopolita; se transmite por el agua y alimentos contaminados con materias fecales (Brooks, 1992).

c) Morfología y tinción

Eschrichiae coli es un bacilo corto de 0.5 μ de ancho por 1.0 a 3.0 μ de largo variando desde formas cocoides bipolares, hasta largos filamentos, frecuentemente se presenta aislado pero no son raras las cadenas cortas.

No produce esporas, de ordinario se mueve hacia sus flagelos peritricos, pero algunas cepas carecen de ellos, se tiñe fácilmente por los colorantes añil y es Gram. negativo (Merchant y Packer, 1980).

d) Resistencia

Muere generalmente a 60° C en 30 minutos pero algunas cepas termo resistente pueden soportar este calentamiento. Algunos gérmenes aislados pueden vivir en el hielo durante 6 meses. El 95 % de las bacterias mueren al cabo de dos horas de congelación con aire líquido. También mueren rápidamente por desecación y por la acción desinfectante corrientes, tienen actividad intermedia la hidroestoptomicina, clortetraciclina, tetraciclina y la oxitetraciclina. Los menos eficaces fueron la penicilina, oleandomicina, furaltadona y nicroxizona (Carter y Chengappa, 1994).

e) Poder patógeno

La mayoría de los casos de disentería, diarrea blanca, o colibacilosis de los terneros son producidas por *Escherichiae coli*. En realidad los animales jóvenes son más susceptibles que los viejos. También producen en los bovinos píelo nefritis, infecciones umbilicales, artritis, cervicitis, cistocitis, cistitis, mastitis y metritis.

Escherichiae coli se considera producto de exudado purulento, habiéndose aislado en heridas infectadas y abscesos de varias especies de animales. Durante el periodo agónico de muchas enfermedades invade la sangre, por cuya razón puede atribuírsele a la septicemia (Merchant y Brooks, 1992).

f) Diagnostico

El germen puede identificarse mediante el aislamiento en cultivo puro y siembra en diversos medios diferenciales. En él diagnostico de la enfermedad, los medios empleados para el aislamiento primario deben ser suficientemente nutritivos para permitir el crecimiento de otros géneros sospechosos. Si no se hace esto, puede aislarse la *Escherichia coli* en numerosos tejidos puesto que crece en cualquier tipo de medio (Merchant y Packer, 1980).

2.13.5 *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*

Estas especies de *Streptococcus* se diferencian bioquímicamente y serologicamente; sin embargo intervienen en la mastitis bovina y en general se designan con el nombre “Streptococcus de la mastitis”. Dado a que son similares y se encuentran en el mismo tejido, parece aconsejable estudiarlos en un grupo (Carter y Chengappa, 1994).

a) Sinonimia e historia

Streptococcus agalactiae fue aislado de mastitis de la vaca y descrito por primera vez por Nocard y Mollereau en 1884 y en sucesivas publicaciones en 1885 y 1887. Hasta 1929 casi todos los casos de mastitis estreptocócica se atribuían a *Streptococcus agalactiae*.

Streptococcus agalactiae fueron designados con el nombre de grupo “II no hemolítico”. Los *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis* corresponden a los grupos II y III, respectivamente (Brock et al. 1987).

b) Distribución y transmisión

Estas tres especies de *Streptococcus* son cosmopolitas, hallándose en cualquier parte donde existan vacas lecheras. La frecuencia de la mastitis Estreptocócica suele ser alta hasta el 80 % se ha señalado en estados lecheros. Pocos están completamente libres de la enfermedad, hay una serie de factores relacionados con la difusión que todavía no se conocen bien; sin embargo, generalmente se admite que el modo más frecuente de difusión es mediante las manos del ordeñador, o las pezoneras de la ordeñadora mecánica. Se ha demostrado que las moscas son capaces de transmitir la enfermedad (Merchant y Packer, 1980).

c) Morfología y tinción

Streptococcus agalactiae y *Streptococcus dysgalactiae* no son muy diferentes al *Streptococcus pyogenes* morfológicas y tintorialmente. *Streptococcus uberis* muestra menos tolerancia a formar largas cadenas apareciendo de ordinario, en parejas o cortas cadenas (Merchant y Packer, 1980).

d) Resistencia

Streptococcus agalactiae ha sido hallada en la leche pasteurizada, esto parece demostrar que el germen es capaz de resistir algunas veces a la temperatura de pasteurización, mientras que el *Streptococcus pyogenes* nunca soporta la pasterización bien realizada.

Se ha llegado a la conclusión del *Streptococcus agalactiae* muere rápidamente en la cama del establo. A las 24 horas ha muerto la mayoría, pero unos pocos pueden vivir 6 a 9 días. Los investigadores comprobaron la presencia de gérmenes en las manos de los vaqueros que habían atendido las vacas infectadas (Carter, 1994).

e) Poder patógeno

Generalmente la mayor parte de mastitis en los establos son producidas por *S. agalactiae*. Esta produce una mastitis parenquimatosa, caracterizada por una aparición aguda, seguida de un proceso crónico progresivo, que produce una fibrosis de la glándula infectada. La infección es permanente, pasando por un periodo de lactación a otro con algunos agudos ocasionales.

La mastitis producida por *Streptococcus dysgalactidae*, es menos frecuente, la enfermedad suele ser más aguda, con menos tendencia a la cronicidad que en la infección, por *S. agalactiae*. y *S. uberis*, puede producir una mastitis aguda que luego se hace crónica. Aunque su curso es más transitorio con menos tendencia a una infección permanente. El aspecto de la leche en la mamitis es muy variable dependiendo sobre todo sobre la gravedad y la etapa de infección. En las fases agudas aparecen masas de coágulos formados por un exudado purulento, tejidos necrosados, proteínas lácteas coaguladas y bacterias. En los casos crónicos, la mama puede ser normal microscópicamente, pero hay un ligero aumento de leucocitos y una cantidad elevada de *Streptococcus sp.* (Merchant y Packer, 1980).

f) Diagnostico

El aislamiento de *Streptococcus* de la leche es prueba de mastitis. Esto debe de hacerse llevando a la estufa la leche de la mama infectada, empleándola así como medio de cultivo, o sembrando el germen en medios adecuados. Es preferido el agar sangre puesto que no solo crece bien el germen, sino que se aprecia bien su acción sobre la sangre. El agar-sangre-cristal violeta ácida sodica es un método muy adecuado para el aislamiento habitual de *Streptococcus*, puesto que inhibe el crecimiento de los contaminantes, que podrían conducir a confusión. La demostración de los *Streptococcus* en la leche debe ir seguida de la identificación del germen para establecer un diagnostico exacto. Que nos permitirá diagnosticar con exactitud la enfermedad y diferenciar el germen de los *Streptococcus saprofitos* que a veces existen.

Se ha observado en torno a las colonias de los *Streptococcus* cultivados en agar sangre, se formaba una doble zona de hemólisis. En este tipo de hemólisis, llamada alfa-beta, se produce una zona clara de hemólisis beta rodeada de una más oscura de hematíes incompletamente homolizadas. Cuando se siembra leche conteniendo *Streptococcus sp* de mastitis, es un medio basado en agar sangre bovina conteniendo colonias estafilococias alfa-beta, los *Streptococcus sp.* que crecen en la zona alfa se rodean de una zona más amplia de hemólisis beta que se observa en las otras partes de la placa.

Existen varios método indirectos para él diagnostico de la mastitis, pero no para identificar el agente etiológico. Entre ellos figuran las reacciones de cloruros, catalasas, prueba de colador y azul de bromotimol (Barzizza, 1994).

III-MATERIALES Y METODOS

3.1 Localización

El ensayo se realizó en el departamento de San Vicente, la fase de campo se efectuó en dos etapas, la primera etapa de campo que consistió en la recolección de las muestras de leche de los cuartos de las ubres de vacas infectadas por mastitis bovina, y la segunda etapa en la que se estudiaron las muestras de leche en el Laboratorio Clínico Bacterium de la ciudad de San Vicente. Las muestras de leche de los cuartos de las ubres de vacas infectadas por mastitis bovina que se recolectaron y estudiaron fueron diez muestras de leche, las cuales nueve eran procedentes de la colonia Los Ángeles, situada a medio kilómetro al oriente de la ciudad de San Vicente y una muestra de la finca Corral de Piedra, ubicada en El Playón a seis kilómetros al sur de Tecoluca, Municipio de Tecoluca, del Departamento de San Vicente.

3.2 Factores climáticos

La zona presenta un clima correspondiente a sabanas tropicales calientes o de tierra caliente, con una precipitación anual de 2,032 mm., con una temperatura media anual de 24° C y humedad relativa promedio de 68 % (MAG, 1982).

3.3 Características edáficas

Los suelos de la zona son de textura franco-arenoso, aluviales, aptos para la agricultura y ganadería. Con base a la altitud del departamento de San Vicente, se ubica en la zona denominada de “tierra caliente”. El tipo de vegetación experimenta variabilidad de especies existiendo en el lugar bosques húmedos calientes de los terrenos bajos (Danys, 1962).

3.4 Metodología de campo

3.4.1 Identificación de vacas portadoras de mastitis

Para la identificación de vacas portadoras de mastitis se observó los síntomas clínicos más característicos de esta enfermedad en su fase de inicio; se utilizó cartones detectores de mastitis para la identificación de las vacas sospechosas para confirmar la presencia de la enfermedad.

3.4.2 Técnicas de recolección de leche

La calidad de los resultados de los cultivos en el laboratorio depende de la manera de cómo las muestras hayan sido recogidas y manejadas durante su transporte, al tomar las muestras de los cuartos de los animales enfermos de mastitis, dos o más chorros de leche fueron despreciados y posteriormente se frotó el pezón por unos segundos con un algodón empapado de alcohol al 70 % antes de recoger la muestra (MAG, 1993).

Los pezones mas alejados (cuartos posteriores) se limpiaron primero y lo más cercano (cuartos anteriores) por ultimo.

Cuando la punta del pezón se seco se procedió a recoger la muestra en tubos de ensayo, los cuales se introdujeron en una hielera para ser conducidos inmediatamente al laboratorio evitando así la exposición de las muestras de medio ambiente.

3.4.3 Características de las vacas muestreadas.

Las vacas a las que se les tomó la muestra padecían por primera vez de mastitis bovina, eran vacas de entre primer y tercer parto, todas cruzadas, con predominancia de los encastes Holstein, Brown Swiss y Brahman.

3.5 Procedimiento para la preparación de los extractos

3.5.1 Ajo *Allium sativum*

Para comprobar la acción del ajo in Vitro se elaboró su extracto concentrado haciendo uso de un procesador de alimentos en condiciones estériles. Se escarificaron 150 dientes de ajo de la manera más higiénicas y cuidadosamente posible, se introdujeron en el procesador de alimentos para ser triturados y centrifugados; luego se envasaron en tubos de ensayo estériles de tal manera que se obtuviera un extracto puro en concentración al 100 %.

3.5.2 Achiote *Bixa orellana*

Para comprobar la acción del achiote, se necesito semilla, hojas y tallos verdes, haciendo uso de un procesador de alimentos estéril, en el cual se introdujeron, para ser triturados y centrifugados, de tal forma que se obtuviera un extracto puro en concentraciones del 100 %, para posteriormente ser envasados en tubos estériles.

3.5.3 Ruda *Ruta graveolens L.*

Para la preparación del extracto de ruda, se necesito 1.25 libras de ruda y un procesador de alimentos estéril. Se procedió a cortarles las hojas, una vez realizado dicho proceso, se procedió a introducir las hojas al procesador de alimentos de tal forma que se obtuviera un extracto puro en concentraciones del 100 %, para posteriormente ser envasados en tubos estériles.

3.5.4 Tomatillo *Lycopersicum esculentum Miller Var*

Para comprobar la acción del tomatillo in Vitro, se elaboró un extracto concentrado, haciendo uso de frutos, tallos y hojas, los cuales se cortaron en trozos pequeños, para después introducirlos en el procesador de alimentos de tal forma que se obtuviera un extracto puro en concentraciones del 100 %, para posteriormente ser envasados en tubos estériles.

3.6 Cantidad usada

Las cantidades de extractos utilizadas fueron en igual proporción para todos los tratamientos, es decir, fue de manera general se utilizaron 0.05 ml de extractos en las concentraciones del 100% para todos los tratamientos.

3.7 Trabajo de Laboratorio

3.7.1 Materiales

Entre los materiales empleados en el ensayo tenemos:

3 Erlenmeyes de 250 ml.

10 Hisopos estériles.

4 Pinzas.

3 Espátulas.

1 Gradillas porta tubos 10 x 100 mm.

7 Laminas porta objetos 3 x1 pulgada.

1 Lápiz graso.

4 Pipetas serologicas de 5 mm.

5 Asas bacteriológico.

40 Placas petri de 15 x 100 mm.

1 Papel filtro Watma número tres.

25 Tubos de 10 x 100 mm.

45 Discos de sensibilidad de tetraciclina de 30 microgramos.

3.7.2 Medios de cultivo

Entre los medios de cultivo empleados en el ensayo tenemos:

Mueller Hinton

Cripticaza soya caldo

Cripticaza soya agar

Mc Conkey agar

Tioglicolato

TSI

Citrato

Urea

Movilidad

Manitol

Rojo de Metilo.

3.7.3 Reactivos

Entre los reactivos empleados en el ensayo tenemos:

Agua destilada

Coloración de Gram: Cristal de violeta

Lugol

Alcohol

Acetona

Aceite de inmersión

Extracto de ajo

Extracto de ruda

Extracto de tomatillo

Extracto de achiote

Kovacs

Peroxido de hidrógeno

Sangre de carnero

Plasma citratada

Fenol al 10 %

Gas propano

Oxidasa

Catalosa

Alfa-naftol.

3.7.4 Equipo

El equipo empleado en el ensayo tenemos:

Estufa bacteriológica

Balanza

Autoclave

Microscopio

Procesador de alimento

Mechero de bunsen

Perforadora

Chispero

Pie de Rey.

Bandeja.

3.7.5 Selección del antibiótico para el control

Para seleccionar el antibiótico que sería utilizado como un parámetro de comparación en el antibiograma, se tomaron en cuenta varios aspectos generales, principalmente que fuera un antibiótico de amplio espectro que pudiera inhibir tanto microorganismos Gram positivos (+) y como Gram negativo (-); que fuera eficaz, económicamente accesible y comúnmente usado en el control de mastitis bovina.

3.7.6 Procedimiento técnico laboratorial bacteriológico

- Las diez muestras procedentes de las vacas clasificadas con mastitis bovina fueron recibidas en el laboratorio en tubos de ensayo estériles de 10 x 100 mm. Estas fueron identificadas con número correlativo.
- Seleccionándose los medios de cultivos más apropiados para la obtención de cultivos puro, asegurándonos de obtener colonias de bacterias Gram positivas (+), agar sangre de carnero al 5 %, bacterias Gram negativos (-) Mac Conkey agar y además un caldo nutritivo tioglicolato. Con el objeto de aumentar las posibilidades de crecimiento bacteriano.
- Utilizando una aza bacteriológica se inocularon primero en agar sangre y luego en Mac Conkey agar y por ultimo el tioglicolato. Se realizaron tres diferentes estriados con el objeto de disminuir la concentración bacteriana y obtener colonias aisladas.
- Los medios de cultivos fueron inoculados a 36° C, por 24 horas (agar sangre en atmósfera de CO₂ al 10 %)

- Después de 24 horas de inoculación se procedió a observar en los medios sólidos: Crecimiento bacteriano pigmentación y morfología de las colonias, diferentes tipos de hemólisis y en el medio líquido de turbidez, formación de gas, colonias visibles como nota de algodón, formación de película y coloración verdosa.
- Al crecimiento bacteriano de diferentes medios se le realizó la coloración de Gram, observando al microscopio cocos Gram positivos (+) esféricos con tendencias a agruparse en racimos y bacilos Gram negativos (-). Basándose en lo observado en la coloración se seleccionaron los procedimientos de identificación adecuada.
- Cuando se tenía la bacteria aislada e identificada se procedió a la identificación del antibiograma.
- En caso de no haber crecimiento bacteriano a las 24 horas en los medios sólidos estos serán reincubados por 24 horas más; al observarse el crecimiento en el medio líquido se subcultivaron a medios sólidos: Agar sangre de carnero al 5 % y Mac Conkey agar.
- De no haber crecimiento a las 72 horas de incubación se reportó como negativo

3.8 Aislamiento e inoculación de bacterias

Se recolectaron 10 muestras, 1 muestra procedente de El Playón, municipio de Tecoluca, departamento de San Vicente, y 9 muestras de leche contaminada con mastitis bovina procedente de la colonia Los Ángeles en la ciudad de San Vicente. Para preservar las muestras se condujeron herméticamente en hielera selladas al laboratorio.

