



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**

## **FACULTAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

### **CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

#### **TRABAJO EXPERIMENTAL**

**“EVALUACIÓN DE LOS FLAVONOIDES (1500 mg) COMO  
TRATAMIENTO ALTERNATIVO EN LA MASTITIS SUBCLÍNICA  
GRADO 1, 2, 3 EN VACAS EN ORDEÑO”.**

Trabajo Experimental presentado previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y Zootecnista

**Autora:**

Carrera Almachi Rocío del Pilar

**Director:**

Dr. Mg. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

LATACUNGA - ECUADOR

AGOSTO – 2017

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **Carrera Almachí Rocío del Pilar** declaro ser autora del presente Trabajo experimental: **Evaluación de los flavonoides (1500 mg) como tratamiento alternativo en la mastitis subclínica grado 1, 2, 3 en vacas en ordeño**, siendo el **Dr. Miguel Gutiérrez** tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

---

Carrera Almachí Rocío del Pilar  
050379467-9

## **AVAL DEL TUTOR DE TRABAJO EXPERIMENTAL**

En calidad de Tutor del Trabajo Experimental sobre el tema:

**“Evaluación de los flavonoides (1500 mg) como tratamiento alternativo en la mastitis subclínica grado 1, 2, 3 en vacas en ordeño”**, de Carrera Almachi Rocío del Pilar, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Titulación que el Honorable Consejo Académico de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, julio del 2017

.....  
Dr. Mg. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso  
0502236623

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: **Carrera Almachi Rocío del Pilar** con el título de Trabajo experimental: **“Evaluación de los flavonoides (1500 mg) como tratamiento alternativo en la mastitis subclínica grado 1, 2, 3 en vacas en ordeño”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Trabajo experimental.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, Julio 2017

Para constancia firman:

---

**Lector 1 (Presidente)**  
**Nombre: Dr. Mg. Edwin Pino**  
**CC: 050229598-3**

---

**Lector 2**  
**Nombre: Mvz. Mg. Paola Lascano**  
**CC: 050291724-8**

---

**Lector 3**  
**Nombre: Dr. Mg. Alonso Chicaiza**  
**CC: 050130831-6**

**AGRADECIMIENTO**

Primeramente le doy gracias a DIOS por haberme permitido tener tan grata experiencia en la Universidad Técnica de Cotopaxi la misma que me ha permitido formarme como profesional en lo que más amo.

A mis padres, quienes con mucho esfuerzo, dedicación y cariño me ayudaron en todos los obstáculos que se me pusieron en frente durante todo el transcurso de mi vida universitaria.

A mis hermanas quienes me ayudaron en momentos difíciles con sus consejos y buenas palabras de aliento para conseguir mi sueño, a mi hermano quien con sus pequeñas pero tan alentadoras palabras me motivaba día a día.

A mi tutor Dr. Miguel Gutiérrez quien ha sido el principal aporte durante esta investigación, ya que con su paciencia y apoyo incondicional me ha permitido culminar satisfactoriamente la investigación. Al Dr. Manuel García Herreros PhD. asesor científico.

A la "Hacienda Pasochoa" en donde me abrieron las puertas para poder realizar mi investigación y al laboratorio de diagnóstico VETELAB.

## **DEDICATORIA**

Mi tesis se la dedico a mis padres José Carrera y Rosa Almachí, quienes han sido el motor fundamental de mi vida ya que con su esfuerzo, paciencia y amor han sabido guiarme por un buen camino, inculcándome siempre valores para mi formación profesional.

A mis hermanas Viviana, Amada, a mi hermano José quienes han sido una parte importante desde mi infancia ya que siempre han estado cuando más los he necesitado.

Carrera Almachí Rocío del Pilar.

## **ÍNDICE PRELIMINAR**

1.	INFORMACIÓN GENERAL	1
----	---------------------	---

<b>CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
Portada	i
Declaración de autoría	ii
Aval del tutor de trabajo experimental	iii
Aprobación del tribunal de titulación	iv
Agradecimiento	v
Dedicatoria	vi
Índice	vii

## ÍNDICE GENERAL

2.	RESUMEN	3
	ABSTRACT	4
3.	INTRODUCCIÓN	5
4.	OBJETIVOS:	6
	General	6
	Específicos	6
5.	FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	6
5.1	Antecedentes.	6
5.2	La Ubre.	7
5.3	Anatomía de la Ubre.	8
5.4	Inervación.	9
5.5	Irrigación.	9
5.6	Definición Leche.	9
5.7	Fisiología de la lactación.	9
5.8	Mamogénesis.	10
5.8.1	Lactogénesis y galactopoiesis.	10
5.8.2	Involución.	11
5.9	Mastitis Bovina	11
5.10	Mastitis Subclínica	11
5.11	Patógenos Causantes de la Mastitis Subclínica.	13
a.	Streptococcus agalactia	13
b.	Staphylococcus aureus	13
c.	Streptococcus uberis y Streptococcus dysgalactiae	14
d.	Bacterias coliformes	14
5.12	Métodos Diagnósticos para la Detección de Mastitis Subclínica.	15
a.	California Mastitis Test CMT	15
b.	Funcionamiento de la CMT	15
c.	Recuento de Células Somáticas	16
d.	Pruebas Bacteriológicas	17
5.13	Flavonoide.	17
5.13.1	Importancia del Flavonoide en la Glándula Mamaria.	18
5.13.2	Distribución	18
5.13.3	Estructura Química	19
5.13.4	Propiedades	19
5.13.5	Clasificación de los Flavonoides.	20
a.	Flavonoides,	20
b.	Isoflavonoides,	20

c.	Neoflavonoides	20
d.	Flavonas	20
e.	Flavonoles.	20
f.	Isoflavonas.	20
g.	Flavanonas.	21
5.13.6	Actividades de los Flavonoides	21
a.	Actividad Antioxidante	21
b.	Protección de las Capilares, Función Anticoagulante (anti hemorragia)	21
c.	Influencia sobre el crecimiento y la proliferación celular	21
d.	Función Antibacteriana y Antiviral	22
6.	VALIDACIÓN DE LAS HIPOTESIS:	22
6.1	Hipótesis alternativa	22
6.2	Hipótesis Nula	22
7.-	MATERIALES Y MÉTODOS:	22
7.1	Recursos	22
7.1.1	Recursos Humanos.	22
7.1.2	Materiales de Oficina.	23
7.1.3	Materiales para el Experimento	23
7.1.4	Material Biológico	23
7.2	Tipo de Investigación	23
7.2.1	Investigación Experimental	23
7.3	Método y Técnica:	24
7.3.1	Método	24
7.3.1.1	Método Inductivo	24
7.3.2	Técnica.	24
7.3.2.1	Observación.	24
7.4	Variables:	25
7.5	Diseño Experimental	25
8.	PROCEDIMIENTO	25
8.1	Características del lugar de ejecución del proyecto	25
8.2	Tratamiento	26
8.3	Unidades experimentales	26
8.4	Desarrollo de las actividades	26
8.4.1	Diagnóstico de mastitis subclínica de todo el hato de producción láctea	26
8.4.2	Selección de los 21 cuartos para la investigación	27
8.4.3	Toma de muestras	27
8.4.4	Envío de muestras al laboratorio	27
8.4.5	Administración de flavonoides®	27
9.	RESULTADOS.	28
10.	DISCUSIÓN	77
11.	CONCLUSIONES	79
	RECOMENDACIONES	
12.	BIBLIOGRAFIA	81
	Citada.	84
	Libros.	84
13.	ANEXOS	85

## ÍNDICE DE FIGURAS



FIGURA N°1.	Cuartos de la ubre	7
FIGURA N°2	Anatomía de la ubre	8
FIGURA N°3	Principales microorganismos causantes de la mastitis bovina	15
FIGURA N°4	Interpretación de resultados en la prueba de "CMT"	16
FIGURA N°5	Estructura base de los flavonoides	19

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1.	Técnicas e Instrumentos	25
Cuadro N° 2.	Variables e Indicadores.	25
Cuadro N° 3.	Recuento de células somáticas (CCSx1000/ml) pre-aplicación y post-aplicación del flavonoides.	28
Cuadro N° 4.	Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) pre-aplicación de flavonoides y 12, 48 horas post-aplicación del flavonoide®.	51
Cuadro N° 5.	Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 pre-aplicación y post-aplicación.	71
Cuadro N° 6.	Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 grupo testigo.	72
Cuadro N° 7.	Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 pre-aplicación y 48 horas post-aplicación.	73
Cuadro N° 8.	Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 grupo testigo con variación de 48 horas en la toma de muestras.	74
Cuadro N° 9.	Antibiograma de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3.	75
Cuadro N° 10.	Antibiograma de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 grupo testigo.	76

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide®.	29
Tabla N° 2.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide.	30
Tabla N° 3.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado II pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide.	31
Tabla N° 4.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide.	32
Tabla N° 5.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide®.	33
Tabla N° 6.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) Pre y 12 horas post aplicación del flavonoide®, grado III.	34
Tabla N° 7.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I grupo control.	35
Tabla N° 8	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) grupo control grado I.	36
Tabla N° 9.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica II grado grupo testigo.	36
Tabla N° 10.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado II grupo testigo.	37
Tabla N° 11.		38

Tabla N° 12.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III grupo testigo.	39
Tabla N° 13.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado III.	39
Tabla N° 14.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide.	41
Tabla N° 15.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I con una variación de 48 horas.	41
Tabla N° 16.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado II pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide.	43
Tabla N° 17.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado II pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide®.	44
Tabla N° 18.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III pre y 48 post-aplicación del flavonoide®.	45
Tabla N° 19.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado III pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide®.	46
Tabla N° 20.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I grupo testigo con una variación de 48 horas.	47
Tabla N° 21.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) grupo control grado I 48 horas.	47
Tabla N° 22.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica II grado grupo testigo.	48
Tabla N° 23.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado II.	49
Tabla N° 24.	Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III grupo testigo 48 horas.	50
Tabla N° 25.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grupo testigo grado III 48 horas.	52
Tabla N° 26.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado I pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide®.	53
Tabla N° 27.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post-Aplicación del flavonoide.	54
Tabla N° 28.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide Mastitis Subclínica grado II.	55
Tabla N° 29.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post-Aplicación del flavonoide.	56
Tabla N° 30.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide® Mastitis Subclínica grado III.	57
Tabla N° 31.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado III (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post-Aplicación del flavonoide.	58
Tabla N° 32.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado I grupo testigo.	59
Tabla N° 33.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) 12 horas.	59
	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado II, grupo control.	59