La muestra 1 se recolectó en la propiedad del señor Antonio Amaya (Playón- Tecoluca, municipio de Tecoluca), mientras que las muestras 2,3 y 4 en la propiedad del señor Jesús Urquilla, las muestras 5 y 6, en la propiedad de don Edilio Amaya, las muestras 7,8,9 y 10 se obtuvieron en la propiedad de don Gilberto Aguiluz (Colonia Los Ángeles, municipio de San Vicente)

3.9 Procedimiento del antibiograma con los extractos botánicos

- a) Con el asa flameada y fría se tomaron de cuatro a cinco colonias bien aisladas y de igual morfología, del cultivo original de cualquier medio sólido (se debe tratar siempre de un cultivo puro) se incubó un tubo con dos milímetros cúbicos de caldo cripticaza soya.
- b) Se incubó el caldo por dos horas a 36° C hasta que apareció una ligera turbidez semejante al estándar Mac Farland 0.5.
- c) Con el hisopo introducido en el caldo y exprimido se sembró en una placa de agar Mueller Hinton en tres direcciones opuestas sobre toda la superficie, cerca del mechero encendido.
- d) Se dejó secar (la placa) de 3 a 5 minutos con la tapadera cerrada.
- e) Con las pinzas flameadas se colocaron los discos impregnados con 3 gotas de los diferentes extractos botánicos puros (RUDA *Ruta graveolens* L, AJO *Allium sativum*, ACHIOTE *Bixa orellana*, y TOMATILLO *Lycopersicon esculentum* Miller Var.) de manera que quedaran lo más separados

posible entre si, agregándose además el disco testigo de tetraciclina 30 mcg. como parámetro de comparación en la lectura en los halos de inhibición

- f) Con las pinzas flameadas y frías se presionaron los discos ya colocados para adherirlos bien al medio de cultivo.
- g) Se invirtieron las placas y se incubaron por 16 a 18 horas a 36° C
- h) Se midieron en milímetros, los diámetros de los halos de inhibición con un pío de rey por detrás de la placa de petri .

3.10 Variable evaluada (diámetro del halo)

Para la toma de este dato se procedió a medir los diámetros de los halos de inhibición producidos por la acción de los diferentes extractos botánicos (ruda, ajo, achiote y tomatillo) impregnados en los discos de papel Watman No.3, y del producto químico comercial (tetraciclina 30 mcg) en las diferentes cultivos puros de las bacterias aisladas de las muestra de leche en estudio.

El diámetro del halo determinó la acción bactericida del extracto en las bacterias de los cultivos puros, es decir, que podemos apreciar y comparar entre los extractos el poder bactericida que se expresa en un mayor o menor diámetro de halo.

IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación se determinó la sensibilidad que experimentan las bacterias encontradas en las muestras de leche proveniente de cuartos con proceso de mastitis bovina a la aplicación de los extractos botánicos puros (RUDA *Ruta graveolens L*, AJO *Allium sativum*, ACHIOTE *Bixa orellana*, y TOMATILLO *Lycopersicum esculentum Miller Var.*), así como también al testigo relativo (tetraciclina 30 mcg).

4.1 Resultados del análisis laboratorial bacteriológico de las muestras de leche.

Muestra No. 1

El resultado fue negativo porque no hubo formación de coágulos y mediante la coloración de Gram se observó cocos Gram positivos (9+) en forma de racimos y se determinó la bacteria: *Staphylococcus epidermidis*

Muestra No. 2

Se observaron las placas en los medios de agar. En Mac Conkey no hubo crecimiento pero en agar sangre si existió crecimiento en el mismo periodo. A partir del crecimiento efectuamos una coloración de Gram y las pruebas bioquímicas. En la coloración de Gram se observó bacilos Gram positivos y resembrados en TSI, Citodol, nitrato y movilidad a partir de las mismas colonias con el cual se determinó la bacteria: *Streptococcus sp.* Colonia beta hemolítica.

Muestra No. 3

El resultado fue negativo, porque no hubo formación de coágulo y mediante la coloración de Gram se observó Cocos Gram positivos en forma de racimos y se determinó la bacteria *Staphylococcus epidermidis*.

Muestra 3.1

En los medios de agar Mac Conkey a las 24 horas se observó crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias. Y luego, se realizó una coloración de Gram y las pruebas bioquímicas. En la coloración de Gram se observaron bacilos Gram negativos (-) y se resembraron en TSI, urea, Citodol, nitrato y movilidad y después se observó la colonia en los medios antes mencionados y se observó en el TSI, basil amarillo, fondo amarillo, ácido sulfúrico, urea (-), indol (+), citrato (-), movilidad (-), con este método se logró determinar la bacteria: *Escherichia coli*.

Muestra No. 4

Se observaron las placas en el medio de agar Mac Conkey a las 24 horas hubo crecimiento pero no se identifico el tipo de bacterias.

A partir de este crecimiento realizamos una coloración de Gram y las pruebas bioquímicas. En la coloración de Gram se observaron bacilos gram negativos (-), en el TSI, urea, nitrato y movilidad a partir de las mismas colonias de agar Mac Conkey y se incubó 24 horas en la estufa a 36° C, en ese tiempo se resembró en TSI, Basil, fondo amarillo, gas (+) ácido sulfúrico, urea, indol (+), citrato (-), movilidad (-) con la cual se determinó la bacteria *Klebsiella sp.*

Muestra No. 5

En este si hubo crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias. Luego en el medio de agar sangre se le hizo la prueba de coagulosa y una coloración de gram en esta prueba, la coagulosa se incubó a 36° C y el resultado fue negativo porque no hubo formación de coágulos mediante la coloración de Gram positivos (+) en forma de racimos y se determinó la bacteria: *Staphylococcus epidermidis.*

Muestra No. 5.1

En los medios de agar Mac Conkey a las 24 horas se observó crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias. Luego se realizó una coloración de Gram y las pruebas bioquímicas. En la coloración de Gram se observaron bacilos Gram negativos (-) y resembramos en TSI, urea, citol, nitrato y movilidad y después se observó la colonia en los medios antes mencionados y se observó en el TSI, bacil amarillo, fondo amarillo, ácido sulfúrico, urea (-), indol (+), citrato (-), movilidad (-), con este método se logra determinar la bacteria: *Escherichiae coli.*

Muestra No. 6

Se observaron las placas con los medios agar sangre, a las 24 horas hubo crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias, a partir del crecimiento realizamos la prueba de coagulasa y una coloración de Gram en esta prueba, la coagulasa se incubó a 36° C y el resultado fue positivo porque hubo formación de coágulos y mediante la coloración de gram se observo cocos gram positivos (+) en formad e cadena y se determinó la bacteria: *Staphylococcus aureus*

Muestra No. 7

En esta si hubo crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias, luego en el medio agar sangre se hizo la prueba de coagulosa y una coloración de Gram en esta prueba, la coagulasa se incubó a 36° C y el resultado fue negativo por lo que no hubo formación de coágulos y mediante la coloración de Gram se observo coco gram positivos en forma de racimos y se determinó la bacteria: *Staphylococcus epidermidis*

Muestra No. 8

En esta hubo crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias luego en el medio agar sangre se hizo la prueba de coagulasa y una coloración de Gram. En esta prueba la coagulasa se incubó a 36° C y el resultado fue negativo por lo que no hubo formación de coágulos y mediante la coloración de Gram se observó cocos gram positivos (+) en forma de racimos y se determinó la bacteria: *Staphylococcus epidermidis*

Muestra No. 9

En este si hubo crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias; luego en el medio agar sangre se hizo la prueba de coagulasa y una coloración de Gram en esta prueba, la coagulasa se incubó a 36° C y el resultado fue positivo porque hubo formación de coágulos y mediante la coloración de Gram se observó Cocos Gram Positivos (+) en forma de cadena y se determinó la bacteria: *Staphylococcus aureus*.

Muestra No. 10

En esta si hubo crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias luego en el medio agar sangre si hubo crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias.

Luego en el medio agar sangre se hizo la prueba de coagulasa y una coloración de Gram; en esta prueba la coagulasa se incubó a 36° C y el resultado fue positivo porque hubo formación de coágulos y mediante la coloración de Gram se observó cocos gram positivos (+) en forma de cadena y se determinó la bacteria: *Staphylococcus aureus*.

Muestra 10.1

En los medios agar Mac Conkey a las 24 horas se observó crecimiento pero no se determinó el tipo de bacterias. Luego se realizó la coloración de Gram y las pruebas bioquímicas. En la coloración de Gram se observaron bacilos gram negativos (-) y se sembraron en TSI, urea, citol, nitrato y movilidad; después se observó la colonia en los medios antes mencionados y se observó en el TSI, basil amarillo, fondo amarillo, ácido sulfúrico, urea (-), indol (+), citrato (-), movilidad (-), con este método se logro determinar la bacteria: *Escherichia coli*

4.2 Resultado general de aislamiento de bacterias

Bacterias que se determinaron en las diez muestras de leche en el laboratorio a través del método de placas haciendo uso de los medios de cultivo: Agar Sangre, Mac Conkey y caldo nutritivo:

M1 = *Staphylococcus epidermidis*

M2 = *Streptococcus sp.* (colonia beta hemolítica)

M3 = *Staphylococcus epidermidis*; *Escherichiae coli*

M4 = *Klebsiella sp.*

M5 = *Staphylococcus epidermidis*; *Escherichiae coli*

M6 = *Staphylococcus aureus*

M7 = *Staphylococcus epidermidis*

M8 = *Staphylococcus epidermidis*

M9 = *Staphylococcus aureus*

M10 = *Staphylococcus aureus*; *Escherichiae coli*

Las bacterias que se identificaron en las diez muestras fueron sensibles a la aplicación del ajo, no siendo así el tomate (*Staphylococcus epidermidis*; *Escherichiae coli*) y el achiote (*S. epidermidis* y *S. aureus*) que solamente tuvieron efecto bactericida en número reducido de muestras, mientras que la ruda no presentó ningún efecto bactericida en las bacterias más frecuentes en los procesos de mastitis; sin embargo de acuerdo a Shimer (1990), en investigaciones realizadas descubrió actividad Inhibitoria de *Escherichiae coli* y *Staphylococcus aureus* en cultivos etanólicos de tallo y raíz; mientras que según Ferrada (s.f) menciona que actualmente se está corroborando las actividades antimicrobianas y bactericidas de la ruda. La tetraciclina 30 mcg resultó ser efectiva en todas las muestras en estudio.

Para observar la acción bactericida de los extractos botánicos solamente fue necesario estudiar y analizar la presencia de halo o crecimiento del mismo en el cultivo in Vitro, lo cual nos confirma la sensibilidad que provocan a las bacterias en estudio.

El halo se forma porque las bacterias que existían en esa área mueren por el efecto bactericida de los extractos botánicos y testigo. Los cultivos de las bacterias identificadas que presentaron formación de halo en las

muestras de leche procedentes de vacas con mastitis fueron las siguientes: *Klebsiella sp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli* y *Streptotococcus sp*.

4.3 Bacteria *Staphylococcus epidermidis*

Cuadro No.1. Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: *Staphylococcus epidermidis*, en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina.

Tratamientos	Diametro (cm.)	Area (cm ²)	Porcentaje (%)
	– X	– X	– X
Tr = tetraciclina	1.94	3.196	5.16
T1= Extracto de Ruda	0.00	0.00	0.00
T2= Extracto de Ajo	1.70	2.64	4.15
Extracto T3= de Achiote	0.070	0.038.	0.060
T4= Extracto de Tomatillo	0.090	0.064	0.10

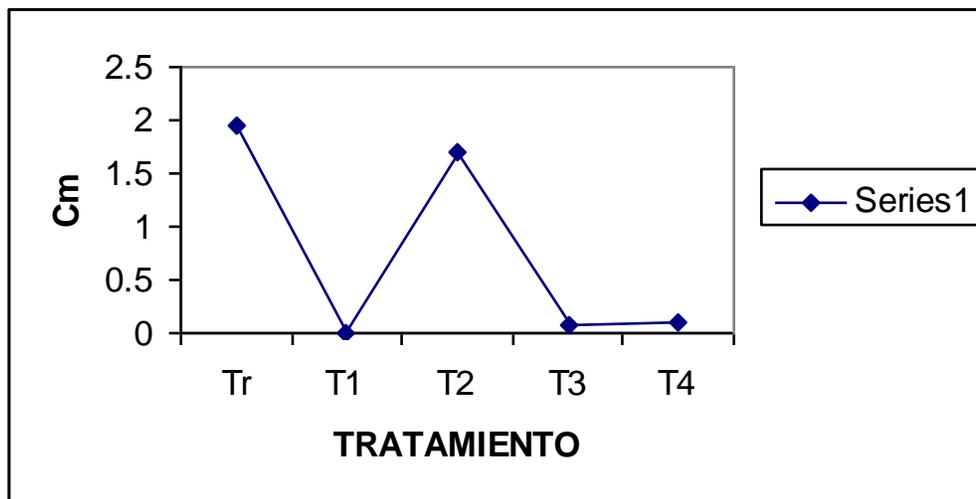


Figura No.1. Determinacion del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria, *Staphylococcus epidermidis*.

Cuadro No.2. Evaluacion del diámetro, area y porcentaje de halo en Tr y T2 en la bacteria, *Staphylococcus epidermidis*

VARIABLE	T calculado	T tablas
Diametro	0.513	2.306
Area	0.544	2.306
Porcentaje	0.470	2.306

Como el “t” calculado tiene un valor 0.513 menor que el “t” tabla = 2.306, que nos indica que no hay diferencia significativa entre los tratamientos Tr (Tetraciclina) y T2 (Extracto de Ajo) al aplicar a las muestras de leche con mastitis infectadas con *S. epidermidis*, por lo tanto ambos tratamientos tienen el mismo nivel de eficacia.

En el análisis de la bacteria: *Staphylococcus epidermidis* se determinó la acción bactericida de los extractos botánicos. Siendo la tetraciclina (Tr) la que presentó mayor diámetro de halo 1.94 cm. seguido del extracto de ajo con 1.70 cm; los demás extractos achiote con 0.07 cm. y tomatillo con 0.09 cm. (Cuadro No 1 y Figura No 1).

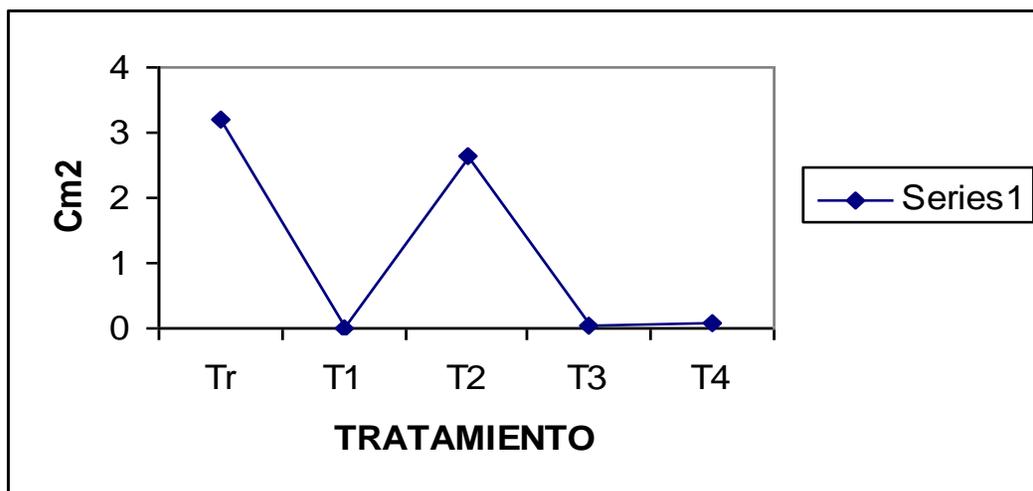


Figura No.2. Determinación del área promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Staphylococcus epidermidis*.