Tabla N° 34.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) 12 horas.	60
Tabla N° 35.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado III grupo testigo.	61
Tabla N° 36.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado III (UFCx10/10ml) 12 horas.	62
Tabla N° 37.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide, mastitis subclínica grado I.	62
Tabla N° 38.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) 48 horas.	63
Tabla N° 39.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica pre y 48 post aplicación del flavonoide, mastitis subclínica grado II.	64
Tabla N° 40.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) 12 horas.	65
Tabla N° 41.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado I, grupo testigo con una variación de 48 horas.	66
Tabla N° 42.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) 48 horas.	67
Tabla N° 43.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado II, grupo testigo con una variación de 48 horas.	67
Tabla N° 44.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) 12 horas.	68
Tabla N° 45.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado III, grupo testigo con una variación de 48 horas.	69
Tabla N° 46.	Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) 48 horas.	70

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico N° 1.	Total de células somáticas del grado I pre y 12 horas post- Aplicación del flavonoide.	30
Gráfico N° 2.	Total de células somáticas del grado II pre y 12 horas post Aplicación del flavonoide.-	32
Grafico N° 3.	Total de células somáticas del grado III pre y 12 horas post Aplicación del flavonoide®.	34
Grafico N° 4.	Total de células somáticas del grado I grupo control.	35
Grafico N° 5.	Total de células somáticas del grado II grupo testigo.	37
Gráfico N° 6.	Total de células somáticas del grado III grupo testigo.	38
Grafico N° 7.	Total de células somáticas del grado I pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide.	40
Grafico N° 8.	Total de células somáticas del grado II pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide.	42
Grafico N°9.	Total de células somáticas del grado III pre y 48 horas post Aplicación del flavonoide®.	45
Grafico N°10.	Total de células somáticas del grado I grupo testigo en 48 horas	46

Grafico N°11.	Total de células somáticas del grado II grupo testigo 48 horas.	48
Gráfico N°12.	Total de células somáticas del grado III grupo testigo 48 horas.	49
Grafico N°13.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I Pre-aplicación y 12 horas post-aplicación.	53
Gráfico N°14.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) de mastitis subclínica grado II Pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide®.	54
Grafico N°15.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) de mastitis subclínica grado III Pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide®.	56
GraficoN°16.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I grupo testigo.	58
GraficoN°17.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado II grupo testigo.	60
GraficoN°18.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado III grupo testigo.	61
GraficoN°19.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide.	63
GráficoN°20.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado II pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide.	65
GraficoN°21.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I del grupo testigo con una variación de 48 horas en la toma de muestra.	66
GraficoN°22.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado II del grupo testigo con una variación de 48 horas en la toma de muestra.	68
GraficoN°23.	Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado III del grupo testigo con una variación de 48 horas en la toma de muestra.	69

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Aval de inglés.	85
Anexo 2	Hoja de vida del tutor.	86
Anexo 3	Hoja de vida.	87
Anexo 4	Ficha de campo.	88
Anexo 5	Diagnóstico de mastitis subclínica en todo el hato de ordeño (CMT).	89
Anexo 6	Toma de muestra de leche.	89
Anexo 7	Flavonoides y muestras de leche.	89
Anexo 8	Dilución del flavonoide.	89
Anexo 9	Aplicación del tratamiento a base de flavonoides en las vacas diagnosticadas con mastitis subclínica.	90
Anexo 10	Almacenamiento de muestras en cooler.	90
Anexo 11	Recepción de muestras de leche en el laboratorio.	91
Anexo 12	Exámenes de laboratorio.	92

## 1.- INFORMACIÓN GENERAL

### Tema del Trabajo Experimental:

Evaluación de los flavonoides (1500 mg) como tratamiento alternativo en la mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 en vacas en ordeña.

### Lugar de ejecución:

Barrio-parroquia-MEJIA-provincia-zona 3 HACIENDA PASOCHOA

### Unidad Académica:

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

### Carrera:

MEDICINA VETERINARIA

### Equipo de Trabajo:

### Tutor de Titulación

#### 1.- DATOS PERSONALES.

**NOMBRES Y APELLIDOS:** MIGUEL ANGEL GUTIÉRREZ REINOSO

**FECHA DE NACIMIENTO:** 24 / ABRIL / 1979

**CÉDULA DE CIUDADANÍA:** 0502236623

**NACIONALIDAD:** ECUATORIANA

**NUMEROS TELÉFONICOS:** 0995407023

**E-MAIL:** [mgutierrezreinoso@hotmail.com](mailto:mgutierrezreinoso@hotmail.com)

#### 2.- ESTUDIOS REALIZADOS

**NIVEL PRIMARIO :** Escuela Isidro Ayora

**NIVEL SECUNDARIO:** Instituto Superior Vicente León

**NIVEL SUPERIOR :** Universidad Técnica de Cotopaxi

**NIVEL POSGRADO:** Universidad Tecnológica Equinoccial – Maestría en producción Animal.

#### NIVEL POSGRADO:

- Diploma: Universidad Austral de Chile – Facultad de Ciencias veterinarias - CENEREMA
- Diploma: Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Complutense de Madrid – España.

- Estancia: Instituto de Reproducción Animal – INIA – Madrid España.
- Estancia: Laboratorio de Fertilización In vitro- INIA – Madrid España.
- Estancia: Instituto de Reproducción Animal – IRAC – Córdoba – Argentina
- Estancia Hospital Clínico Veterinario - Universidad Autónoma de Barcelona-España.

**Coordinador del proyecto:**

**CURRÍCULO VITAE**

**DATOS PERSONALES**

**NOBRES Y APELLIDOS COMPLETOS:** Rocío del Pilar Carrera Almachi  
**C.I.:** 0503794679  
**FECHA DE NACIMIENTO:** 3 de diciembre de 1993  
**LUGAR DE NACIMIENTO:** Saquisilí/Saquisilí  
**ESTADO CIVIL:** Soltero  
**DIRECCION:** Saquisilí  
**TELEFONO:** 0993547327  
**E-MAIL:** rocio.carrera9@utc.edu.ec  
**FORMACION ACADEMICA:**  
**ESTUDIOS PRIMARIOS:** Escuela fiscal de niñas Republica de Colombia.  
**ESTUDIOS SECUNDARIOS:** Colegio Nacional Saquisilí

**Área de Conocimiento:**

Epidemiología y Salud Animal

**Línea de investigación:**

Salud Animal.

**Sub líneas de investigación de la Carrera:**

Producción Animal y Nutrición.

**TEMA: “EVALUACIÓN DE LOS FLAVONOIDES (1500 mg) COMO TRATAMIENTO ALTERNATIVO EN LA MASTITIS SUBCLÍNICA GRADO 1, 2 y 3 EN VACAS EN ORDEÑO.”**

**2.-RESUMEN**

El principal desafío que enfrentan a diario los pequeños, medianos y grandes productores es el de producir leche en cantidad y calidad. La mastitis es una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero, y es una de las más importantes que afecta mundialmente la industria lechera; puesto que ocasiona pérdidas económicas muy fuertes a todos los productores en el mundo, debido a la disminución en el rendimiento y aumento en el número de tratamientos clínicos; así uno de los problemas de salud pública más críticos son el empleo de antibióticos en cuadros de mastitis para su tratamiento y recuperación. Por lo tanto el objetivo del presente estudio fue la evaluación de los flavonoides (1500 mg) como tratamiento alternativo en la mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 en vacas en ordeño, su relación con el Recuento de Células Somáticas - RCS, Unidades Formadoras de Colonias – mesófilas aerobias-UFC, cultivo y antibiograma. En el estudio se seleccionaron 21 vacas, que se las dividió en 2 grupos: el grupo 1 correspondiente a los semovientes que se les aplicó flavonoides - diosmina® a 1500 mg en el cuarto (ubre) afectado, y el grupo 2 que corresponde al grupo control o testigo. La toma de muestras fue muy cuidadosa, aséptica y directa de cada uno de los cuartos de la glándula mamaria, antes y post aplicación de los flavonoides®; se etiquetó colocándolas en refrigeración (4°C) para su transporte al laboratorio y procesamiento. Para la interpretación de los resultados del experimento se utilizó el análisis estadístico t de Student para detectar la existencia de diferencias significativas entre las medias de una determinada variable cuantitativa en dos grupos de datos emparentados. Con relación al análisis del CCS y UFC estos valores se los utilizó como medida de la calidad de la leche, niveles bajos determinarían una leche normal y niveles altos una leche de mala calidad como consecuencia de una infección intramamaria (mastitis clínica o subclínica grado I,II y III). Respecto a las CCS en el pre- experimento se determinaron conteo de 79.436.338(CCSx100/ml) y post a la aplicación del flavonoide de 148.270.840(CCSx100/ml). En relación a las UFC/ml en el pre- experimento se determinan recuentos de 14.716.630 UFC/ml y post a la aplicación de los flavonoides de 2.015.728 UFC/ml. Así, en los promedios ponderados de CCS se encontraron diferencias entre los diferentes grados de mastitis respectivamente. Además, las especies bacterianas aisladas fueron: *Staphylococcus* spp, *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella oxytoca*. Responsables de mastitis de tipo contagioso. Así, como de las bacterias responsables de mastitis de tipo ambiental que se aislaron fue: *E. coli* y *klebsiella*. No se demostró e identificó efecto adverso de los flavonoides a nivel de la glándula mamaria. Se concluye, que la utilización de los flavonoides en los diferentes grados de mastitis subclínica determina una correlación positiva respecto a la sanidad de la ubre, posibilitando su uso en el tratamiento de esta patología.

**Palabras clave:** Mastitis, leche, colonias de bacterias, células somáticas, flavonoides.

**COTOPAXI TECHNICAL UNIVERSITY****AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES DEPARTMENT****TOPIC: EVALUATION OF FLAVONOIDS (1500 mg) AS AN ALTERNATIVE TREATMENT IN SUBCLINIC MASTITIS GRADE 1, 2, 3 IN COWS MILKING "****Author: Rocío Carrera****ABSTRACT**

The main challenge played daily by small, medium and large milk fabricators is to produce it in quantity and quality. Mastitis is a highly prevalent disease in dairy cattle, as well as being one of the most important diseases affecting the dairy industry worldwide; since it causes very strong economic losses to all milk producers in the world due to the decrease in milk yield and an increase in the number of clinical treatments, which cause the early cows to be rejected. , For some time as the most expensive disease in dairy herds, since it causes millionaire losses in dairy production, as well as public health problems due to the residues of antibiotics used indiscriminately for its treatment and recovery. Therefore, the objective of the present study was to evaluate flavonoids (1500 mg) as an alternative treatment in subclinical mastitis grade 1, 2 and 3 in milking cows, their relation to the Somatic Cell Count - SCR, Colony Forming Units - aerobic mesophylls-UFC, culture and antibiogram. The study selected 21 cows, which were divided into 2 groups: group 1 corresponding to the livestock that were applied flavonoids to 1500 mg in the affected fourth (udder), and group 2 that corresponds to the control or control group. The sampling was very careful, aseptic and direct of each of the quarters of the mammary gland, before and after application of the flavonoids; are labeled by placing them in refrigeration (4 ° C) for transport to the Vetelab laboratory. For the analysis of the results were used the statistical analysis of student to detect the existence of significant differences between the means of a given quantitative variable in two groups of related data. Regarding the analysis of CCS and CFU these values are used as a measure of milk quality, low levels will determine a normal milk and high levels a milk of poor quality as a result of intramammary infection (clinical mastitis or subclinical grade I, II and III). Regarding the CCS in the pre-experiment, a count of 79,436,338 (CCSx100 / ml) and post application of the flavonoid of 148,270,840 (CCSx100 / ml) were determined. In the pre-experiment, counts of 14,716,630 CFU / ml and post-application of flavonoids of 2,015,728 CFU / ml were determined. Thus, in the weighted averages of CCS differences were found between the different grades of mastitis respectively. In addition, the bacterial species isolated were: *Staphylococcus* spp, *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella oxytoca* responsible for contagious mastitis. Thus, as of the bacteria responsible for environmental type mastitis that were isolated was: *E. coli* and *klebshella*. Flavonoid adverse effects at the level of the gland were not demonstrated and identified. It is concluded that the use of flavonoids in the different degrees of subclinical mastitis determines a positive correlation with regard to udder health, making it possible to use it in the treatment of this pathology.

**Key words:** Mastitis, Milk, Colonies of bacteria, Somatic cells, Flavonoids.



### 3.- INTRODUCCIÓN

La mastitis es una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero, así como también es una de las enfermedades más importantes que afecta mundialmente la industria lechera; puesto que ocasiona pérdidas económicas muy fuertes a todos los productores de leche en el mundo debido a la disminución en el rendimiento de leche y un aumento en el número de tratamientos clínicos, los mismos que provocan el desecho temprano de vacas, por lo que se ha reconocido, durante algún tiempo, como la enfermedad más costosa en los hatos lecheros, amplios estudios, realizados en los países productores de leche como son: Israel, Francia, Estados Unidos de América, entre otros, han mostrado que un 50% de los hatos lecheros poseen problemas de mastitis subclínica. (Bedolla P. , 2011)

En la actualidad la mastitis es una enfermedad muy común en las producciones lecheras, existiendo una gran resistencia bacteriana a los antibióticos aplicados para el control de esta afección, además de los efectos residuales que afectan a los consumidores de esta materia prima.

Esta patología a más de ocasionar problemas en la producción de leche; con porcentaje de merma en los promedios, tiene un impacto económico importante por la reducción de la eficiencia de la glándula mamaria y descarte de vacas problema con su producción y reducción de cuartos.

Por esta razón se propone utilizar una alternativa natural en el tratamiento de esta patología en la glándula mamaria, mediante aplicación de flavonoides en los cuartos afectados, con este tratamiento natural se evitara el uso de fármacos tradicionales, con esto lograremos que el organismo del bovino no genere resistencia ante los fármacos convencionales, y se obtenga resultados favorables, con este aporte se beneficiara a la población consumidora, además el productor también obtendrá un beneficio puesto que con un tratamiento adecuado ante un proceso de mastitis no será necesario el descarte del bovino problema.

#### **4.- OBJETIVOS:**

##### **General**

- ❖ Evaluar el efecto del flavonoide a una dosis de 1500mg en las mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 como tratamiento alternativo en la hacienda Pasochoa.

##### **Específicos**

- ❖ Determinar las Unidades Formadoras de Colonias, mediante el laboratorio para evidenciar la mastitis subclínica.
- ❖ Determinar las Recuento de Células Somáticas, mediante el laboratorio para evidenciar la mastitis subclínica.
- ❖ Realizar el análisis microbiológico de la leche mediante el cultivo y antibiograma.

#### **5.- FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA**

##### **5.1 Antecedentes.**

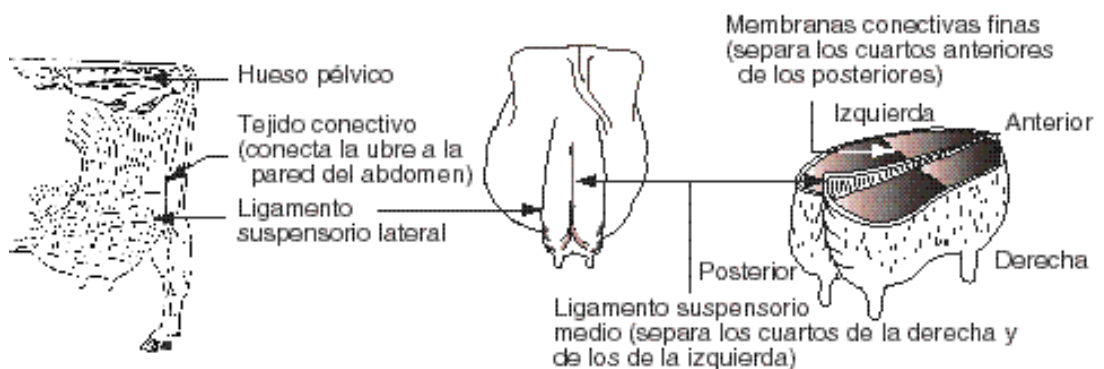
La utilización indiscriminada de fármacos para el tratamiento de mastitis subclínica en bovinos ha permitido buscar nuevas alternativas para combatir la misma. El Dr., Enrique Manuel Arguello Loaisiga, 2008 de la Universidad Nacional Agraria, a través de su tesis “Evaluación de la dosis efectiva de la Propolina en el tratamiento de la Mastitis bovina en la finca La Luna, en el municipio de Boaco, Departamento de Boaco”, realiza un estudio que contempla una investigación experimental en la cual probó 2 tratamientos; el primero con químico Mastix (oxitetraciclina 200mg) y el segundo con propolina (flavonoide). El tratamiento químico o testigo mostró como se esperaba mayor rapidez en su control que los tratamientos alternativos de propolina, sin embargo entre la tercera y cuarta semana, al tratamiento testigo se le observó un incremento en la frecuencia relativa de cuartos afectados, manteniéndose constante de la cuarta a la octava semana. Mientras que los tratamientos alternativos (propolina), siguieron disminuyendo la frecuencia relativa de cuartos infectados después de la tercera hasta la quinta semana, quedando sin mucha alteración hasta llegar a la octava semana en que concluyó el experimento.

La resistencia de fármacos es un problema frecuente para lo cual el Dr. Carlos Roberto Ordoñez de Paz de la Universidad de San Carlos de Guatemala, 2015 a través de su tesis “Evaluación del efecto antimicrobiano de la miel de abeja pura y dos concentraciones, administradas vía intramamaria, en ganado lechero con mastitis subclínica; en san José Pínula, Guatemala.” Mediante el estudio los resultados que se obtuvieron se deben a las propiedades antimicrobianas de la miel, entre las más importantes se destaca la acción del peróxido de hidrógeno cuando la miel es diluida, la cual es parte del sistema inmune de la abeja y es transmita hacia la miel, este péptido posee propiedades antimicrobianas contra 42 bacterias resistentes a los antibióticos como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *E. coli*.

## 5.2 La Ubre.

La ubre está compuesta de cuatro glándulas mamarias las cuales están íntimamente unidas, pero separadas por membranas específicas que dividen las glándulas anteriores de las posteriores; sin embargo, cada glándula contiene su propio conjunto de ductos que conducen a la leche hasta el seno lactífero glandular. Sólo en muy raras ocasiones se encuentran ubres que muestran una división notable entre las glándulas anteriores y posteriores. (Avila, 2010)

FIGURA N°1. Cuartos de la ubre



*Fuente: Juan Echeverry*

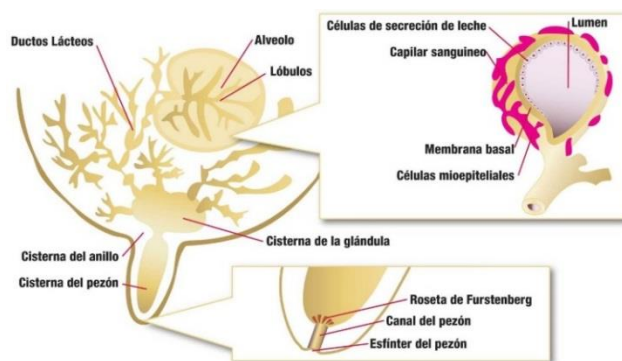
## 5.3 Anatomía de la Ubre.