Como el “t” calculado tiene un valor 0.544 menor que el “t” tabla = 2.306, que nos indica que no hay diferencia significativa entre los tratamientos Tr (Tetraciclina) y T2 (Extracto de Ajo) al aplicar a las muestras de leche con mastitis infectadas con *S. epidermidis*, por lo tanto ambos tratamientos tienen el mismo nivel de eficacia.

En el análisis de la bacteria: *Staphylococcus epidermidis* se determinó la acción bactericida de los extractos botánicos. Siendo la tetraciclina (Tr) la que presentó mayor área de halo 3.196 cm², seguido del extracto de ajo con 2.64 cm²; los demás extractos achiote con 0.38 cm², y tomatillo con 0.064 cm². (Cuadro No 1 y Figura No 2).

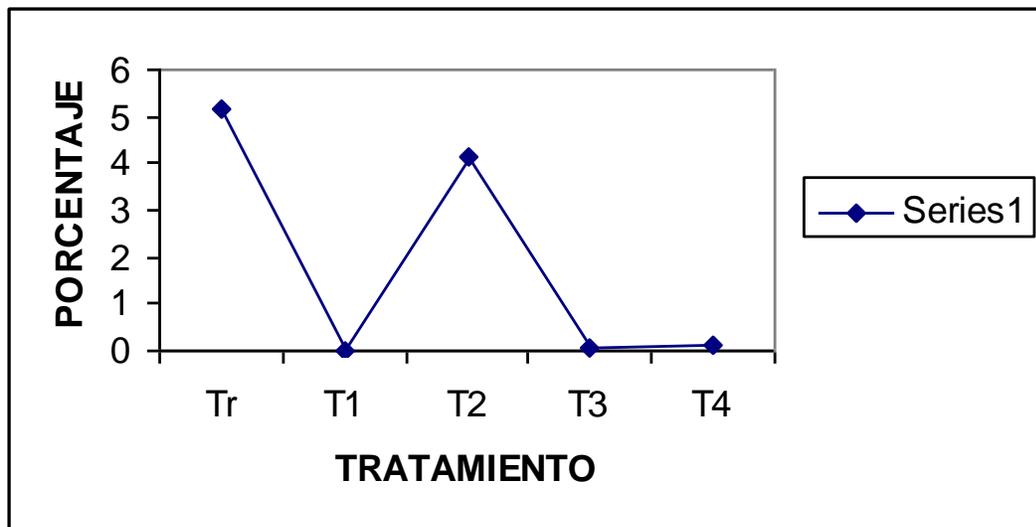


Figura No.3. Determinación del porcentaje promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Staphylococcus epidermidis*.

Como el “t” calculado tiene un valor 0.47 menor que el “t” tabla =2.306, que nos indica que no hay diferencia significativa entre los tratamientos Tr (Tetraciclina) y T2 (Extracto de Ajo) al aplicar a las muestras de leche con mastitis infectadas con *S. epidermidis*, por lo tanto ambos tratamientos tienen el mismo nivel de eficacia.

En el análisis de la bacteria: *Staphylococcus epidermidis* se determinó la acción bactericida de los extractos botánicos. Siendo la tetraciclina (Tr) la que presentó mayor porcentaje de halo 5.16% , seguido del extracto de ajo con 4.15%; los demás extractos achiote con 0.06% y tomatillo con 0.10% (Cuadro No 1 y Figura No 3).

4.4. Bacteria: *Staphylococcus aureus*

Cuadro No.3. Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: *Staphylococcus aureus*, en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina.

Tratamientos	Diametro (cm.)	Area (cm ²)	Porcentaje (%)
	— X	— X	— X
Tr = tetraciclina	0.52	0.72	1.14
T1= Extracto de Ruda	0.00	0.00	0.00
T2= Extracto de Ajo	0.54	0.82	1.30
T3=Extracto de Achiote	0.07	0.04	0.06
T4= Extracto de Tomatillo	0.00	0.00	0.00

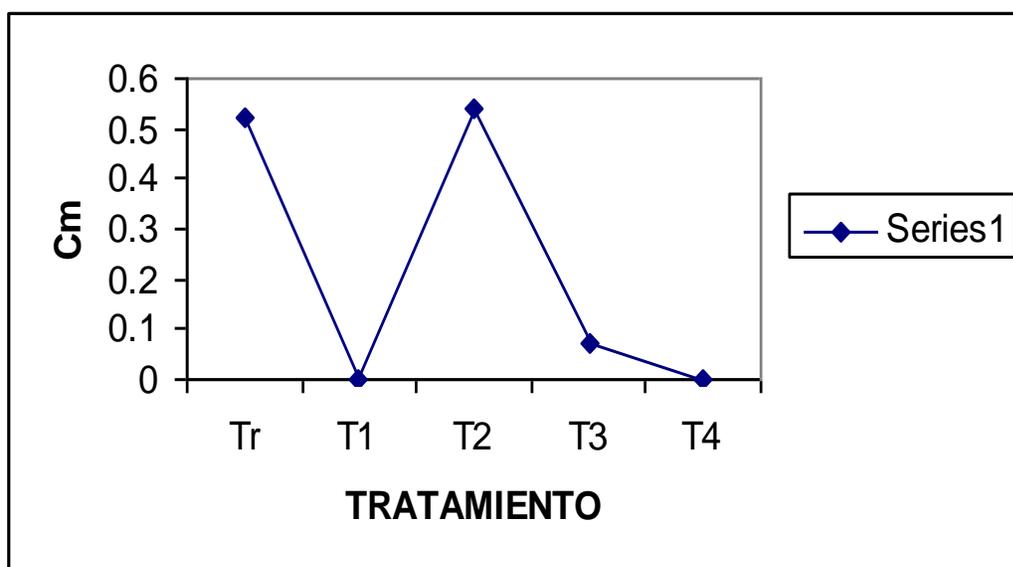


Figura No.4. Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Staphylococcus aureus*.

En la bacteria *Staphylococcus aureus*, se manifestó sensible a la acción bactericida del extracto de ajo (T2), extracto de achiote (T3), testigo relativo (Tr) y no así al extracto de tomatillo (T4), que no presenta formación del

halo. Por lo tanto carecen de acción antibiótica a la bacteria *Staphylococcus aureus*. Determinándose el mayor diámetro de halo promedio en el extracto de ajo con 0.54 cm, seguido del testigo relativo (tetraciclina), con un diámetro promedio de 0.52 cm, finalmente el extracto de achiote, con un diámetro promedio de 0.07 cm. Los resultados se presentan en el Cuadro No.3 y Figura No.4.

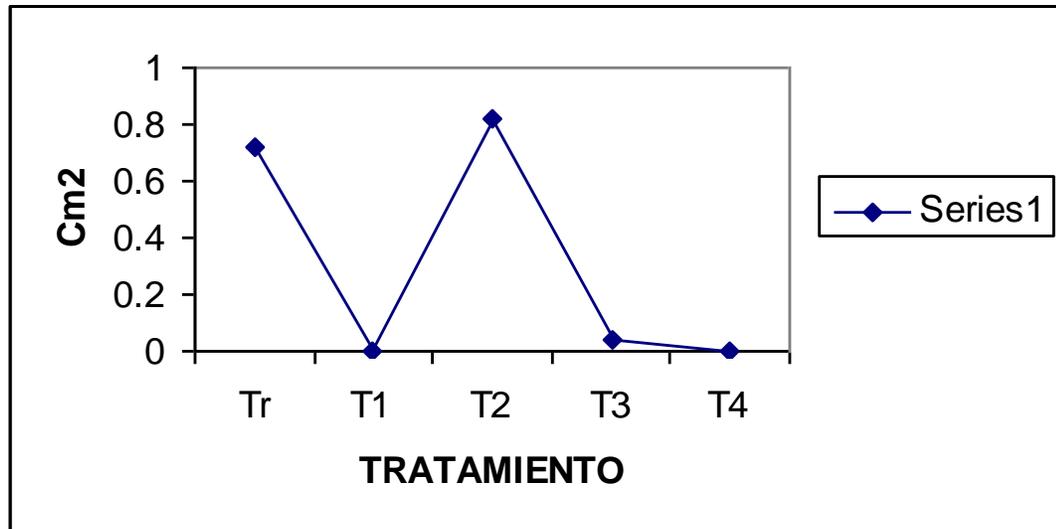


Figura No.5. Determinación del área promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Staphylococcus aureus*.

En la bacteria *Staphylococcus aureus*, se manifestó sensible a la acción bactericida del extracto de ajo (T2), extracto de achiote (T3), testigo relativo (Tr) y no así al extracto de tomatillo (T4), que no presenta formación del halo. Por lo tanto carecen de acción antibiótica a la bacteria *Staphylococcus aureus*

Determinándose la mayor área de halo promedio en el extracto de ajo con 0.82 cm², seguido del testigo relativo (tetraciclina), con un promedio de 0.72 cm², finalmente el extracto de achiote, con un área promedio de 0.04 cm². Los resultados se presentan en el Cuadro No. 3 y Figura No.5.

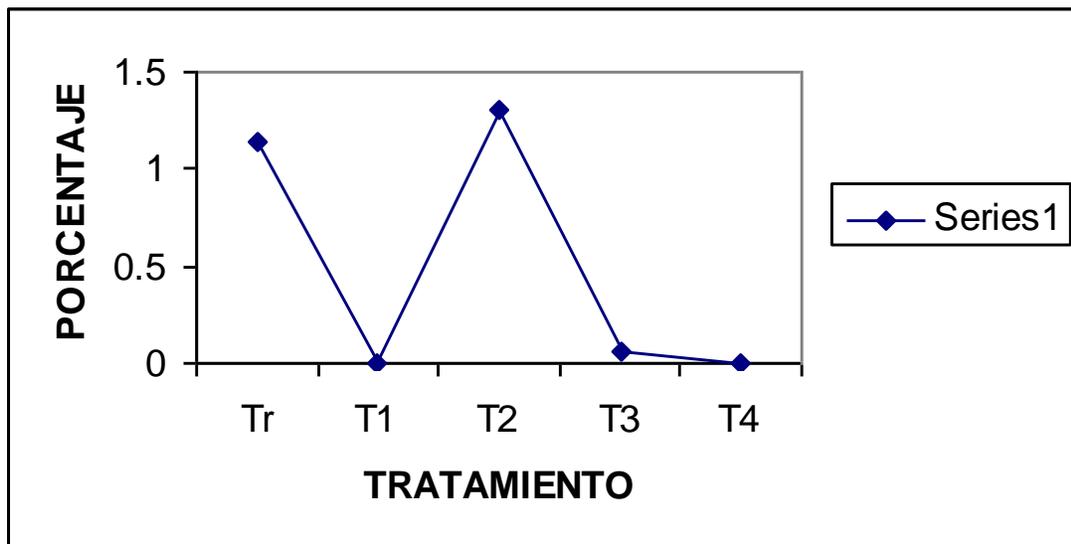


Figura No.6. Determinación del porcentaje del área de halo promedio en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Staphylococcus aureus*

En la bacteria *Staphylococcus aureus*; se manifestó sensible a la acción bactericida del extracto de ajo (T2), extracto de achiote (T3), testigo relativo (Tr) y extracto de tomatillo (T4), que no presenta formación del halo, por lo tanto carecen de acción antibiótica, a la bacteria *S. aureus*.

Determinándose el mayor porcentaje de halo promedio en el extracto de ajo con 1.30 %, seguido por el testigo relativo (tetraciclina) con un promedio de 1.14 %, finalmente el extracto de achiote con un porcentaje promedio de 0.06 %. Los resultados se presentan en el Cuadro No.3. Figura No.6.

4.5. Bacteria: *Streptococcus sp.* (Colonia: beta hemolítica)

Cuadro No.4. Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: *Streptococcus s p*, en las diez muestras de leche con proceso de mastitis bovina.

Tratamientos	Diámetro (cm.)		Área (cm ²)		Porcentaje (%)	
	–	X	–	X	–	X
Tr = tetraciclina	0.20		0.31		0.50	
T1= Extracto de Ruda	0.00		0.00		0.00	
T2= Extracto de Ajo	0.12		0.11		0.18	
T3=Extracto de Achiote	0.00		0.00		0.00	
T4= Extracto de Tomatillo	0.00		0.00		0.00	

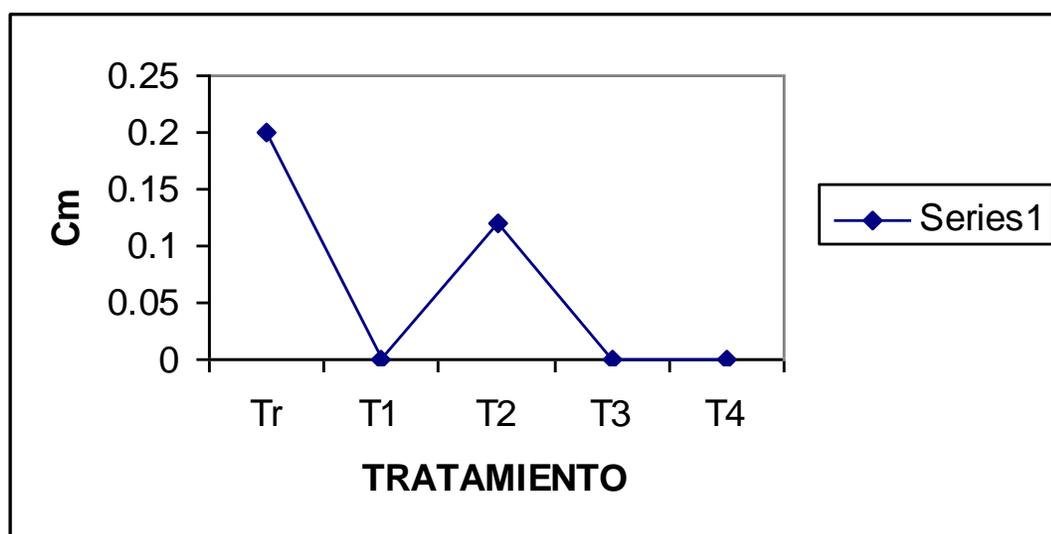


Figura No.7. Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Streptococcus sp*

En la presente bacteria: *Streptococcus sp* es sensible a la acción bactericida de uno (1) de los cuatro extractos botánicos. El mayor diámetro promedio lo presentó la tetraciclina (Tr) con 0.20 cm, seguido del extracto de ajo (T2)

con un diámetro promedio de 0.12 cm., y los demás tratamientos (ruda, achiote y tomatillo), no presento halo, por lo cual los extractos botánicos (T1, T3 y T4), no poseen efecto bactericida (Cuadro No 4 y Figura No 7).