La ubre representa un conjunto de cuatro glándulas de origen dérmico, considerada como una glándula sudorípara modificada y cubierta externamente por una piel suave al tacto, provista de vellos finos excepto en los pezones. Su apariencia es sacular redondeada, se encuentra fuera de la cavidad del cuerpo, adosándose a la pared abdominal por medio del aparato suspensorio. (Espadas, 2011)

La ubre de la vaca lechera consta de cuatro glándulas mamarias (cuarterones). Cada uno de estos cuatro complejos glandulares es completamente independiente, con su propia estructura secretora y se comunica con el exterior a través de su propio pezón. Los cuatro cuarterones están, a pesar de su independencia funcional, íntimamente ligados y reunidos bajo la piel de la ubre y situados en la región inguinal, contra la pared abdominal y la cara ventral del suelo de la pelvis, de la que se encuentra separada por una gruesa almohadilla de grasa. La ubre se encuentra suspendida de dichas estructuras por un sistema suspensor. (Ponce, 2011)

La producción y secreción de la leche corre a cargo de un conjunto de células especializadas que se agrupan en una unidad funcional llamada alveolo, cada grupo de alveolos forma un auténtico racimo o "acini" para formar un lobulillo y cada lobulillo posee de 150 a 220 alveolos y mide unos  $0,75 \text{ mm}^3$ , cada lobulillo aparece rodeado por una cápsula de tejido conjuntivo y un conjunto de lobulillos reunidos forman un lóbulo, que desemboca en un conducto mayor y aparece rodeado por una cápsula de tejido conjuntivo. (Álvarez, 2012)

FIGURA N°2: Anatomía de la ubre



*Fuente: María Hernández, 2010*

#### 5.4 Inervación.

Los receptores nerviosos en la superficie de la ubre son sensibles al contacto y a la temperatura. Durante la preparación de la ubre para el ordeño, estos receptores son estimulados y se inicia la "bajada de la leche", reflejo que permite la liberación de leche, las hormonas y el sistema nervioso se encuentran también involucrados en la regulación del flujo sanguíneo a la ubre. Por ejemplo, cuando una vaca se encuentra asustada o siente dolor físico, la acción de la adrenalina y del sistema nervioso reduce el flujo de sangre a la ubre, inhiben el reflejo de "bajada de la leche" y disminuyen la producción de leche (Echeverry, 2010).

### **5.5 Irrigación.**

El amplio lecho vascular venoso hace que la sangre circule muy lentamente, con retorno de la glándula a través de las venas pudenda externa, subcutánea abdominal o vena de la leche, y la basal caudal (Argudo, 2012).

### **5.6 Definición Leche.**

La leche se define como la secreción natural de las glándulas mamarias de los mamíferos destinada como alimento para sus crías (Avila, 2010)

### **5.7 Fisiología de la lactación.**

La fisiología de la lactación abarca el desarrollo de la glándula mamaria desde la etapa fetal hasta la edad adulta, el desarrollo futuro durante la preñez y el inicio de la lactancia con los consecuentes sucesos adaptativos metabólicos y de comportamiento. (Andrade, 2014)

El desarrollo de la glándula mamaria se inicia en el feto en todas las especies mamíferas. En el feto bovino, desde el ectodermo, las líneas mamarias son visibles desde el día 35. Alrededor del tercer mes los canales mamarios y se forman los conductos excretorios y luego se forman los alvéolos. (Wattiaux, 2006)

El sistema excretorio es completado al final del segundo trimestre de la vida fetal. Durante el primer estadio post-natal, el proceso de crecimiento es a una tasa igual que el resto del

cuerpo (crecimiento isométrico). Al comienzo del tercer mes la glándula mamaria comienza a crecer 2-4 veces más rápido que el resto del cuerpo hasta la pubertad (crecimiento alométrico). Previamente a la pubertad el tejido mamario es influenciado por factores de crecimiento y hormonas. A edad adulta el ciclo de la lactación puede dividirse en periodos consecutivos: mamogénesis, lactogénesis; galactopoiesis e involución. (Nieto, 2012)

### **5.8 Mamogénesis.**

Hormonas del metabolismo, factores de crecimiento y prolactina son necesarias para el normal desarrollo de la glándula mamaria con especial referencia a las hormonas sexuales esteroideas. A través de la gestación, la proliferación del epitelio mamario es dependiente de estrógenos y progesterona. Los receptores específicos para esas hormonas se expresan en niveles muy bajos durante la mamogénesis o lactogénesis. Las dos hormonas interactúan y se refuerzan sinérgicamente entre ambas. Asimismo, los estrógenos también estimulan la secreción de IGF-I (Factor crecimiento-insulina) a partir de las células del estroma de la glándula mamaria y causa el crecimiento de células epiteliales. La mamogénesis no ocurre en ausencia de prolactina y hormona de crecimiento. (Cheppi, 2007)

#### **5.8.1 Lactogénesis y galactopoiesis.**

La producción de leche es controlada por las hormonas lactogénicas Prolactina y Hormona de Crecimiento (HC) durante la lactogénesis y lactopoiesis. Prolactina y HC son esenciales para la transición de proliferativo a glándula mamaria lactando a través del dominio de HC sobre la prolactina durante la galactopoiesis en rumiantes a diferencia de humanos y cobayos. En el mantenimiento de la producción lechera o galactopoiesis la prolactina (PRL) en la vaca lechera reviste importancia. La acción de la prolactina es a través del epitelio mamario en forma directa o factores de transcripción, semejante a la HC que actúa en forma directa en la glándula o indirectamente con producción de IGF-I local o producida en el hígado. (Lizaur, 2011).

#### **5.8.2 Involución.**

Involución se refiere a la regresión gradual de la glándula mamaria después de cumplir su función durante la lactación fisiológica. El curso de eventos durante éste estadio es importante dado que tiene impacto sobre la futura lactancia. Igual que en otros periodos de la lactancia, está bajo control endocrino. Experimentos In vitro indican que la pérdida de células epiteliales por apoptosis está relacionado con la disminución de nivel de prolactina, Hormona de Crecimiento y IGF-I. Se sugiere que la HC normalmente estimula la síntesis de IGF-I y optimiza la acción de la prolactina por supresión de la acción de IGFBP-5 (IGF unida proteína), el cual es un inhibidor de la acción del IGF-1.

### **5.9. Mastitis Bovina**

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, que se caracteriza por una caída en la producción y para determinar los cambios químicos y físicos en la composición de la leche. Típicamente, los resultados de la acción de agentes infecciosos pueden estar involucrados en diferentes tipos de virus, hongos, micoplasmas y, especialmente, bacterias. Los principales microorganismos asociados a la mastitis bovina son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* sp. Coagulasa-negativo, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, enterobacterias y otras bacterias gramnegativas y levaduras. (Voigt, 2013)

Sin embargo vacas con mastitis subclínica no muestran ninguna señal obvia de la enfermedad, y a menudo presentan una disminución en la producción de leche, un conteo elevado de leucocitos y un aumento en el contenido de bacterias en la leche. (Fernández, 2012)

### **5.10 Mastitis Subclínica**

Se caracteriza por no presentar signos visibles de enfermedad, la leche es aparentemente normal pero existe una disminución en la producción de la misma y un aumento en el conteo de células somáticas. Esta presentación tiene mayor impacto en animales que tiene más de un ciclo de lactación que en animales jóvenes. Existe una relación negativa en cuanto al CCS y el rendimiento de la leche. La leche normal proveniente de cuartos sanos

generalmente contiene menos de 200 000 células somáticas/ml. Valores de células somáticas arriba de 300 000 es un indicador de la inflamación de la ubre. (Ruiz, 2010).

Una parte importante de las pérdidas asociadas a la mastitis podrían deberse a la forma subclínica de la enfermedad, debido a la reducción en la producción de la leche que tiende a persistir por un largo período de tiempo y al mayor número de animales afectados por unidad de producción. (Cuarto, 2015).

Basados en las características epidemiológicas de los patógenos bacterianos, éstos han sido divididos en dos grupos: contagiosos y ambientales. Los patógenos contagiosos son sub-categorizados en patógenos mayores y menores de acuerdo al grado de inflamación que producen en la glándula mamaria. (Pesantes, 2016).

En base a esta clasificación, los patógenos contagiosos mayores son: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus* y *Mycoplasma spp.*; mientras que *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) y *Corynebacterium bovis* son considerados patógenos contagiosos menores. Dentro de los patógenos ambientales se encuentran los bacilos Gram negativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*), *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Enterococcus spp* (Kutchynskaya, 2010).

Estos agentes patógenos son de difícil control con antibióticos, lo que favorece su permanencia en la ubre y, por lo tanto, facilita su transmisión durante el ordeño, contagiando a otras vacas del hato lechero. En consecuencia, cobran importancia las medidas preventivas, entre ellas el descarte de vacas con la enfermedad. Es de anotar que la mastitis subclínica tiene una mayor importancia económica que la forma clínica, pues es 25 a 40 veces más frecuente. (Agricultura, 2014).



## **5.11 Patógenos Causantes de la Mastitis Subclínica.**

### **a. Streptococcus agalactia**

Es un agente que comúnmente da cuadros de mastitis subclínica, o también clínica de leve a moderada. La infección subclínica va acompañada de un recuento de células somáticas elevado pero sin anomalías en la leche. En general, las vacas infectadas con *S. agalactiae* presentan más de un cuarto infectado. (Ayala C. , 2016)

Este tipo de mastitis es generalmente descrita como contagiosa. La infección se disemina desde las vacas infectadas a las sanas durante el ordeño a través de la máquina de ordeño, las manos del ordeñador, y los materiales que se utilizan para limpiar los pezones, como las toallas, si se utiliza la misma en más de una vaca. (Leal, 2014)

El *S. agalactiae* puede sobrevivir por poco tiempo en el ambiente, pero puede persistir indefinidamente dentro de la glándula mamaria. Las terneras y las vacas infectadas actúan como reservorio del mismo. El número de establecimientos infectados con *S. agalactiae* ha ido disminuyendo gracias a la implementación de modernos programas de control. Este microorganismo puede ser erradicado del establecimiento, no obstante, sigue siendo un problema de bioseguridad para aquellas fincas que compran ganado. (Ruegg, 2011)

### **b. Staphylococcus aureus**

La frecuencia de mastitis subclínica está relacionada con la alta tasa de infección por *S. aureus*, la infección tiende a producir cicatrices, que resultan en sacos de infección encerradas en la ubre que son difíciles de alcanzar por los antibióticos. Tales sacos pueden romperse y abrirse a otras partes de la glándula más tarde, situación que compromete la salud de la glándula mamaria, además de generar pérdidas económicas importantes y riesgos a la salud animal e inocuidad alimentaria de la leche. (Manjarrez, 2012).

El *Staphylococcus aureus* es el primer agente etiológico en la mayor parte del mundo está permanentemente en el medio ambiente de la vaca, este organismo no progresa en la piel de los pezones sanos, si existe lesión cerca de las puntas de los mismos penetra al interior

de la ubre, ocasionando la formación de un tejido cicatrizal. Este tejido impide que los medicamentos penetren en los lugares infectados, haciendo que el tratamiento en la lactancia sea a menudo ineficaz, llegando a ocasionar la muerte celular; sin embargo, no pueden sobrevivir grandes periodos en el medio ambiente. (Rivera, 2014).

### **c. Streptococcus uberis y Streptococcus dysgalactiae**

Estos organismos Las mastitis ambientales son producidas por *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*, que ocasionan mastitis leves y moderadas. Estos dos microorganismos se han aislado de las heces, de los genitales externos, de las ubres y de lesiones de la piel de los pezones de las vacas. Estos organismos son generalmente transferidos desde el medio ambiente al pezón entre los ordeños, pero algunas transferencias pueden tener lugar durante el ordeño. (Andrade, 2014).

Estos organismos no pueden ser eliminados del hato debido a que son parte normal del medio ambiente. El grado de infección de estas bacterias tiende a incrementarse cuando las condiciones favorecen su crecimiento, por ejemplo, durante los meses húmedos del año. El *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* son responsables también por la mayoría de las mastitis que se presentan ya sea al comienzo o al final del período de seca. Además de estas dos especies de bacterias, existen muchos otros estreptococos ambientales (*Strep. bovis*, *Strep fecalis*) que pueden causar mastitis. (Toapanta, 2014).

### **d. Bacterias coliformes**

Las bacterias coliformes son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Los coliformes pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. (Mosquera, 2015).

Los coliformes no se adhieren a los conductos y al alvéolo de la ubre, en lugar se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio, como resultado, las infecciones por coliformes conducen a mastitis clínicas agudas. (Aragadvay, 2015)

FIGURA N°3. Principales microorganismos causantes de la mastitis bovina

Frecuencia de la infección	Microorganismo	Fuente
Infección más común en la mayoría de los hatos lecheros	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Ubres de otras vacas
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Ubres infectadas, material fecal, ambiente del establo
	<i>Streptococcus uberis</i>	
	<i>Enterococci</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ubres infectadas y manos de operarios
Problemas esporádicos y problemas ocasionales en el hato	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Citrobacter sp.</i> , <i>Klebsiella sp.</i>	Material fecal y agua contaminada

Fuente: (Uribe, 2014)

## 5.12 Métodos Diagnósticos para la Detección de Mastitis Subclínica.

### a. California Mastitis Test CMT

El California Mastitis Test (CMT) fue desarrollado como método de terreno para determinar en forma rápida la presencia de mastitis subclínica en cada uno de los cuartos de la vaca lechera. Siendo una prueba de bajo costo y fácil de aplicar, no permite, sin embargo, conocer en cuánto se afecta la producción y composición de la leche (Mansilla, 2010).

### b. Funcionamiento de la CMT

El reactivo del CMT es un detergente que reacciona con el material nuclear de las células somáticas formando un gel. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación del gel, traduciéndose la interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación. Es decir, permite determinar la respuesta inflamatoria con base en la viscosidad del gel que se forma al mezclar el reactivo (Alquilauril sulfonato de sodio) con la leche, permitiendo evaluar cada cuarto independientemente. (Ayala L. , 2016).

Una vez que la vaca está lista para ser ordeñada con pezones limpios y secos, se los 3 ó 4 primeros chorros de leche de cada pezón en los compartimentos de la bandeja apropiada. Se inclina la bandeja en un ángulo de 60° para igualar la cantidad de leche en cada uno

(deben quedar entre 2 y 4ml de leche). Se agrega una cantidad igual de reactivo y se inicia un proceso suave de agitación por rotación durante 15 a 20 segundos. Se lee e interpreta la prueba de inmediato (Cuzco, 2015).

FIGURA N°4 Interpretación de resultados en la prueba de "CMT"

SCORE	DESCRIPCION DE LA REACCION	INTERPRETACION (RCC/ML)
<b>N (Negativo)</b>	La mezcla permanece en estado líquido y homogéneo. Puede gotear de la paleta.	0-200.000
<b>T (Trazas)</b>	Hay algo de engrosamiento. La reacción es reversible y la viscosidad observada por primera vez tiende a desaparecer.	200.000-400.000
<b>1 (Ligeramente Positivo)</b>	La mezcla espesa, pero no hay formación de gel en el medio de la paleta y la viscosidad observada tiende a persistir. La mezcla cae poco a poco.	400.000-1.500.000
<b>2 (Positivo)</b>	Gel se formará en el centro de la paleta durante el movimiento giratorio. El gel se acumula en la parte inferior de la paleta cuando el movimiento giratorio se interrumpe. Cuando se vierte la mezcla la masa gelatinosa cae y puede dejar un poco de líquido en el pocillo.	1.500.000-5.000.000
<b>3 (Muy Positivo)</b>	Gel se formará en el centro de la paleta y se pega en el fondo del pocillo, pero no a un lado. Cuando se vierte la mezcla, se cae sin dejar líquido detrás.	>5.000.000

Fuente:(Hoyos, 2016)

### c. Recuento de Células Somáticas

El RCS es la medición más ampliamente utilizada para supervisar el estado inflamatorio de las glándulas mamarias; puede ser realizada en la leche de; a) cuartos individuales, b) vacas individuales, c) el hato completo y d) un grupo de hatos. La infección intramamaria es el principal factor causante de cambios en el CCS en la leche. Cuando los microorganismos causantes de mastitis invaden un cuarto de la ubre y empiezan a multiplicarse o cuando el número de estos aumenta significativamente en un cuarto

infectado, el organismo de la vaca tiene que reclutar leucocitos para combatir a dichos microorganismos causantes de la mastitis (Bedolla J. , 2010).

El RCS normal en leche es general bajo 200.000 por ml pero puede ser inferior a 100.000 en vacas de primera lactancia o en rebaños bien manejados. Un RCS sobre 250.000 – 300.000 debe considerarse como anormal y generalmente es un indicador de infección bacteriana causante de inflamación mamaria. (Butendieck, 2010).

#### **d. Pruebas Bacteriológicas**

Los cultivos en el laboratorio son necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico. El objetivo del análisis microbiológico es hacer el aislamiento y caracterización de los microorganismos causantes de la mastitis del hato que permita su agrupación, todas las bacterias causantes de mastitis se multiplican bien en Agar Sangre convirtiéndose en el medio básico para el proceso de aislamiento del agente etiológico. Con el fin de aumentar las posibilidades de éxito del aislamiento y aprovechando las propiedades de la leche como medio de cultivo, las muestras pueden ser pre-incubadas a 37°C durante 6 a 8 horas y posteriormente sembrar en Agar Sangre. Cuando se toma esta alternativa se debe estar seguro que la muestra ha sido tomada en condiciones asépticas, de lo contrario microorganismos contaminantes van a enmascarar el diagnóstico. (Mangandi, 2010)

#### **5.13 Flavonoide.**

Flavo proviene del latín flavus y significa de color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el del oro; y flavonoide, se refiere a un grupo aromático, pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas, siendo que al consumirlos obtengamos de ellos propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. (Duarte, 2015).

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías. (Martinez, 2010).

#### **5.13.1 Importancia del Flavonoide en la Glándula Mamaria.**

Todo un complejo de sustancias, enzimas antioxidantes, lactoferrina, vitaminas antioxidantes (como la E y la C), polifenoles (flavonoides) y carotenos, juegan un papel importante en la conservación de la leche, y la disminución o prevención de los efectos de la mastitis a través de la complementación de antioxidantes, comporta un aumento de la eficacia de los neutrófilos, los cuales pueden matar un mayor número de bacterias, generando menos residuos en forma de radicales libres y mayor presencia de antioxidantes mejora la eficacia de las enzimas antioxidantes, disminuyendo así la necesidad de las células inmunitarias, reduciendo la presencia de radicales libres en el medio y el daño que éstos pueden generar en las células del epitelio glandular, el resultado se reduce el número de células somáticas presentes en la leche, tanto pertenecientes al sistema inmunitario como a la estructura mamaria. (Barberán, 2012)

#### **5.13.2 Distribución**

Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores, siendo las rutáceas, poligonáceas, compuestas y umbelíferas las principales familias que los contienen. Abundan, sobre todo, en las partes aéreas jóvenes y más expuestas al sol, como hojas, frutos y flores, ya que la luz solar favorece su síntesis, los flavonoides son responsables de la coloración de muchas flores, frutos y hojas, intervienen en la polinización atrayendo a los insectos, tienen efecto antirradicalar, etc. (Escamilla, 2010).

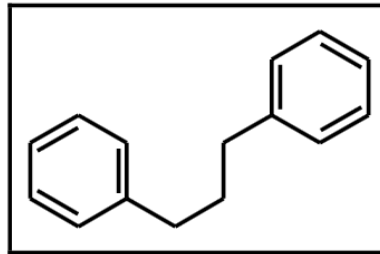
#### **5.13.3 Estructura Química**

El primer flavonoide sintetizado por la "vía biosintética de los flavonoides" es una chalcona, cuyo esqueleto es un anillo bencénico unido a una cadena propánica que está

unida a su vez a otro anillo bencénico. En la mayoría de los flavonoides, la cadena de reacciones continúa, por lo que la cadena carbonada que une los anillos aromáticos se cicla por acción de una enzima isomerasa, creando una flavanona. (Duarte, 2015)

Para los químicos los flavonoides tienen una estructura química muy definida. Puede observarse que de manera general son moléculas que tienen dos anillos bencénicos (ó aromáticos, para los químicos orgánicos) unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, los autores los denominan simplemente como compuestos C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>. (Cartaya, 2011)

FIGURA N°5: Estructura base de los flavonoides



*Fuente*(Martinez, 2010)

#### 5.13.4 Propiedades

Los flavonoides son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento. Sus heterósidos son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares. Sin embargo, cuando están en estado libre, son poco solubles en agua, pero son solubles en disolventes orgánicos más o menos oxigenados, dependiendo de su polaridad. Por otro lado, son sustancias fácilmente oxidables y, por tanto, tienen efecto antioxidante, ya que se oxidan más rápidamente que otro tipo de sustancias. (Lopez, 2016)

#### 5.13.5 Clasificación de los Flavonoides.

De acuerdo con la nomenclatura de la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada), se pueden clasificar en:

- a) **Flavonoides**, derivados de la estructura 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona) como la quercetina, rutina.
- b) **Isoflavonoides**, derivados de la estructura 3-fenilcromen-4-ona (3-fenil-1,4-benzopirona).
- c) **Neoflavonoides**, derivados de la estructura 4-fenilcumarina (4-fenil-1,2-benzopirona) (Gonzales, 2010).