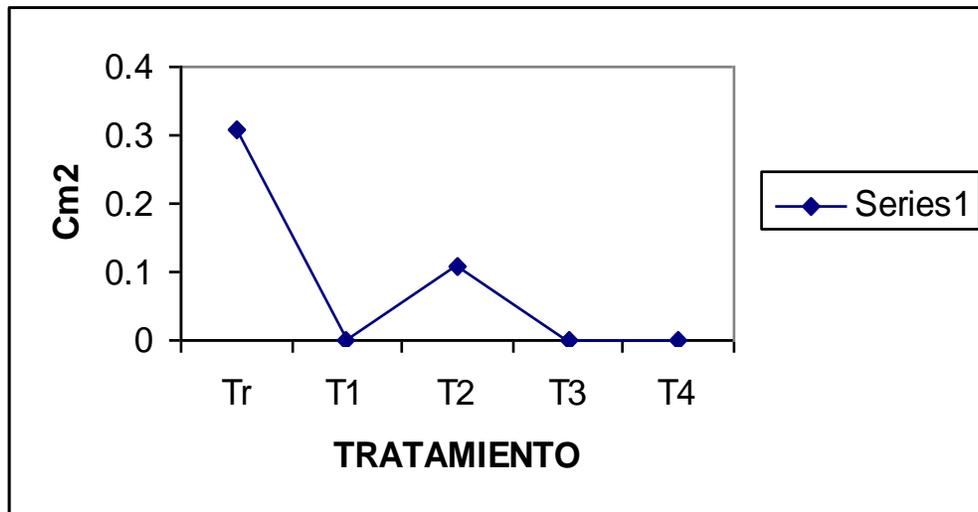


Figura No.8. Determinación del área promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Streptococcus sp*

La bacteria *Streptococcus sp*. Es sensible a la acción bactericida de uno (1) de los cuatro extractos botánicos. La mayor área promedio la presento la tetraciclina (Tr) con 0.31 cm², seguido del extracto de ajo (T2), con un área promedio de 0.11 cm², y en los demás tratamientos (ruda, achiote y tomatillo), se presento halo, por lo tanto los extractos botánicos (T1, T3 y T4), no presentan efecto bactericida a la bacteria *Streptococcus sp*. (Cuadro No 4 y Figura No 8)

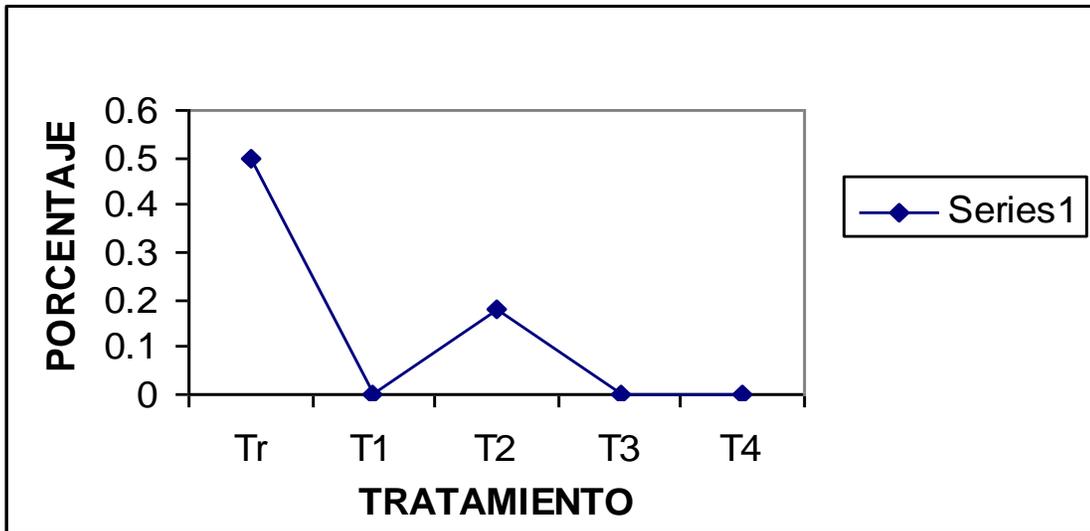


Figura No.9. Determinación del porcentaje del área de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Streptococcus sp*

La bacteria *Streptococcus sp*. Es sensible a la acción bactericida de uno (10 de los extractos botánicos. El mayor porcentaje promedio lo presentó la tetraciclina (Tr), con 0.5 %, seguido del extracto de ajo (T2) con un porcentaje de 0.18 % y en los demás tratamientos (ruda, achiote y tomatillo), no presentan halo, por lo que los extractos botánicos (T1, T3, y T4) no poseen efecto bactericida a la bacteria *Streptococcus sp*_(Cuadro No.4 y Figura No. 9)

4.6. Bacteria: *Escherichiae coli*

Cuadro No.5. Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: *Escherichiae coli*, en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina

Tratamientos	Diámetro (cm.)		Area (cm ²)		Porcentaje (%)	
	—	X	—	X	—	X
Tr = tetraciclina	0.60		0.99		1.56	
T1= Extracto de Ruda	0.00		0.00		0.00	
T2= Extracto de Ajo	0.37		0.40		0.62	
T3=Extracto de Achiote	0.00		0.00		0.00	
T4= Extracto de Tomatillo	0.12		0.11		0.18	

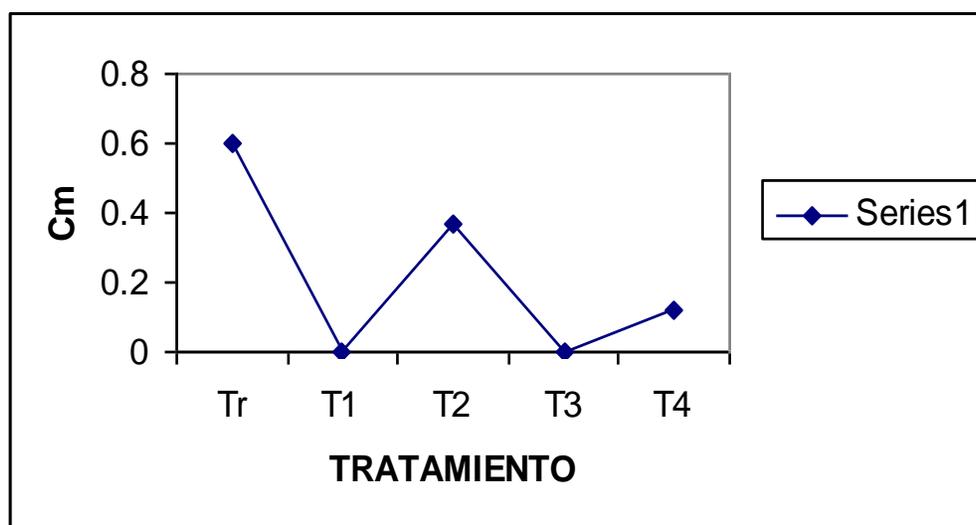


Figura No.10. Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Escherichiae coli*

Según los datos obtenidos del Cuadro No 5 y Figura No 10, la acción bactericida de los extractos botánicos y la tetraciclina como testigo relativo; el que presento mayor diámetro promedio de halo fue la tetraciclina (Tr) con 0.60 cm, seguido del extracto de ajo (T2) con 0.37 cm y finalmente el extracto de tomatillo (T4) con 0.12 cm., con respecto a los demás tratamientos (extracto de ruda y achiote) no presentaron formación de halo, por lo tanto carecen de acción antibiótica con la bacteria *Escherichiae coli*.

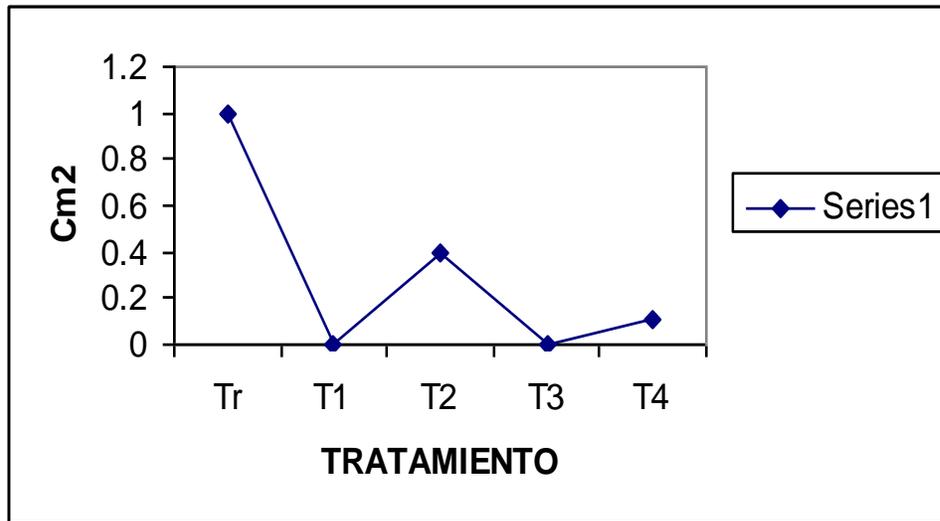


Figura No.11. Determinación del área promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Escherichiae coli*

Según los datos obtenidos del Cuadro No. 5 y Figura No 11, la acción bactericida de los extractos botánicos y la tetraciclina como el testigo relativo, el que presentó mayor diámetro del halo promedio 0.99 cm^2 fue la tetraciclina (Tr), seguido del extracto de ajo (T2) con 0.40 cm^2 , y finalmente el extracto de tomatillo (T4) con 0.11 cm^2 . Con respecto a los demás tratamientos (extractos de ruda y achiote) no presentaron formación de halos por lo tanto carecen de acción antibiótica con la bacteria *Escherichiae coli*.

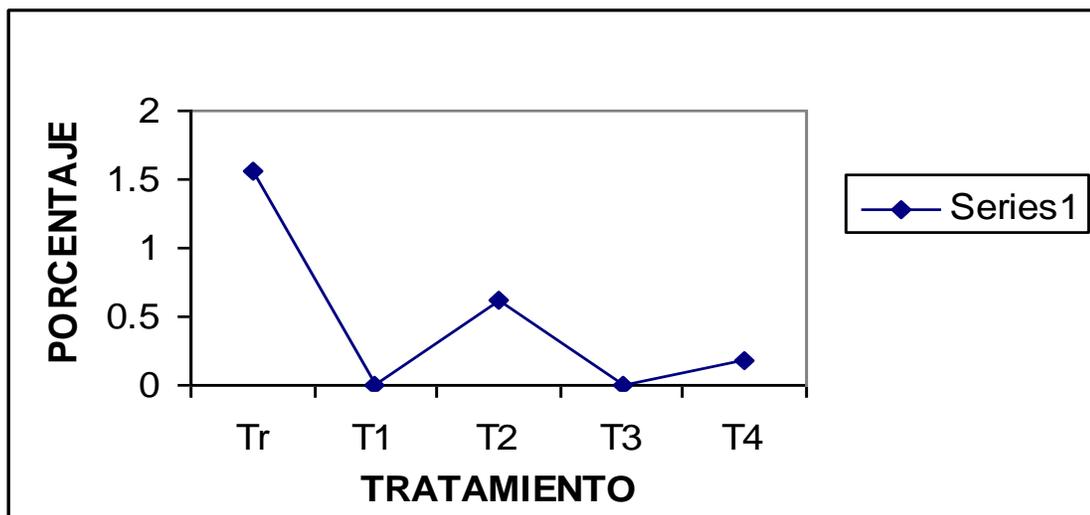


Figura No.12. Determinación del porcentaje del área de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Escherichiae coli*

Según los datos obtenidos del Cuadro No.5 y Figura No.12, la acción bactericida de los extractos botánicos y la tetraciclina como testigo relativo; el que presentó el mayor porcentaje del halo promedio 1.56 % fue la tetraciclina (Tr), seguido del extracto de ajo (T2) con 0.62 %.

Con respecto a los demás tratamientos (extracto de ruda y achiote) no presentaron formación del halo, por lo tanto carecen de acción antibiótica con la bacteria.

4.7. Bacteria: *Klebsiella sp.*

Cuadro No.6. Efecto de los diferentes extractos botánicos y la tetraciclina en la bacteria: *Klebsiella sp*, en las diez muestras de leche con procesos de mastitis bovina.

Tratamientos	Diámetro (cm.)		Area (cm ²)		Porcentaje (%)	
	—	X	—	X	—	X
Tr = tetraciclina	0.24		0.45		0.70	
T1= Extracto de Ruda	0.00		0.00		0.00	
T2= Extracto de Ajo	0.12		0.10		0.18	
T3=Extracto de Achiote	0.00		0.00		0.00	
T4= Extracto de Tomatillo	0.00		0.00		0.00	

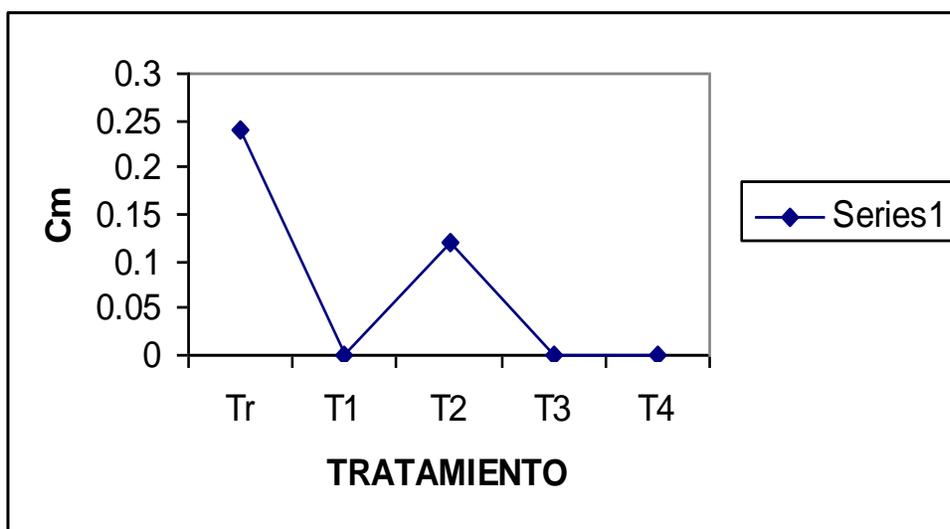
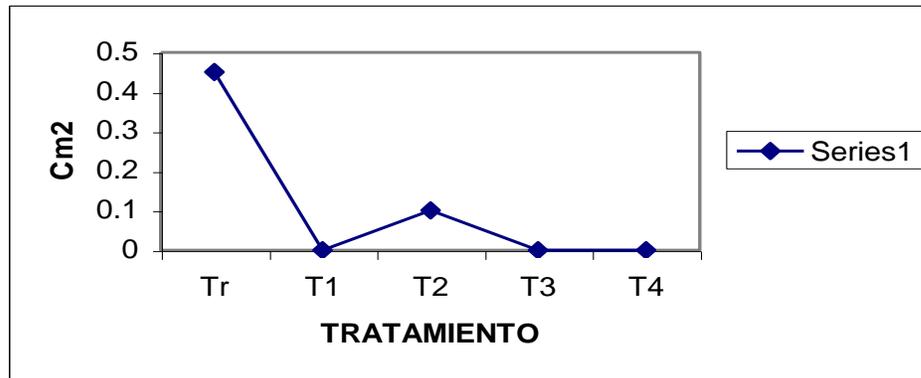


Figura No.13. Determinación del diámetro promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Klebsiella sp.*

La bacteria *Klebsiella sp.* según resultados del Cuadro No 5 y Figura No.13, se determinó la sensibilidad a la acción bactericida del extracto de ajo (T2), siendo la tetraciclina (Tr), la que presentó mayor diámetro del halo promedio con 0.24 cm, seguido únicamente por el extracto de ajo con un promedio de 0.12 cm, y los demás extractos botánicos (ruda, achiote y tomatillo), no presentaron halo, lo que nos indica que no poseen propiedades antibióticas sobre la *Klebsiella sp.*



1.