Existen muchas variedades de flavonoides, se distinguen en subcategorías, con muchos enlaces individuales diferentes. Estos enlaces difieren en la cantidad y el orden de los grupos hidroxilos, igual como en la forma que está ‘ocupados’ y la estructura tridimensional. (Soto, 2015)

- d) **Flavonas**. En la fruta y las verduras hay mucho menos variedad de flavonas que de flavonoles. Casi siempre las flavonas consisten en glucósidos de la luteolina y apigenina. Las únicas fuentes comestibles importantes de las flavonas que se conocen son el perejil y el apio. (Estrada, 2012)
- e) **Flavonoles**. Los flavonoles, sobre todo quercetina pero también el camferol, la miricetina, fisetina, isorhamnetina, el pachipodol y la ramnacina son muy comunes en el reino vegetal. El grupo de azúcar asociado suele ser glucosa o ramnosa, pero otros azúcares también pueden jugar un papel (por ejemplo la galactosa, arabinosa, xilosa y el ácido glucurónico). Las representantes más importantes de este grupo son la quercetina y el camferol. (Alarcon, 2012)
- f) **Isoflavonas**. La estructura de las isoflavonas tiene mucha semejanza con los estrógenos, y por lo tanto también se llaman hormonas vegetales o fitoestrógenos. Aunque no son esteroides, tienen los grupos de hidroxilo en la posición 7 y 4, una configuración análoga al grupo hidroxilo de la molécula del estradiol. De esta manera tiene la capacidad de ligarse con los receptores del estrógeno. Las isoflavonas se encuentran exclusivamente en legumbres y sobre todo en la soja. Las tres isoflavonas más relevantes son la genisteína, daidzeína y gliciteína. Hay isoflavonas agliconas o glucósidos, dependiendo de la preparación de la soja. Los científicos aún no tienen claro cuál de las dos formas tiene mejor disponibilidad biológica. (Estrada, 2012).
- g) **Flavanonas**. El grupo de flavanonas es un grupo de flavonoides relativamente pequeño que se encuentra exclusivamente en altas concentraciones en los cítricos. Allí tienen la forma glicolidsada, como por ejemplo la hesperidina de la naranja (glucósido de la hesperitina), narangenina del pomelo (glucósido de la naringina),



eriodictiol del limón (glucósido de eriocitrina). El tomate puede contener una pequeña cantidad de flavanonas, igual que algunas plantas aromáticas como la menta. En los complementos nutritivos este grupo de flavonoides está representado como bioflavonoides cítricos. (Soto, 2015)

### 5.13.6 Actividades de los Flavonoides

- a) **Actividad Antioxidante.** Existe un consenso de que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL). Otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO); evitando la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) in vivo, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2 (FLA2),<sup>12</sup> al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD). De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de RL y en la formación del radical en sí (Pérez, 2011).
- b) **Protección de las Capilares, Función Anticoagulante (anti hemorragia):** Muchos flavonoides tienen propiedades que fortalecen las paredes de los vasos sanguíneos. Por esto uno de los síntomas característicos de deficiencia de flavonoides es la sensibilidad para hemorragias. (Cevallos, 2015)
- c) **Influencia sobre el crecimiento y la proliferación celular:** El crecimiento y la proliferación celular está regulado por los factores de crecimiento, en el momento en que el factor de crecimiento se une al receptor de la membrana celular, inicia una serie de acontecimientos intracelulares, varias investigaciones in Vitro han comprobado que los flavonoides ejercen su influencia sobre el crecimiento y la proliferación celular, por la inhibición o el bloqueo completo de la fosforilación. (Lozano, 2012).
- d) **Función Antibacteriana y Antiviral:** En algunos casos, los flavonoides pueden funcionar directos como antibiótico, trastornando la función de los microorganismos como las bacterias y virus, actúan junto con la vitamina C, y viceversa, de modo que cada nutriente mejora las propiedades antioxidantes de la otra ayudan a estimular el

sistema inmunológico, prevenir el daño celular oxidativo, pueden ayudar a aliviar la inflamación en el cuerpo. (ÁLVAREZ, 2016)

## **6.- VALIDACIÓN DE LAS HIPOTESIS:**

### **6.1 Hipótesis alternativa**

H1: Mediante la aplicación de los Flavonoides - diosmina® a 1500 mg se elimina la mastitis subclínica en sus diferentes grados I, II y III.

### **6.2 Hipótesis Nula**

HO: Mediante la aplicación de los Flavonoides - diosmina® a 1500 mg no se elimina la mastitis subclínica en sus diferentes grados I, II y III.

## **7.-MATERIALES Y MÉTODOS:**

### **7.1 Recursos**

#### **7.1.1 Recursos Humanos.**

- ❖ Rocío Carrera
- ❖ Transporte
- ❖ Alimentación
- ❖ Laboratorio (equipo para análisis de leche- cultivo bacteriano)

#### **7.1.2 Materiales de Oficina.**

- ❖ Computadora
- ❖ Bolígrafo
- ❖ Libreta de apuntes
- ❖ Internet
- ❖ Memoria USB

- ❖ Papelería y materiales
- ❖ Cámara

### **7.1.3 Materiales para el Experimento**

- ❖ 1 caja de jeringuillas desechables.
- ❖ 60 frascos plásticos para la toma de muestras.
- ❖ 1 Litro de alcohol al 70%.
- ❖ 1 caja de guantes de látex.
- ❖ 1 funda de gasas estériles.
- ❖ Equipo para análisis de leche- cultivo bacteriano.

### **7.1.4 Material Biológico**

- ❖ Muestras de leche
- ❖ Flavonoide - diosmina®

## **7.2 Tipo de Investigación**

### **7.2.1 Investigación Experimental**

La investigación experimental consiste en la manipulación de una variable experimental no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento en particular (W. Meyer, 2012).

La presente investigación es de tipo experimental, por cuanto se estableció como variable independiente (flavonoides), para determinar el efecto sobre las variables dependientes (células somáticas y unidades formadoras de colonias –UFC).

## **7.3 Método y Técnica:**

### **7.3.1 Método**

### 7.3.1.1 Método Inductivo

La inducción va de lo particular a lo general, empleamos el método inductivo cuando la observación de los hechos particulares obtenemos proposiciones generales, o sea, es aquél que establece un principio general una vez realizado el estudio y análisis de hechos y fenómenos en particular (Castañón, 2010)

Se evaluó el efecto de los flavonoides sobre las bacterias aisladas respecto a la mastitis subclínica en sus diferentes grados.

### 7.3.2 Técnica.

#### 7.3.2.1 Observación.

Es una técnica que consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su posterior análisis. La observación es un elemento fundamental de todo proceso investigativo; en ella se apoya el investigador para obtener el mayor número de datos (Ferrer, 2010).

Con esta técnica se logró recopilar los resultados de la investigación realizada verificando la acción ejercida de los flavonoides a nivel de la glándula mamaria y mediante los resultados de laboratorio.

**CUADRO 1. Técnicas e Instrumentos**

No.	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
1	Técnica de Observación	Observación directa.
2	Técnica de fichaje	Ficha de campo.

*Fuente: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío (2016)*

### 7.4 Variables:

**CUADRO 2. Variables e Indicadores.**

Variable independiente	Variable dependiente	Indicadores
Flavonoide	1. Unidades Formadoras de Colonias. 2. Recuento de Células Somáticas. 3. Bacterias. 4. Antibiograma.	1. Medidos en millones. 2. Medidos en millones. 3. Tipo de bacterias. 4. Tipo de antibiótico.

*Fuente: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío (2016)*

### 7.5 Diseño Experimental

Se utilizara T de STUDENT

Se utiliza para determinar si hay una diferencia significativa entre las medias de dos grupos, es decir que se utiliza cuando deseamos comparar dos medias. Entonces cuando se realice el cálculo tendremos un margen que nos permitirá verificar si la hipótesis nula es o no verdadera es decir si el tratamiento dio o no resultados positivos.

## 8. PROCEDIMIENTO

### 8.1 Características del lugar de ejecución del proyecto

- Provincia: Pichincha
- Cantón: Mejía
- Parroquia: Tambillo
- Sector: El Murco
- Longitud: -0.427387metros
- Latitud: -78.535642 S
- Temperatura media anual: 12.5 °C
- Altitud:
  - \* 2450,04 msnm. (Parte baja)
  - \* 2757,59 msnm. (Parte intermedia)
  - \* 3200,39 msnm. (Parte alta)

Fuente: Departamento de Turismo del Cantón Mejía (INAMHI)

### 8.2 Tratamiento

Para el presente ensayo se utilizó 21 cuartos de vacas raza Holstein, los cuales fueron divididos en:

**Grupo 1:** Correspondiente al grupo experimental de 15 cuartos de vacas al que se le aplicó el flavonoide - diosmina® intramamario en una dosis de 1500 mg. post identificación de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3.

**Grupo 2:** Correspondiente al grupo de 6 cuartos de vacas las cuales tuvieron el mismo manejo, misma alimentación, la diferencia es que este grupo de animales no recibieron el flavonoide® intramamario.

### **8.3 Unidades experimentales**

En la investigación se utilizaron 21 cuartos de vacas de raza holstein, en periodo de lactancia, diagnosticadas con mastitis subclínica.

### **8.4 Desarrollo de las actividades**

#### **8.4.1 Diagnóstico de mastitis subclínica de todo el hato de producción láctea**

Se inició realizando la prueba de Californian mastitis test (CMT) a todas las vacas en producción láctea para diagnosticar la mastitis subclínica y sus diferentes grados I, II, III.

#### **8.4.2 Selección de los 21 cuartos para la investigación**

Luego de haber realizado el test CMT a todo el hato, se seleccionaron 21 cuartos, los mismos que resultaron diagnosticados con mastitis subclínica en diferentes grados, luego se procedió a continuar con los exámenes de laboratorio estipulados en la investigación.

#### **8.4.3 Toma de muestras**

Las muestras fueron tomadas de manera aséptica, cuidadosa y directa de cada uno de los cuartos afectados de la glándula mamaria, se eliminaron los tres primeros chorros de leche, luego se humedeció el pezón con pre-sellado; seguidamente se limpió con toallas

de papel desechable y para evitar posibles contaminaciones se froto el pezón con una gasa estéril utilizando alcohol al 10% luego se recolecto 60 ml de leche del cuarto seleccionado para el estudio. Se procedió a etiquetar y colocar en el cooler a una temperatura de (4°C). Las muestras fueron tomadas por tres ocasiones, una antes de la aplicación del flavonoide, otra muestra fue tomada 12 horas post aplicación del flavonoide, y la última muestra se la tomo 48 horas post aplicación del flavonoide.