Figura No.14. Determinación del área promedio de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Klebsiella sp.*

La bacteria *Klebsiella sp.* Según resultados del Cuadro No.6 y Figura No.14, se determinó la sensibilidad a la acción bactericida del extracto de ajo, siendo la tetraciclina (Tr) lo que presentó una mayor área promedio con 0.45 cm², seguido únicamente por el extracto de ajo con un área promedio de 0.11 cm², y los demás tratamientos (T1, T3 y T4), no presentaron halo, por lo tanto no poseen propiedades antibióticas sobre la *Klebsiella sp.*

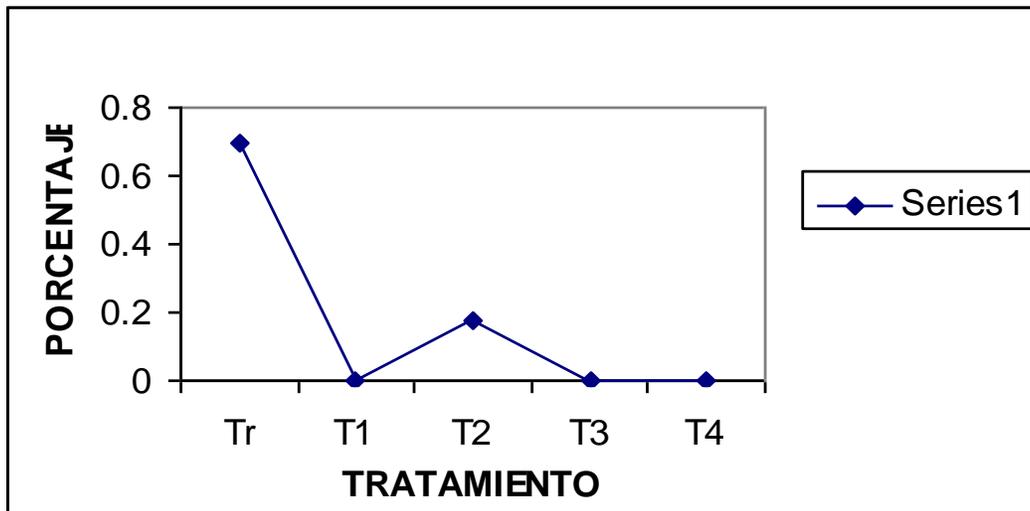


Figura No.15. Determinación del porcentaje promedio de área de halo en las diez muestras de leche conteniendo la bacteria: *Klebsiella sp*

La bacteria *Klebsiella sp*: según resultados de acuerdo al cuadro No. 6 y Figura No. 15 se determinó la sensibilidad a la acción bactericida del extracto de ajo. Siendo la tetraciclina (Tr), la que se presentó mayor porcentaje de halo promedio con un 0.70 %, seguido por el extracto de ajo con un 0.18 % y los demás tratamientos (T1, T3 y T4), no presentaron halo, por lo tanto no poseen propiedades antibióticas sobre la *Klebsiella sp*.

Todas las bacterias encontradas en el presente ensayo presentaron sensibilidad al extracto de ajo en concentración estándar del 100 %. Prueba de ello fué la formación del halo en las diez muestras, lo cual nos confirma el poder bactericida de dicho extracto, teniendo mayor diámetro del halo en la bacteria siguiente: *Staphylococcus aureus*; en el patógeno antes mencionadas el tratamiento (Tr), fue la segunda mas efectiva.

Mientras que la tetraciclina fue la más efectiva en el combate de bacterias causantes de mastitis bovina, prueba de ello fué el crecimiento del halo, el cual determina el poder bactericida de este antibiótico químico de amplio espectro, en la mayoría de bacterias identificadas que a continuación detallamos: *Streptococcus sp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella sp*. y *Staphylococcus aureus* En todas las bacterias mencionadas la tetraciclina presentó mayor área de halo.

Además el extracto de tomatillo (T4), en concentración al 100 % presentó, una formación del halo menor, en las bacterias encontradas en muestras con mastitis bovina, formando halo solamente en las siguientes bacterias: *Escherichiae coli* y *Staphylococcus epidermidis*. Dicho halo es poco significativo, comparado con el testigo relativo (Tr) y el extracto de ajo (T2).

El extracto de achiote (T3), en concentración al 100 %, solamente fue efectivo en menor grado en las bacterias siguientes: *Staphylococcus epidermidis* y *S. aureus*. El extracto de achiote presenta un halo menor que el testigo relativo (tetraciclina) y extracto de ajo (T2), por lo cual refleja poca acción antibiótica.

En el extracto de ruda (T1) en concentración al 100 %, no posee acción bactericida en las cinco bacterias identificadas en los procesos más frecuentes de mastitis bovina, ya que no presentó formación del halo en los cultivos in Vitro.

4.8 Análisis Económico

En la presente investigación se han determinado los costos que implica el uso de productos químicos disponibles en el mercado y el de los extractos botánicos para el control de las bacterias causantes de la mastitis bovina.

Al comparar los costos que implica el uso de productos químicos y el de los extractos botánicos,

Para el caso: El testigo relativo (tetraciclina) tiene un costo de \$1.32, el T1(ruda) tiene un valor de \$1.10, el T2 (ajo), tiene un costo de \$ 0.69, el T3(achiote) tiene un valor de \$0.51, y el T4(tomatillo) tiene un valor de \$0.88. Por lo tanto al ganadero, le es más fácil obtener los ingredientes para elaborar el extracto botánico para el tratamiento de mastitis bovina, ya solamente tiene que preparar(extracto acuoso), y aplicarlo al animal. En cambio tener que ir donde distribuyen los productos químicos, es invertir tiempo y dinero, ya que en el caso de mastitis clínica se recomienda tres jeringas de 10 ml por cuarto infectado, aplicado entre 12 a 24 horas, dependiendo del número de ordeños diarios.

Los costos que se incurrieron en la preparación de los extractos botánicos y los costos por tratamiento de productos comerciales(ver anexos).

En el caso de efectividad de los extractos botánicos y el producto químico: el testigo relativo (tetraciclina) y el tratamiento 2 (ajo), presentaron el 100% de efectividad. El tratamiento 3(achiote), y el tratamiento 4 (tomatillo), presentaron el 15.4 %. El tratamiento 5 (ruda), no fue efectivo en ninguna muestra.

V- CONCLUSIONES

- Las bacterias: *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli* y *Klebsiella sp*, fueron sensibles al testigo relativo (tetraciclina 30 mcg) y el extracto de ajo (T2).
- El extracto botánico de ruda (T1), no mostró crecimiento de halo en ninguno de los cultivos puros de bacterias
- En todas las bacterias muestreadas se observó mayor crecimiento de halo en el testigo relativo (tetraciclinas 30 mcg), a excepción de la bacteria: *Staphylococcus aureus*, en donde el extracto de ajo presento una mayor acción antibiótica reflejada por la mayor área de halo.
- Con esta investigación se ha demostrado que el extracto de ajo (T2) presenta un control efectivo para aquellas bacterias causantes de la mastitis bovina a nivel de cultivos in Vitro, por ser un antibiotico botanico de amplio espectro que inhibe microorganismos Gram positivo (+) y Gram negativo (-).
- Los extractos de achiote (T3) y tomatillo (T4) en concentración pura, poseen poca acción bactericida comparadas con el extracto de ajo (T2) y testigo (Tr).
- En la bacteria *Staphylococcus epidermis* no existe diferencia significativa en la acción bactericida de los tratamientos Tr (tetraciclina) y el T2 (extracto de ajo), lo que indica que ambos tratamientos poseen el mismo nivel de eficacia.

- En el presente, investigación se idéntifico una nueva bacteria: *Streptococcus sp*. (Colonia beta hemolítica), a diferencia con la investigación realizada por Rodríguez, (1999). Que encontró cuatro bacterias las cuales son: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli* y *Klebsiella sp*. Además se demostro nuevamente la sensibilidad del extracto de ajo a las bacterias causantes de la mastitis bovina.

VI- RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con la investigación utilizando extractos botánicos especialmente achiote y tomatillo, para determinar si realmente poseen propiedades bactericidas sobre las bacterias causantes de los procesos de mastitis.
- Establecer las investigaciones posteriores al nivel de campo, utilizando las concentraciones de extracto de ajo al 100 %, para conocer su efectividad empleando diferentes dosis inhibitorias.
- Continuar con la investigación de los extractos botánicos con una tecnología que permita purificar su contenido bactericida natural y aumentar el número de vacas muestreadas para mejorar la credibilidad de los datos.
- Se recomienda determinar la eficiencia del extracto de ajo y su rentabilidad para contribuir a generar mejores ingresos a los pequeños ganaderos.
- Desarrollar un proceso de validación sobre el uso de ajo en el control de bacterias participantes en la mastitis bovina.

VII- BIBLIOGRAFÍA

- 1- BROCK, T.D.; SMITH, D.W.; MADIGAN, M.T. 1997. Microbiología Trad. M.C. Hidalgo y Modragon 4 ed. México, MX Editorial Prentice Hall Hispanoamérica. P 906.
- 2- BROOKS, G.F. 1992. Microbiología medica. Trad. M.R. Carsolio Pacheco 14 ed. México, MX Editorial el Manual Moderno 636 p.
- 3- BAYER, S.F. Manual Práctico del Hacendado “Mastitis”, Departamento de Veterinaria, Alemania, p. 44-46.
- 4- BARZIZZA, C.M. 1994. Microbiología Tomo I. 5 ed Buenos Aires AR. Cisperia Hachete p. 325-351.
- 5- CARTER, G.R.; CHENGAPPA, M.M. 1994. Bacteriología y micología. Veterinaria. Trad. R.C. Pacheco 2 ed. México, MX Editorial Manual Moderno p. 185-273.
- 6- CANALES, J.A. ;TORRES,W.E.; IRAHETA,A.E..1996. Determinación de concentración de cloruros por potenciometria directa, para la detección de mastitis en vacas lecheras, en el departamento de San Miguel. Tesis San Salvador, SV. Universidad de El Salvador 98 p.
- 7- CAMPOS, J.A. ; PANAMEÑO, B.A. ; MENDEZ, R.A. 1995. Aplicación de una técnica Analítica volumétrica en la determinación de concentración de cloruros: Para la detección de mastitis en leche de vaca en el departamento de La Libertad, tesis San Salvador, SV. Universidad de El Salvador 72 p.
- 8- DANYS, J.R. 1962 Levantamiento general de suelos de la republica de El Salvador: Cuadrante 2456 IV, San Vicente, Nueva San Salvador, dirección General de Investigación agronómica, Esc. 1:50,000
- 9- FIGUEROA, MAX. 1984. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica, San José, Costa Rica, Editorial Universal Estatal a distancia, 195 –210 Pág.

- 10- FERRERA, C.A.R. S.F. Estudio de la propagación vegetativa de la ruda *Ruta graveolens*, S.L. SN. S.P.
- 11- LIFE. S.F. Manual practico del ganadero, “Mastitis”, taller grafico “LIFE”, Quito, Ecuador 88-91 Pág.
- 12- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, SV) 1993. Aspectos Higiénicos Sanitarios de la leche y productos lácteos, San Salvador, El Salvador. Pág. 196.
- 13- MATEOS, G. 1983. Mastitis bovina, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Departamento de producción animal, Turrialba, costa Rica. 5-17 Pág.
- 14- MERCK, I.A. 1993. Manual Merck de veterinaria, 4 ta ed., Barcelona, España, Editorial Océano. 2092 Pág.
- 15- MERCHANT, I.A.; PACKER, R.A. 1980. Bacteriología y Virología veterinaria 3 ed. Zaragoza, España. Editorial Acribia. P. 230-291
- 16- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, SV) 1982. Instituto Salvadoreño de Recursos Naturales. Almanaque Salvadoreño. San Salvador, SV P. 96
- 17- NOGUERA, E. 2003. La mejor manera para controlar la mastitis bovina (en linea), Maracaibo, Venezuela, consultado el 16 de mayo de 2003. Disponible en [www.e-campo .com](http://www.e-campo.com)
- 18- PLANTER. 1989. Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña, SL. S.N. 508-509 PAG.
- 19- PEREZ, F.P. 1994. Diccionario Enciclopédico de Veterinaria, Barcelona, España, Iatros Ediciones. 519-527 Pág.

- 20- PLANTAS CURATIVAS, ACHIOTE, 2003. (en línea). Santa Fe de Bogota. Colombia, consultado el 21 de marzo de 2003. Disponible en
- 21- PLANTAS MEDICINALES, 2003. (en línea). Lima, Peru. consultado el 22 de mayo de 2003.Disponible en [www. Serviowed.cl](http://www.Serviciowed.cl)
- 22- PLANTAS MEDICINALES, 2003. (en línea). Mexico D.F, consultado el 22 de mayo de 2003.Disponible en [www. Zona verde. Net](http://www.ZonaVerde.Net)
- 23- RIVERA, A. 2003. La mastitis es un serio problema en la ganadería. El Diario de Hoy San Salvador, EL SALVADOR. 22 de abril de 2003. 49 Pag.
- 24- RODRIGUEZ PINEDA ,S.R. 1999. Evaluacion de cuatro concentraciones de extracto de ajo para el control de las bacterias causantes de los procesos de **mastitis en el** ganado bovino. Tesis , San Vicente, EL SALVADOR . UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, 65 Pag.
- 25- SABILLON, A.; BUSTAMANTE, M.1996. Guía fotográfica para la identificación de plantas con propiedades plaguicidas, parte 1,Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana .110 Pág.
- 26- SCHIMER, O. 1990. Mutagenic compounds in an from Rutae herbs II, Mutat Res 243(1): 57-62 pag.

ANEXOS

FIGURA No 16. Muestra 1. *Staphylococcus epidermidis*

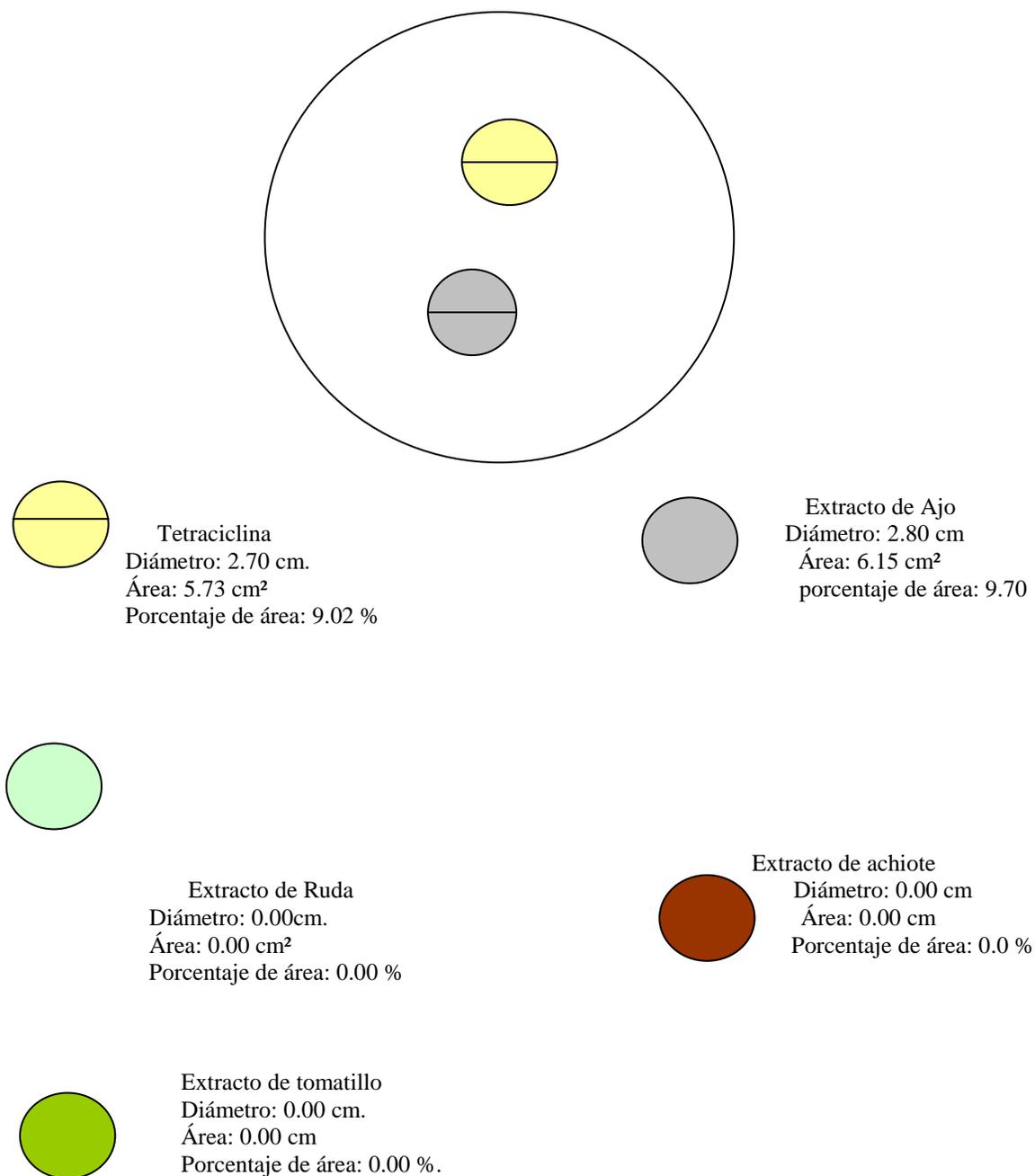
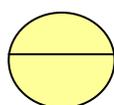
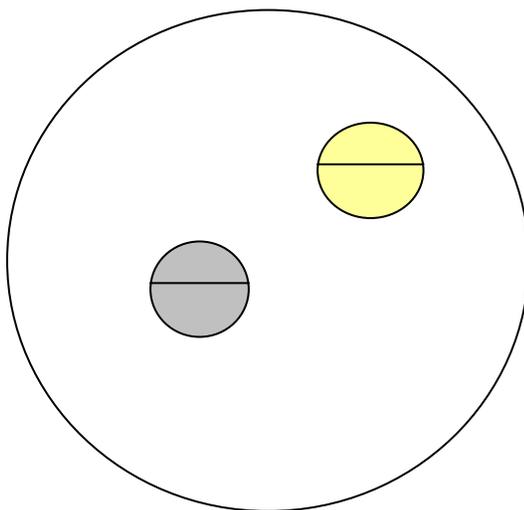
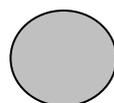


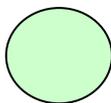
FIGURA No .17 Muestra 2. *Streptococcus sp.* (Colonia beta hemolítica).



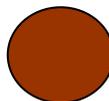
Tetraciclina
 Diámetro: 2.00 cm.
 Área: 3.14 cm²
 Porcentaje de área: 4.95 %



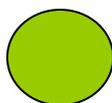
Extracto de Ajo
 Diámetro: 1.20 cm
 Área: 1.13 cm²
 Porcentaje de área:



Extracto de Ruda
 Diámetro: 0.00 cm.
 Área: 0.00 cm²
 Porcentaje de área: 0.00 %



Extracto de achiote
 Diámetro: 0.00 cm
 Área: 0.00 cm
 Porcentaje de área: 0.0 %



Extracto de tomatillo
 Diámetro: 0.00 cm.
 Área: 0.00 cm Porcentaje de área: 0.00 %

FIGURA No 18. Muestra 3. *Staphylococcus epidermidis*

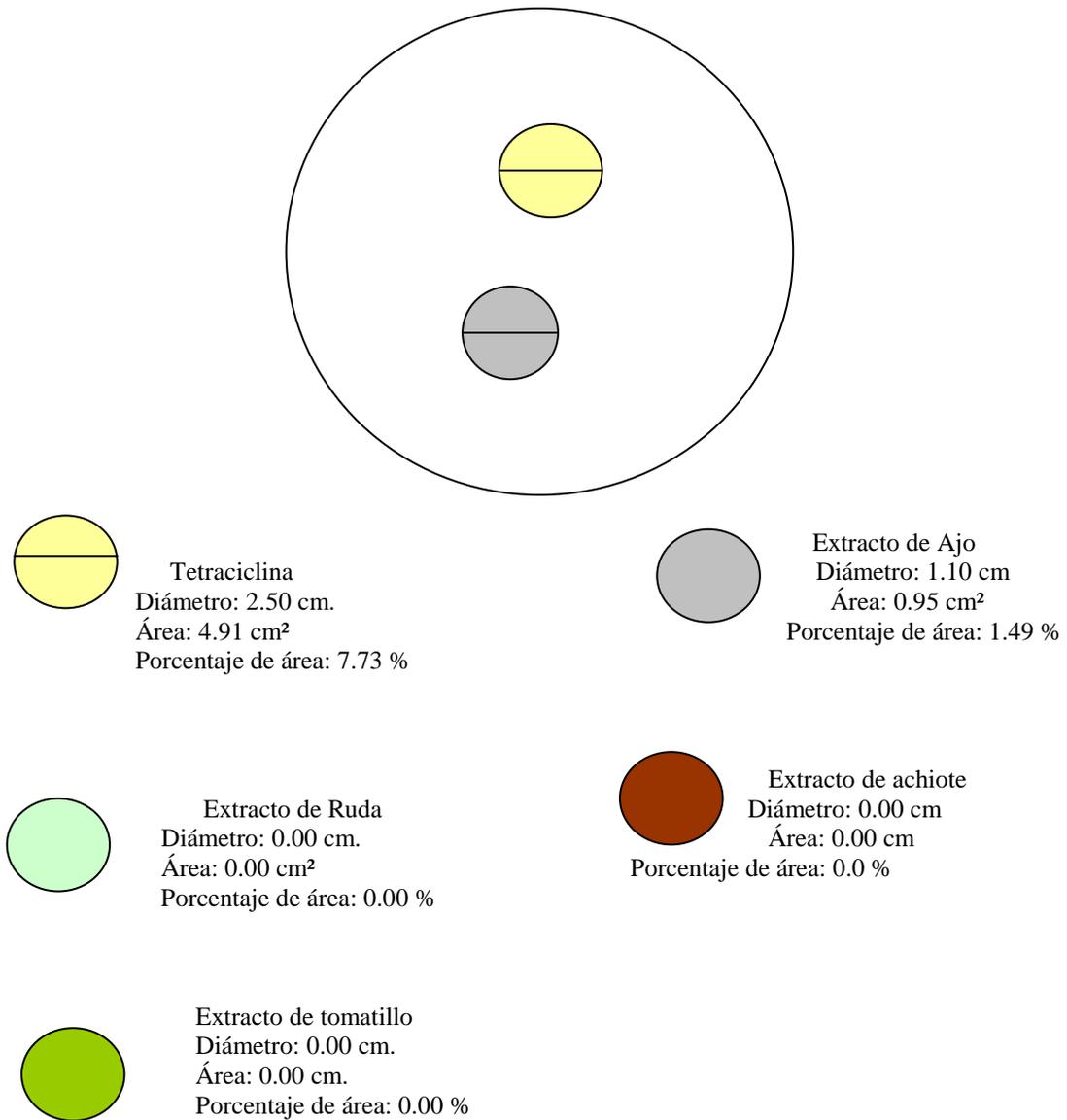


FIGURA No 19. Muestra 3.1. *Escherichiae coli*

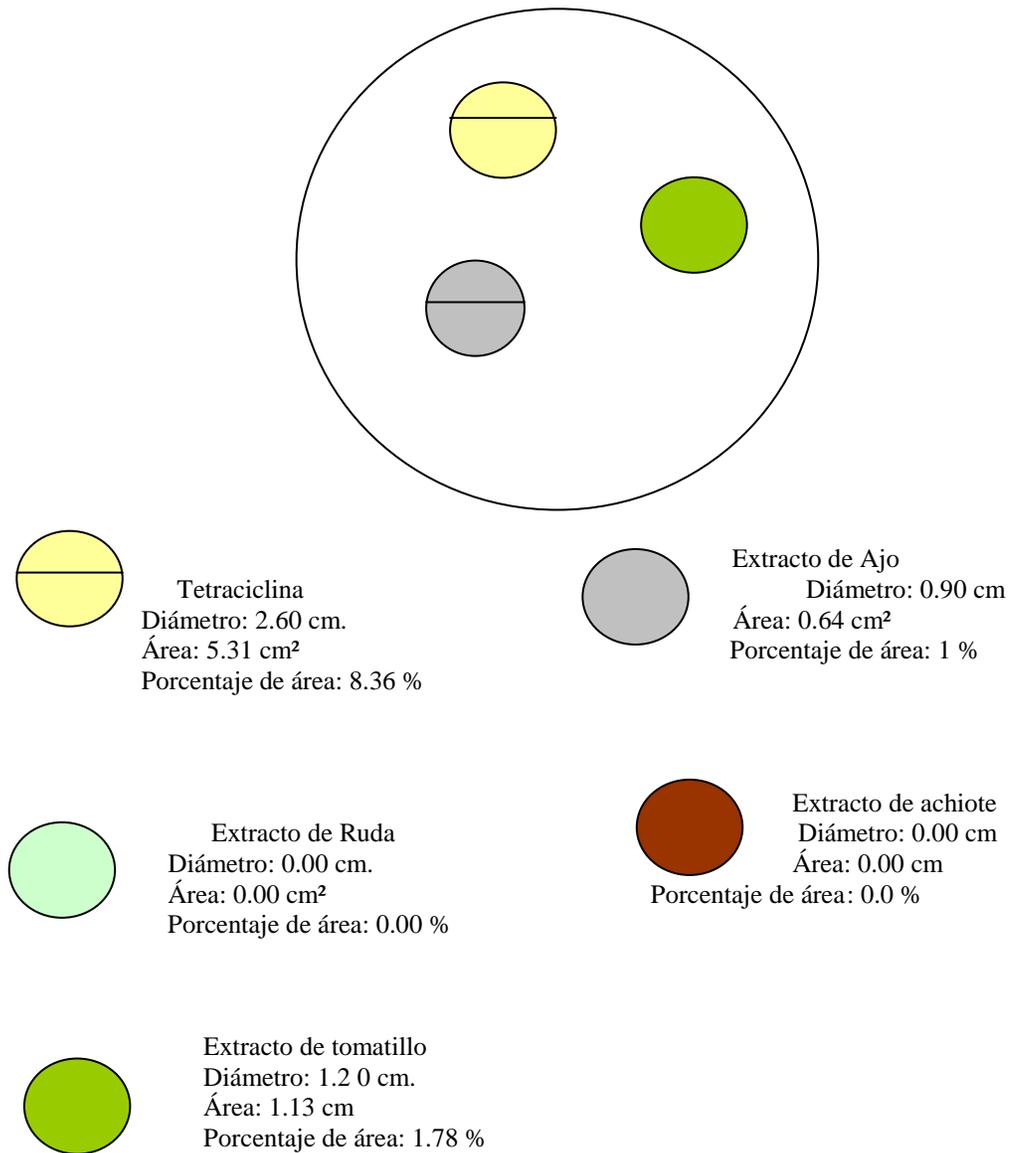


FIGURA No 20. Muestra 4. *Klebsiella sp.*

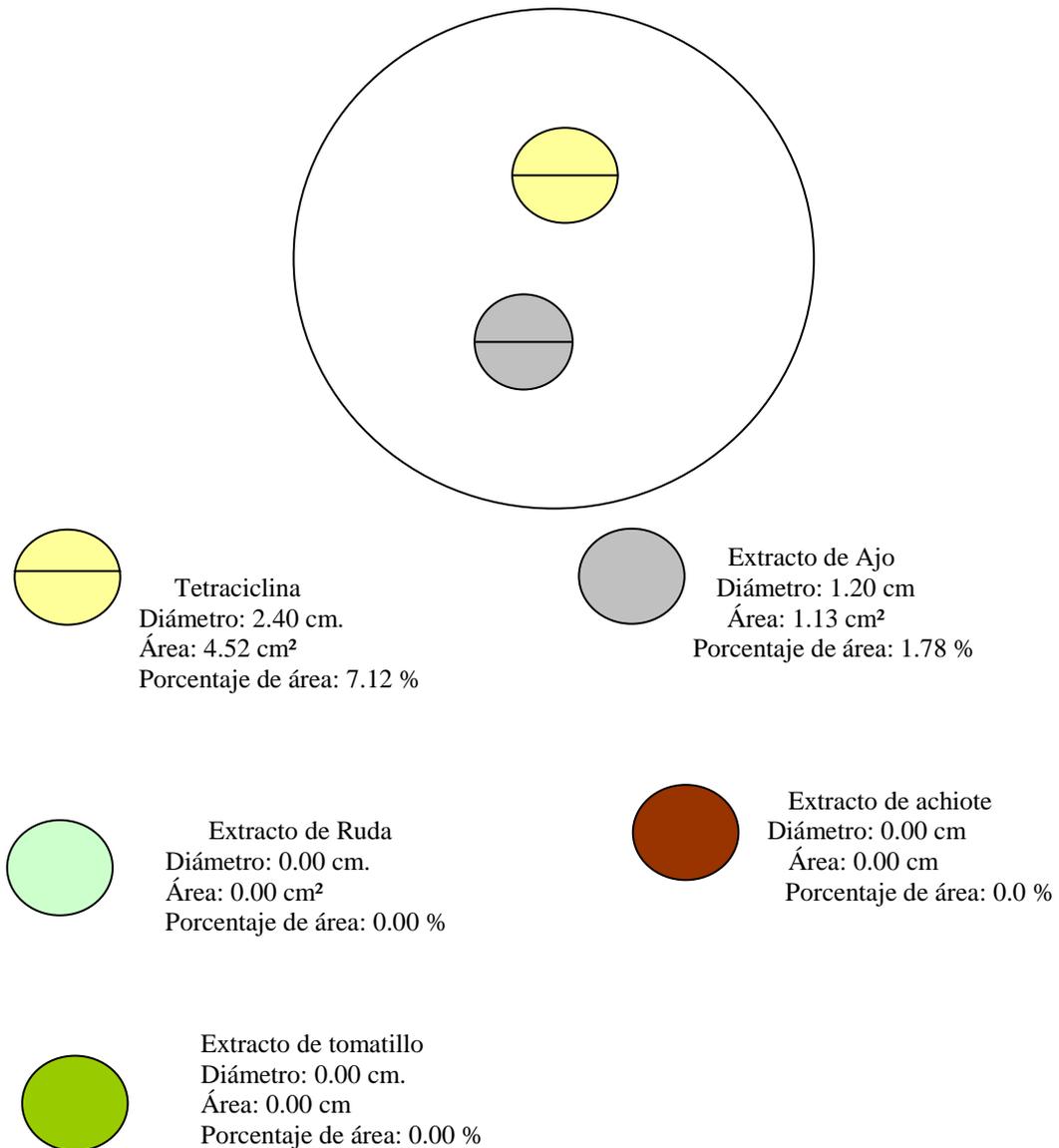


FIGURA No 21. Muestra 5. *Staphylococcus epidermidis*

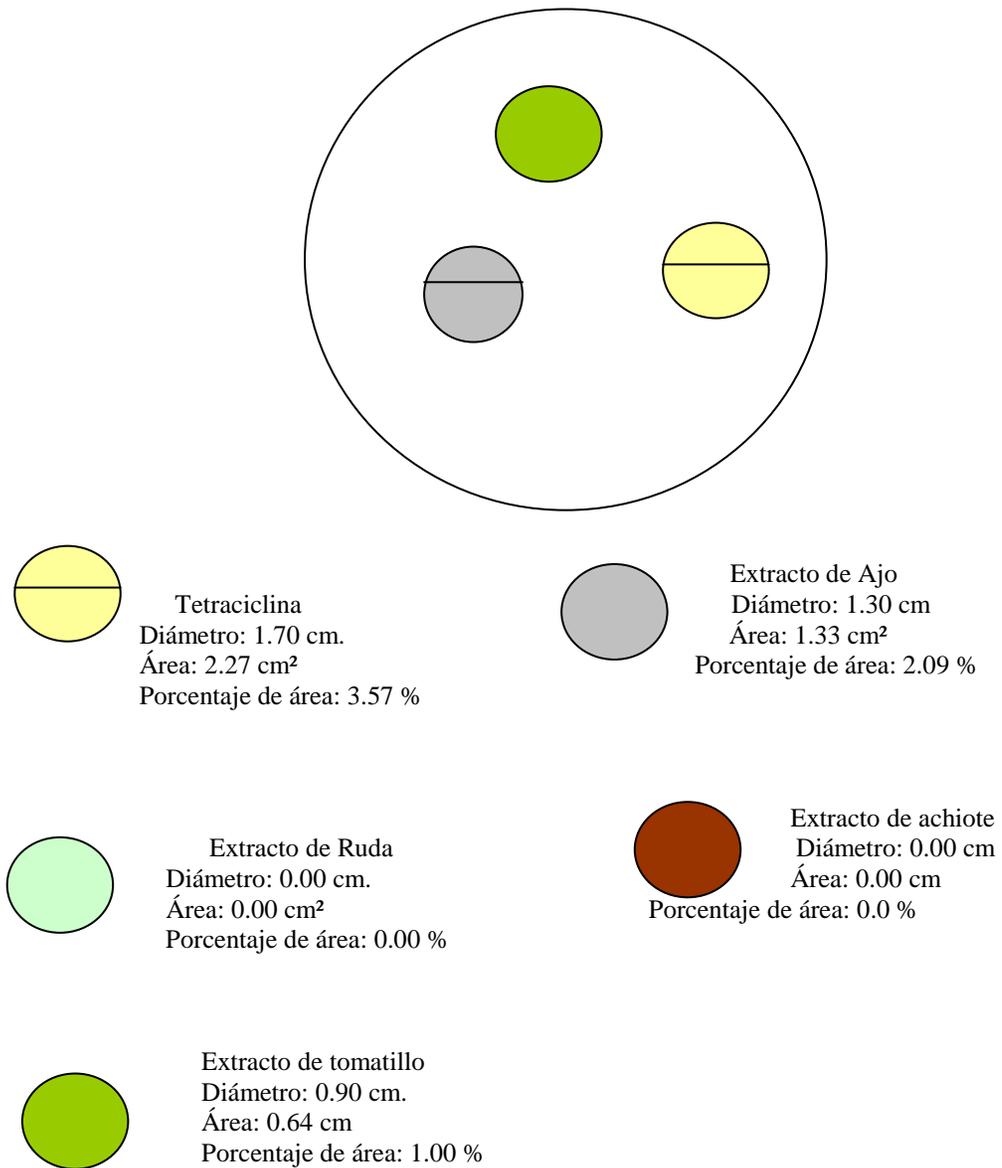


FIGURA No 22. Muestra 5.1. *Escherichiae coli*

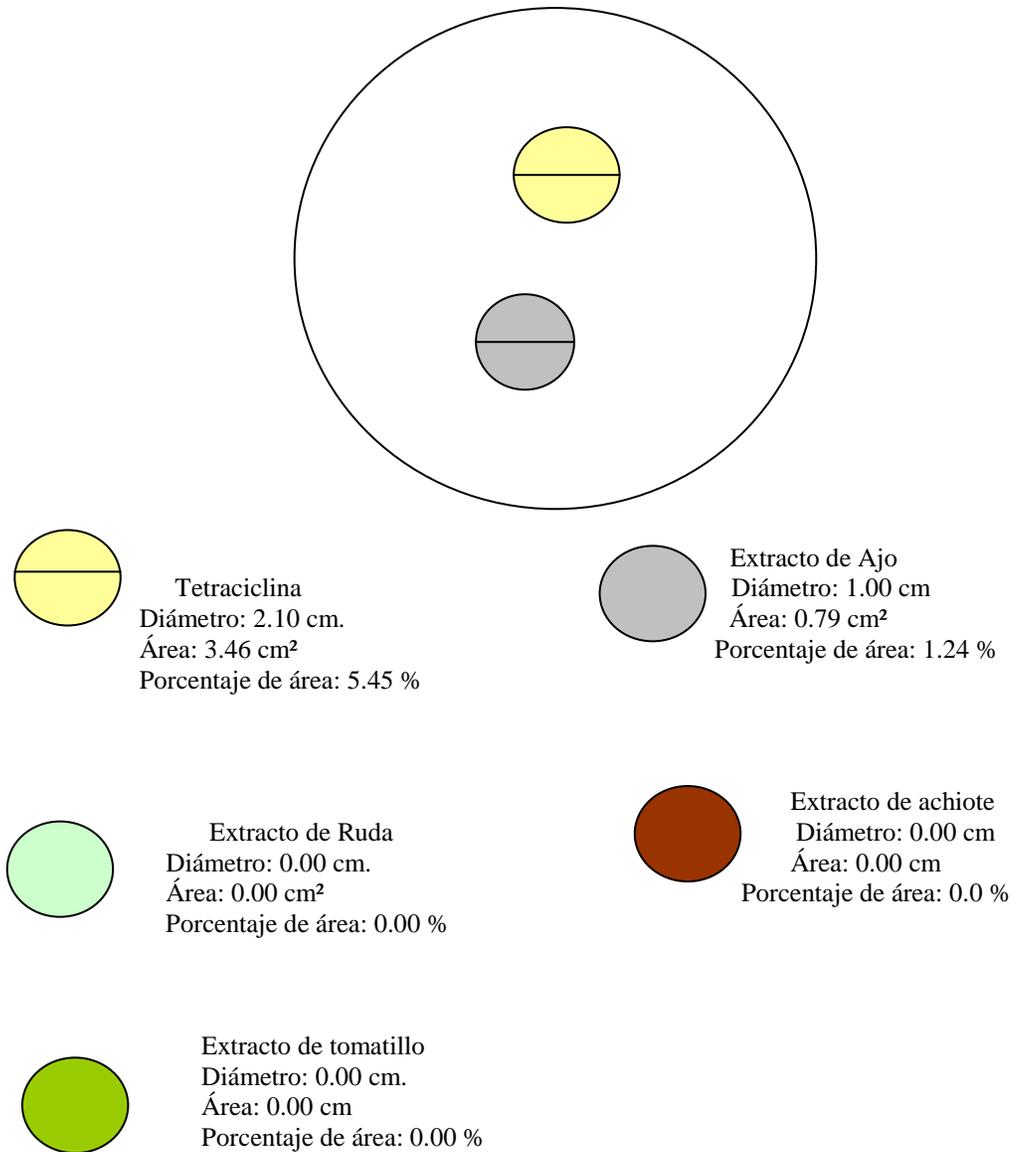


FIGURA No 23. Muestra 6. *Staphylococcus aureus*