#### **8.4.4 Envío de muestras al laboratorio**

Las muestras se refrigeraron a 4°C para ser trasladadas al laboratorio Vetelab ubicado en Machachi, y los análisis solicitados fueron de Unidades Formadoras de Colonias, Recuento de Células Somáticas, Cultivo y Antibiograma.

#### **8.4.5 Administración de flavonoides - diosmina®**

El flavonoide diosmina® que se utilizóes un extracto de cítricos, el mismo que para su aplicación fue diluido en 10 ml de agua bidestilada inyectable, obteniendo una concentración de final de 1500 mg para cada aplicación, esta dosis se empleó directamente al cuarto afectado como dosis única.

### **9.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

En el siguiente apartado se detallan los resultados obtenidos en la fase de experimentación ante la aplicación del flavonoide-diosmina®, conteo de células somáticas, cultivo y antibiograma. Así como las conclusiones y recomendaciones.

#### **Cuadro N° 3. Recuento de células somáticas (CCSx1000/ml) pre-aplicación y post-aplicación del flavonoides-diosmina®.**

<b>Grados de mastitis</b>	<b>Nombre</b>	<b>Cuarto afectado</b>	<b>Pre-aplicación del flavonoide.</b>	<b>Post-aplicación del flavonoide®.</b>	<b>48 horas Post-aplicación del flavonoide®.</b>

<b>GRADO I</b>	Ramona	Anterior Izquierdo	1.186.700	99.715.600	8.066.700
	Primor	Posterior Derecho	21.502.200	36.506.700	14.586.700
	Primor	Anterior Izquierdo	15.413.300	39.102.200	32.417.800
	Novilla	Anterior Derecho	70.670.000	36.951.100	8.084.400
<b>GRADO II</b>	Melinda	Anterior Derecho	26.675.600	136.036.400	90.328.900
	Ramona	Posterior Izquierdo	1.182.200	29.386.700	6.444.400
	Chiquita	Anterior Izquierdo	7.053.300	56.622.200	10.284.400
<b>GRADO III</b>	Griega	Posterior Izquierdo	250.000	0	-
	Susy	Anterior Derecho	300.000	500.000	-
	Silvia	Anterior Izquierdo	250.000	300.000	-
	Julieta	Anterior Derecho	250.000	250.000	-
	Labradora	Anterior Derecho	250.000	0	-
	Guayaba	Posterior Izquierdo	500.000	3.000	-
	Sargenta	Anterior Izquierdo	750.000	750.000	-
	Gema	Posterior Derecho	200.000	250.000	-
<b>TESTIGA</b>	Paulina	Posterior Derecho	128.888.900	293.333.300	111.100
<b>GRADO I</b>	Dulce María	Anterior Derecho	1.271.100	666.700	426.700
<b>TESTIGA</b>	Selena	Anterior Derecho	1.515.600	1.600.000	1.666.700
<b>GRADO II</b>	Corazón	Anterior Izquierdo	14.373.300	8.697.800	4.195.600
<b>TESTIGA</b>	Verónica	Anterior Izquierdo	49.608.900	92.426.700	33.600.000
<b>GRADO III</b>	Manzana	Anterior Derecho	40.293.300	45.093.300	11.155.600

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el cuadro N° 3, se observa el Recuento de Células Somáticas (RCS) de las muestras obtenidas de los diferentes cuartos de la glándula mamaria, pre y post-aplicación de los flavonoides. Esto demuestra que en los grupos experimentales y grupos testigos existen desniveles en los rangos de RCS, que determinan cuadros de mastitis subclínica de grado I, II y III. Así, se establece que las células somáticas (CS) están constituidas por una asociación de leucocitos y células epiteliales. Los leucocitos se introducen en la leche en respuesta a la inflamación que puede aparecer debido a una enfermedad o, a veces, a una lesión. Además, las células epiteliales se desprenden del revestimiento del tejido de la ubre (Blowey y Edmondson, 1995). También, se denomina a las células de la leche, a aquellas células propias del cuerpo (somáticas) en la leche; estas provienen de la sangre y del tejido de la glándula mamaria. Por lo tanto, el contenido de células somáticas en la leche nos permite conocer datos claves sobre la función y el estado de salud de la glándula mamaria lactante, ya que debido a su cercana relación con la composición de la leche, este se considera como un criterio muy importante de calidad de leche e inmunidad de la ubre (Wolter y Kloppert, 2004)



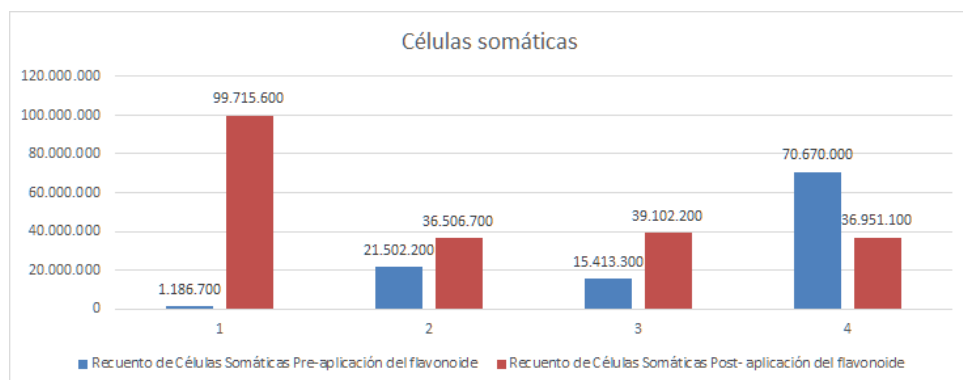
**Tabla N° 1. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas Pre-aplicación del flavonoide®	Recuento de Células Somáticas Post-aplicación del flavonoide®
1	Ramona	Anterior Izquierdo	1.186.700	99.715.600
2	Primor	Posterior Derecho	21.502.200	36.506.700
3	Primor	Anterior Izquierdo	15.413.300	39.102.200
4	Novilla	Anterior Derecho	70.670.000	36.951.100
		<b>PROMEDIO</b>	<b>2.719.305</b>	<b>530.689</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 1, se presenta el análisis y los promedios generales de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado I. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre el “RCS-pre-flavonoide®y post-flavonoide®” respecto a sus rangos y promedios, se puede observar que en la post-aplicación existe una elevación en el Recuento de Células Somáticas.Sin embargo, estas diferencias determinan que existe variación del RCS respecto a los valores obtenidos en la pre-aplicación y post-aplicación. Por lo tanto, se considera que los flavonoides® generan un efecto a las 12 horas post-aplicación sobre el cuadro de mastitis subclínica, y que la respuesta inmunológica de la glándula mamaria se ve mediada en diferentes grados establecida por los promedios obtenidos.

**Grafico N° 1. Total de células somáticas del grado I pre y 12 horas post-Aplicación del flavonoide®.**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 1, se observa que entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide® existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubre) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide® el número 4 (70.670.000 CCS) presenta el mayor número de células somáticas, seguido por el 2 (21.502.200 CCS), 3 (15.413.300 CCS) y el 4 (1.186.700 CCS); en relación a la post-aplicación el número 4 (36.951.100) se considera que es el que mejor respuesta presentó respecto a los valores 1,2 y 3, en cuanto a la mastitis subclínica grado I.

**Tabla N° 2. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I pre y 12 horas post-Aplicación del flavonoide - disomina®.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas  
(CCS/1000) Pre y post aplicación del flavonoide.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	27193050	53068900
Varianza	9,12575E+14	9,68358E+14
Observaciones	4	4
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,586877151	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	-0,947330914	
P(T<=t) una cola	0,206679532	
Valor crítico de t (una cola)	2,353363435	
P(T<=t) dos colas	0,413359064	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182446305	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 2, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) entre los tratamientos respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0.4133) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Sin embargo en el presente estudio se considera que el efecto de los flavonoides es directamente proporcional al RCS/ml, y este es generado por acción de los flavonoides, y es comparable con lo reportado por, (Philpot, 2001; Bedolla, 2004b), en el que utilizó orégano al 50 % en infusión intramamaria para mastitis subclínica en donde las células somáticas fueron de 559,000 CS/ml post-aplicación, por lo tanto en el presente estudio mantienen rangos referenciales establecidos por (Vetelab, 2017), para leche cruda en donde el RCS debe ser menor a 700.000 células / ml.

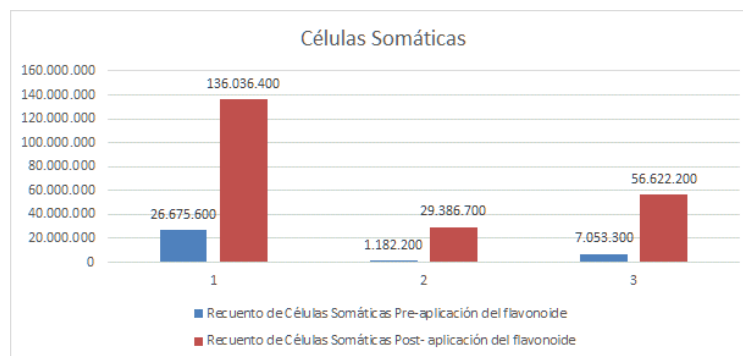
**Tabla N° 3. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado II pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas Pre-aplicación del flavonoide	Recuento de Células Somáticas Post-aplicación del flavonoide
1	Melinda	Anterior Derecho	26.675.600	136.036.400
2	Ramona	Posterior Izquierdo	1.182.200	29.386.700
3	Chiquita	Anterior Izquierdo	7.053.300	56.622.200
		<b>PROMEDIO</b>	<b>11.637.033</b>	<b>740.151</b>

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 3, se presenta el análisis y los promedios generales de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden a mastitis subclínica grado II. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre la pre-aplicación y la post-aplicación del flavonoide® respecto a sus rangos. Sin embargo, estas diferencias determinan que existe variación del RCS respecto a los valores obtenidos en la pre-aplicación y post-aplicación. Por lo tanto, se considera que los flavonoides generan un efecto a las 12 horas post-aplicación sobre el cuadro de mastitis subclínica, y que la respuesta inmunológica de la glándula mamaria se ve mediada en diferentes grados establecida por los promedios obtenidos.

**Gráfico N° 2. Total de células somáticas del grado II pre y 12 horas post Aplicación del flavonoide- diosmina®.**



*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 2, se observa que entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubre) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide® el numero 1 (26.675.600 CCS) presenta el mayor número de células somáticas, seguido por el 3 (7.053.300 CCS), y el 2 (1.182.200 CCS); en relación a la post-aplicación se observa que la cantidad de CCS eleva su concentración considerablemente en lugar de reducir su concentración.