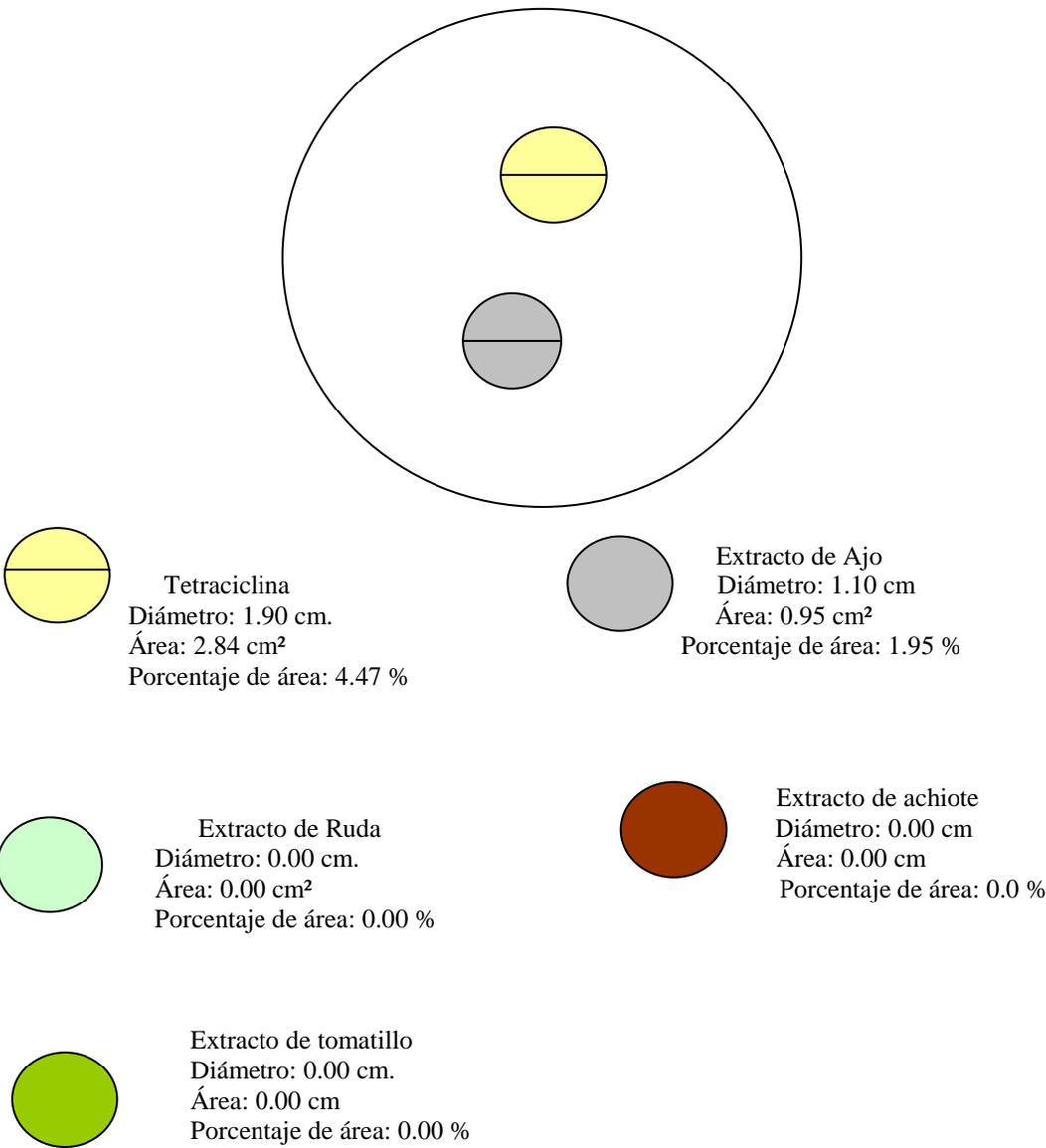


FIGURA No 24. Muestra 7. *Staphylococcus epidermidis*

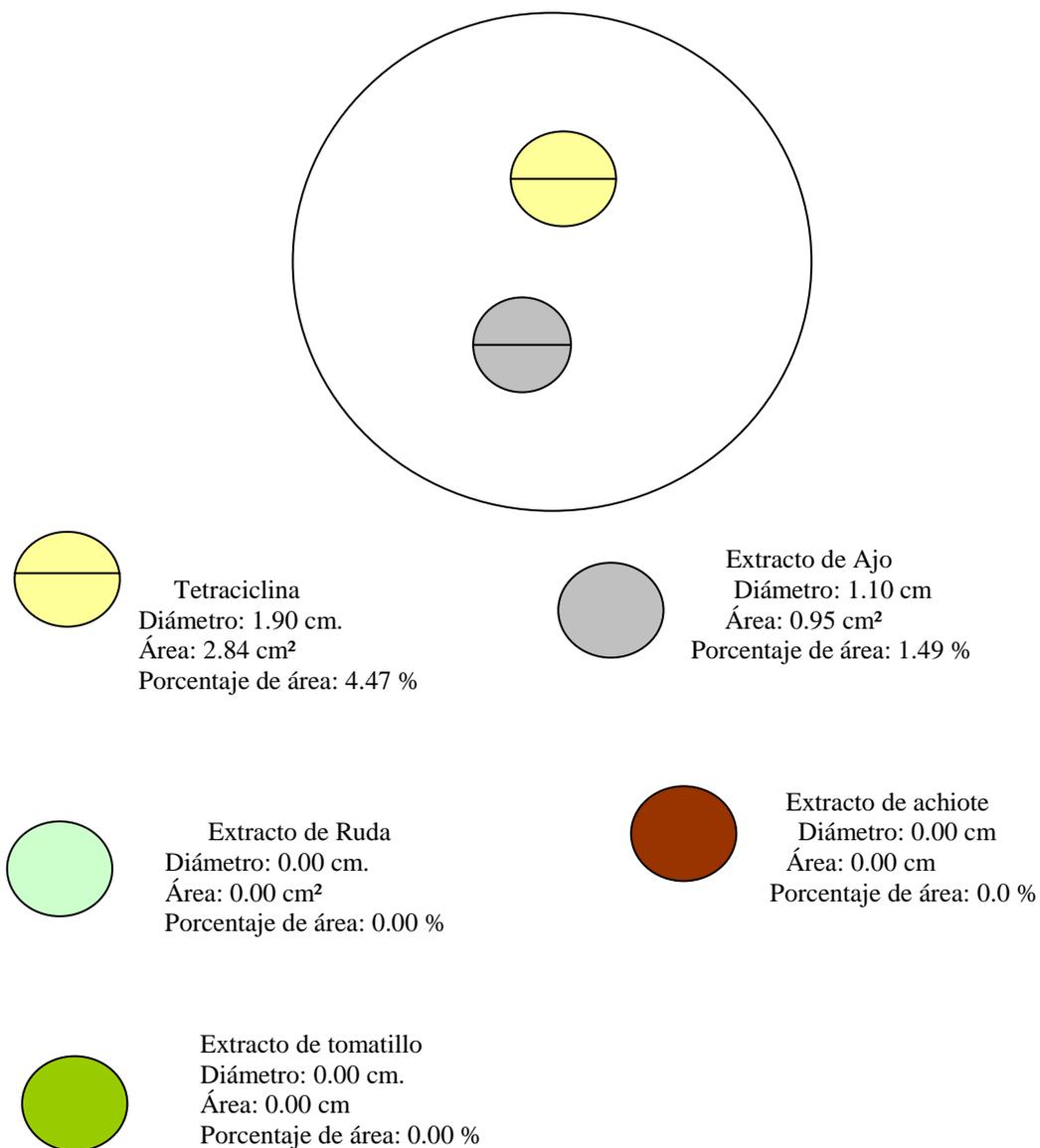


FIGURA No 25. Muestra 8. *Staphylococcus epidermidis*

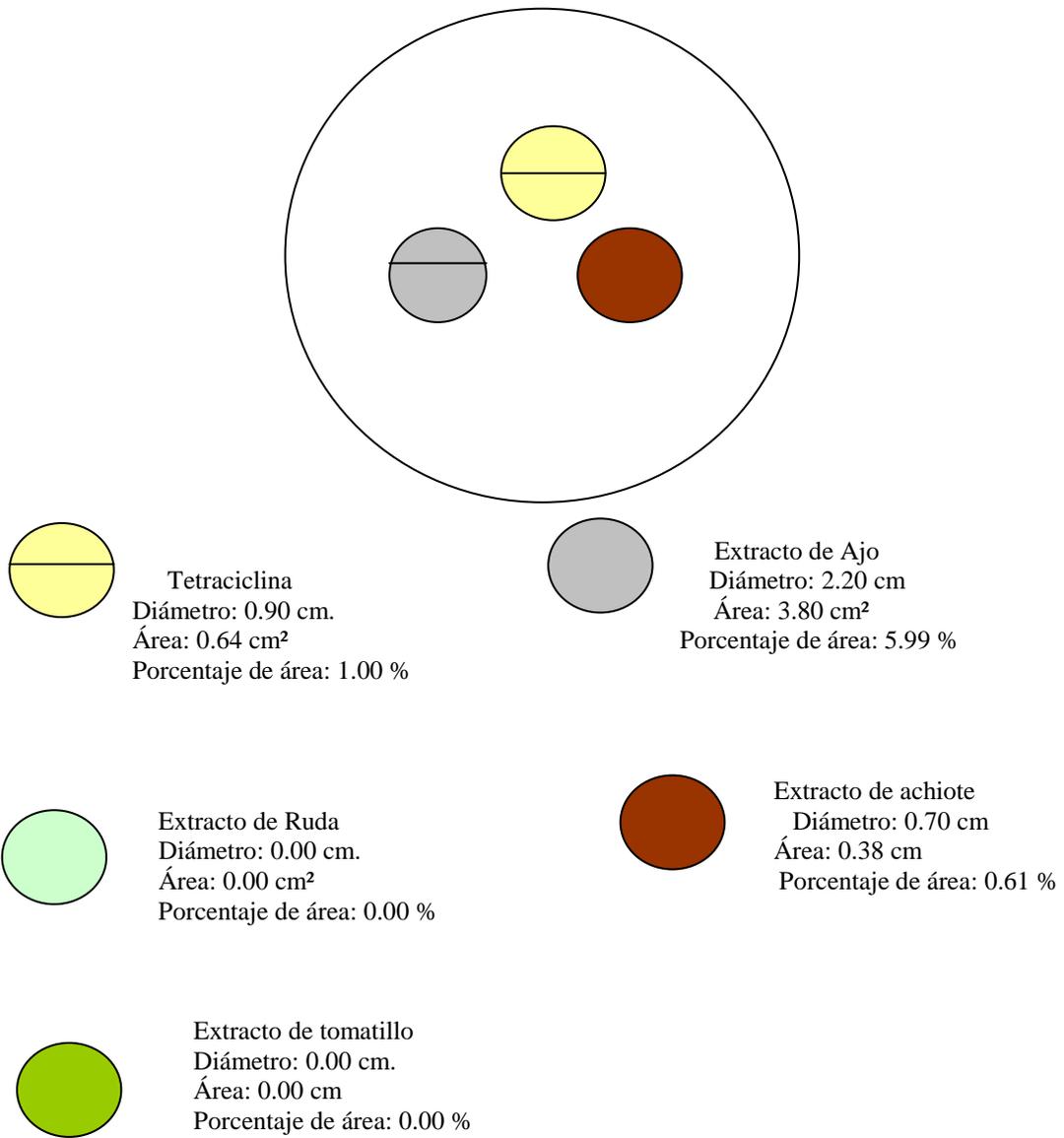


FIGURA No 26. Muestra 9. *Staphylococcus aureus*

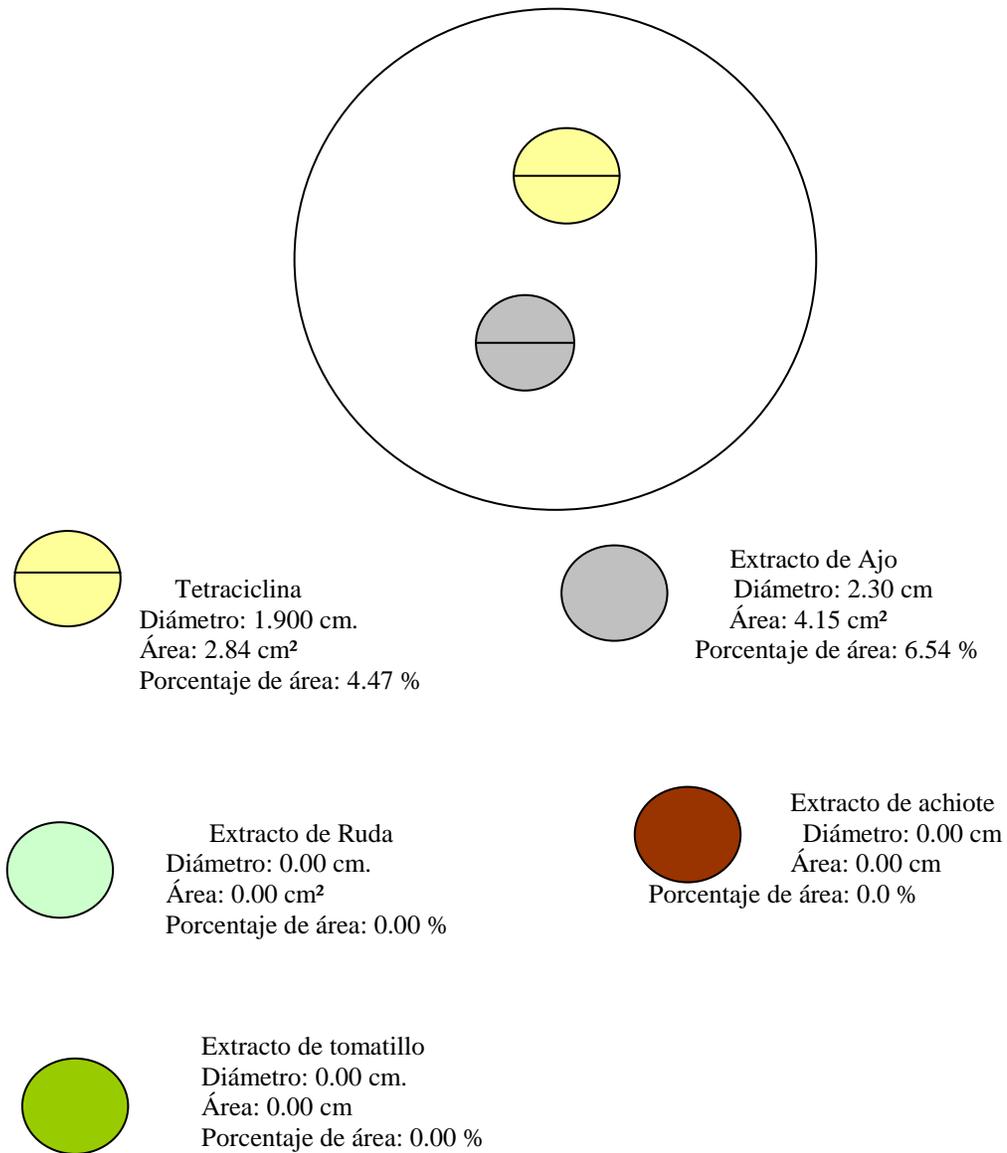


FIGURA No 27. Muestra 10. *Staphylococcus aureus*

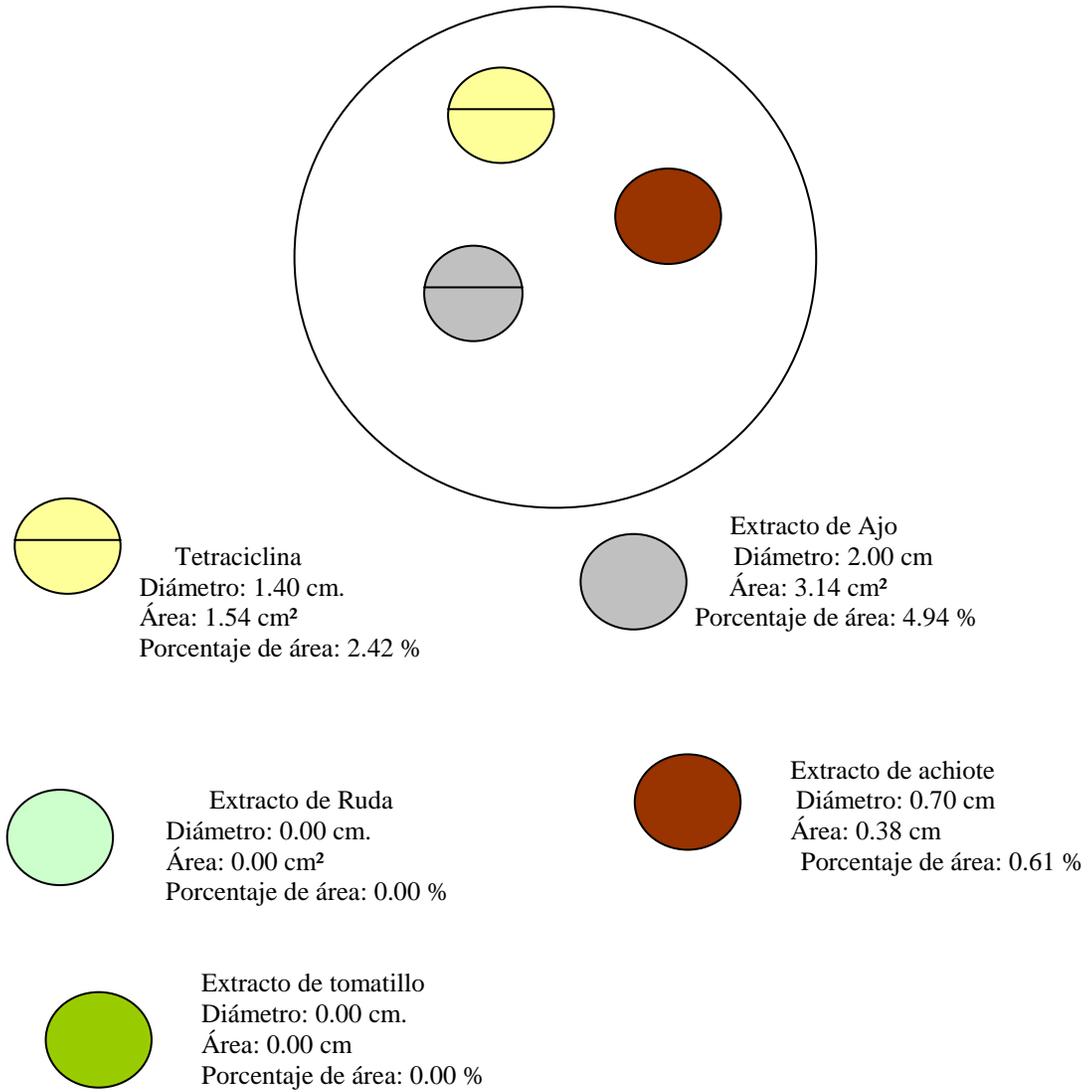
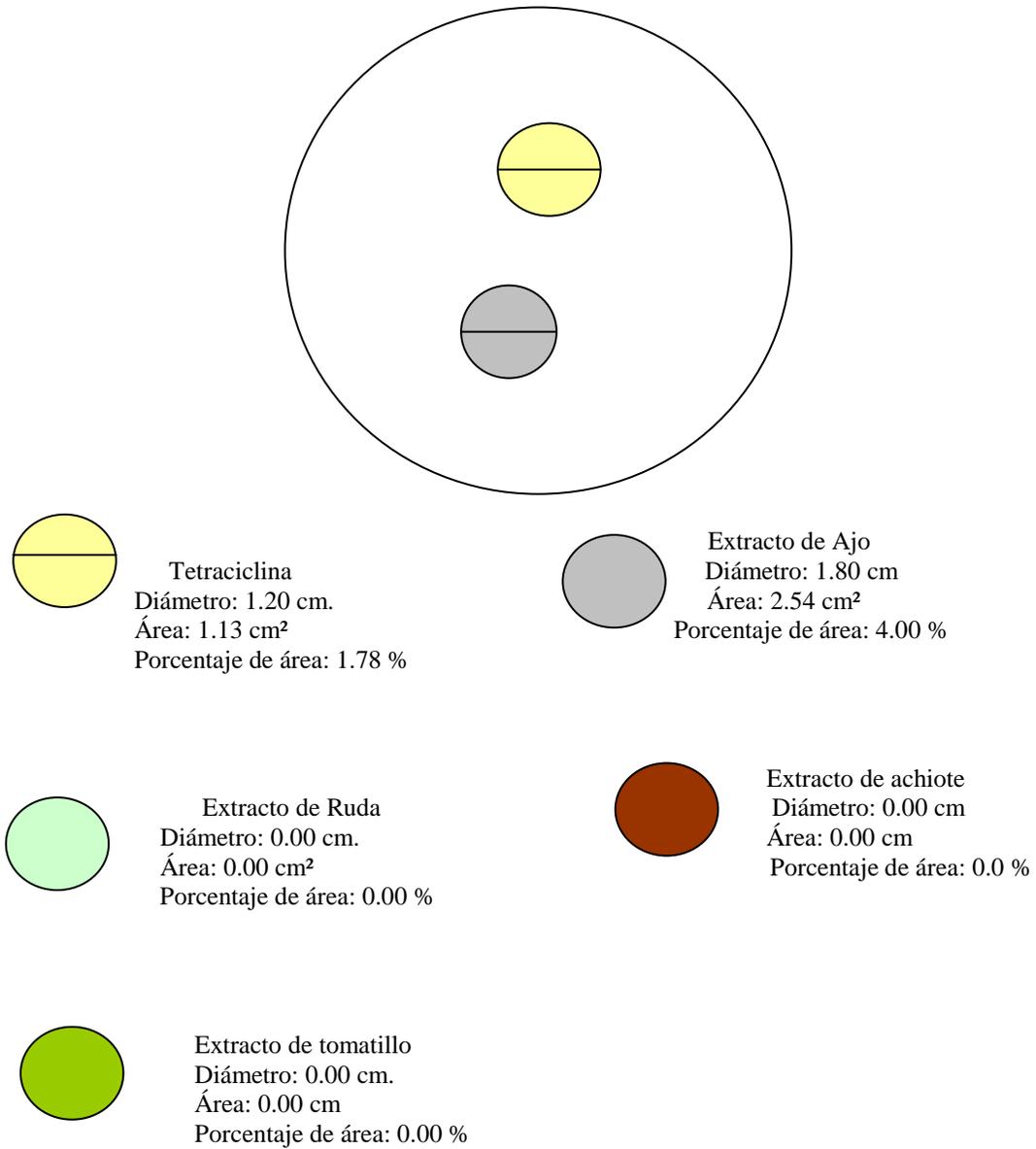


FIGURA No 28. Muestra 10.1. *Escherichiae coli*



CUADRO No. 7. Productos químicos antimasticidas.

Producto Químico	Precio Unitario Por jeringa de 10ml.	Aplicación por tratamiento.
Pathozone <ul style="list-style-type: none"> • Cefoperazona sodica 250mg 	\$ 6.51	\$ 6.51
Clavamox Lc <ul style="list-style-type: none"> • Amoxicilina 250mg • Acido Clavulanico 50mg • Prednisolona 10mg 	\$ 1.49	\$ 4.47
Masticilin <ul style="list-style-type: none"> • Gentamicina base, como sulfato 150mg • Neomicina base, como sulfato 250mg • Flumetasona 0.25mg • Vehículo c.b.p. 10ml 	\$ 1.60	\$ 4.80
Secan <ul style="list-style-type: none"> • Penicilina G procaina 1,000,000UI • Neomicina base, como sulfato 250mg • Vehículo c.b.p 10ml 	\$ 1.49	\$ 4.47
Antimastitis A <ul style="list-style-type: none"> • Cloxacilina sodica 250mg • Sulfato de Neomicina 200mg • Sulfadimidina sodica 500mg • Quimiotripsina • Excipiente c.s.p 10gr 	\$ 1.49	\$ 4.47

<p>Antimastitis S</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cloxacilina sodica 200mg • Cloxacilina benzatina 200mg • Neomicina sulfato 200mg • Excipiente c.s.p 10gr 	<p>\$ 1.49</p>	<p>\$ 4.47</p>
--	-----------------------	-----------------------

CUADRO No 8. Presupuesto para la evaluacion de extractos botanicos con propiedades bactericidas.

DESCRIPCION	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO (\$)	TOTAL (\$)
TR = Tetraciclina.	12 u	0.11	1.32
T1 = Ruda	10 manojos	0.11	1.10
T2 = Ajo	3 cabezas o bulbos	0.23	0.69
T3 = Achiote	3 onzas	0.17	0.51
T4 = Tomatillo	8 onzas	0.11	0.88
Antibiogramas	13	6.86	88.18
Unidades Experimentales	10 vacas	0.00	0.00
Alimentación de los animales	0.0 libras	0.00	0.00
Transporte	10 visitas	5.00	50.00
			143.68