**Tabla N° 4. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II pre y 12 horas post- Aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) Pre y post aplicación del flavonoide.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	11637033,33	74015100
Varianza	1,78236E+14	3,07042E+15
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	0,999646073	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-2,568323879	
P(T<=t) una cola	0,062009867	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,124019734	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 4, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide® respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,1240) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Los resultados obtenidos en el presente estudio varían levemente y son comparativos a (Barreno, 1999) en donde utilizo Cefaspor en una concentración baja, las células somáticas fueron de 350.000C/ml antes de la aplicación, y de 300.000 CS/ml después de la aplicación. Demostrando que los flavonoides por su acción antibacteriana al igual que los fármacos convencionales ayudan reduciendo la CS/ml en el presente estudio mantienen rangos referenciales establecidos por (Vetelab, 2017), para leche cruda en donde el RCS debe ser menor a 700.000 células / ml admitido según norma NTE INEN 9:2012, Quinta Revisión 2012-01.

**Tabla 5. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

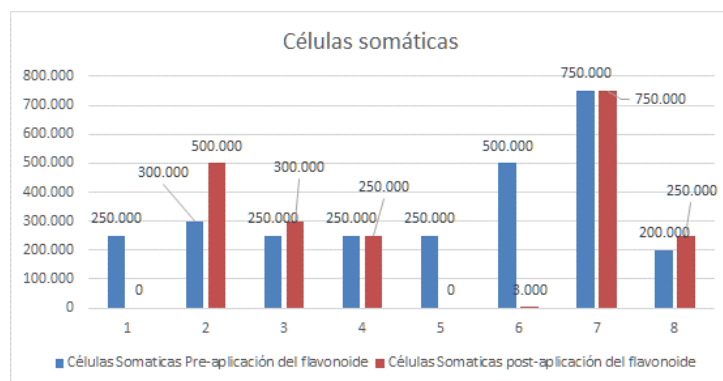
Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas Pre-aplicación del flavonoide	Recuento de Células Somáticas Post-aplicación del flavonoide
1	Griega	Posterior Izquierdo	250.000	0
2	Susy	Anterior Derecho	300.000	500.000
3	Silvia	Anterior Izquierdo	250.000	300.000
4	Julieta	Anterior Derecho	250.000	250.000
5	Labradora	Anterior Derecho	250.000	0
6	Guayaba	Posterior Izquierdo	500.000	3.000
7	Sargenta	Anterior Izquierdo	750.000	750.000
8	Gema	Posterior Derecho	200.000	250.000
		<b>PROMEDIO</b>	<b>343.750</b>	<b>256.625</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 5, se presenta el análisis y los promedios generales de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden a mastitis subclínica grado III. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre la pre-aplicación y la post-aplicación del flavonoide® respecto a sus rangos. Sin embargo, estas diferencias determinan que existe variación del RCS respecto a los valores obtenidos en la pre-aplicación y post-aplicación. Por lo tanto, se considera que los flavonoides® generan un efecto a las 12 horas post-aplicación sobre el cuadro de mastitis subclínica, y que la respuesta inmunológica de la glándula mamaria se ve mediada en diferentes grados establecida por los promedios obtenidos.

**Grafico N° 3. Total de células somáticas del grado III pre y 12 horas post Aplicación del flavonoide-diosmina®.**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 3, se observa que entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando rangos entre los diferentes números experimentales, estableciendo que en la pre-aplicación del flavonoide® el número 7 (750.000 CCS) presenta el mayor número de células somáticas, seguido por el 6 (500.000 CCS), 2 (300.000 CCS), 1,3,4,5 (250.000 CCS) y el 8 (200.000 CCS) y en la post-aplicación los números 1,5 (250.000 CCS) y 6 (3.000 CCS) se considera que son los que mejor respuesta determinaron respecto a los números 2,3,4,7 y 8 en cuanto a la mastitis subclínica grado III.

**Tabla N°6 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) Pre y 12 horas post aplicación del flavonoide-diosmina®, grado III.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) Pre y post aplicación del flavonoide.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	343750	256625
Varianza	3,5313E+10	71522553571
Observaciones	8	8
Coefficiente de correlación de Pearson	0,55652838	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	1,09229345	
P(T<=t) una cola	0,15543255	
Valor crítico de t (una cola)	1,89457861	
P(T<=t) dos colas	0,31086511	
Valor crítico de t (dos colas)	2,36462425	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 6, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide® respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,1240) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Sin embargo se determina que el efecto de los flavonoides sobre la mastitis subclínica grado III, si actúa reduciendo el RCS, superando lo reportados por Lozada, et al 2009, en que utilizo de miel al 10 % y 30 % en forma intramamaria. Puesto que (Vetelab, 2017), para leche cruda establece un RCS menor a 700.000 células / ml por lo que se considera que los flavonoides por su acción antibacteriana, de estimulación del drenaje linfático, antioxidante y de atrapar los radicales libres generados en el cuarto afectado ayudan reduciendo la CS/ml

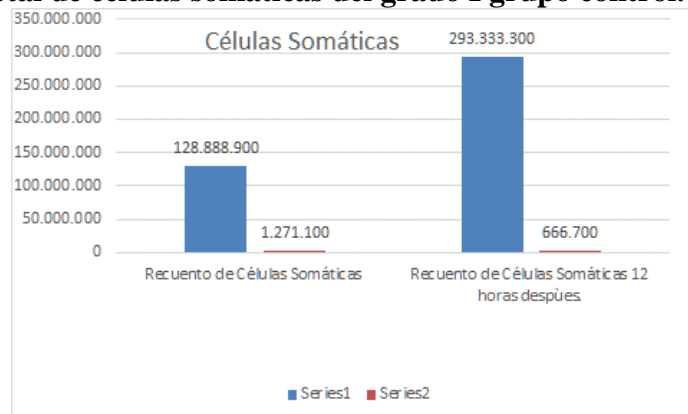
**Tabla N° 7. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I grupo control.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas	Recuento de Células Somáticas 12 horas después.
1	Paulina	Posterior Derecho	128.888.900	293.333.300
2	Dulce María	Anterior Derecho	1.271.100	666.700
		<b>PROMEDIO</b>	65.080.000	147.000.000

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 7, se presenta el análisis de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden al grado I del grupo control de mastitis subclínica. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre la toma de muestras a las 0 y 12 horas.

**Grafico N°4. Total de células somáticas del grado I grupo control.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 4, se observa que existen diferencias significativas en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando diferentes rangos en los resultados. En la tabla se observa que el grupo control muestran grandes variaciones, puesto que sin la aplicación del flavonoide las células somáticas disminuyen su concentración notablemente a las 12 horas respecto a las 0 horas de la toma de muestra.

**Tabla N° 8 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) grupo control grado I.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) grupo control  
Grado I

	Variable 1	Variable 2
Media	65080000	147000000
Varianza	8,14315E+15	4,28269E+16
Observaciones	2	2

Coefficiente de correlación de Pearson	1
Diferencia hipotética de las medias	0
Grados de libertad	1
Estadístico t	-0,992676105
P(T<=t) una cola	0,251169913
Valor crítico de t (una cola)	6,313751515
P(T<=t) dos colas	0,502339826
Valor crítico de t (dos colas)	12,70620474

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 8, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre el grupo testigo respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,5023) es mayor que el nivel de significancia (0,05). La importancia biológica de las células somáticas estriba en la intervención en la defensa contra infecciones de la ubre, sin embargo la cantidad de CS/ml suben para actuar fisiológicamente. (Gonzales, 2008)

**Tabla 9. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica II grado grupo testigo.**

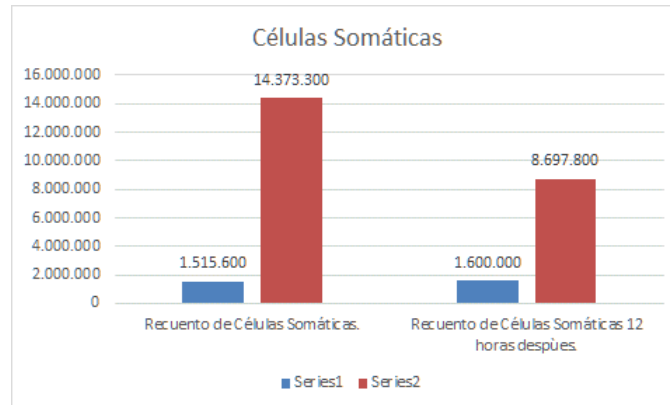
Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas	Recuento de Células Somáticas 12 horas después.
1	Selena	Anterior Derecho	1.515.600	1.600.000
2	Corazón	Anterior Izquierdo	14.373.300	8.697.800
		<b>PROMEDIO</b>	<b>7.944.450</b>	<b>5.148.900</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 9, se presenta el análisis de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden al grado II del grupo control de mastitis subclínica. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre las 0 a 12 horas.

**Grafico N°5. Total de células somáticas del grado II grupo testigo.**





**FUENTE:** Directa  
**Elaborado por:** CARRERA, Rocío, 2017

En el Gráfico N° 5, se observa que existen diferencias significativas en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando diferentes rangos en los resultados. En la tabla se observa que el grupo control muestran grandes variaciones, puesto que sin la aplicación del flavonoide® las células somáticas incrementan su concentración notablemente a las 12 horas respecto a las 0 horas de la toma de muestra.

**Tabla N° 10. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado II grupo testigo.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) grupo testigo Grado II

	Variable 1	Variable 2
Media	7944450	5148900
Varianza	8,26602E+13	2,51894E+13
Observaciones	2	2
Coeficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	0,970693936	
P(T<=t) una cola	0,254733217	
Valor crítico de t (una cola)	6,313751515	
P(T<=t) dos colas	0,509466434	
Valor crítico de t (dos colas)	12,70620474	

**FUENTE:** Directa  
**Elaborado por:** CARRERA, Rocío, 2017

En la Tabla N° 10, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre el grupo testigo respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,5094) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Las células somáticas varían debido al proceso inflamatorio y por ende las causas de su fluctuación serán

aquellas que causen o intensifiquen las inflamaciones. (Fernández y col., 1980). Sin embargo mediante procesos fisiológicos normales pueden ir reduciendo las CS/ml.

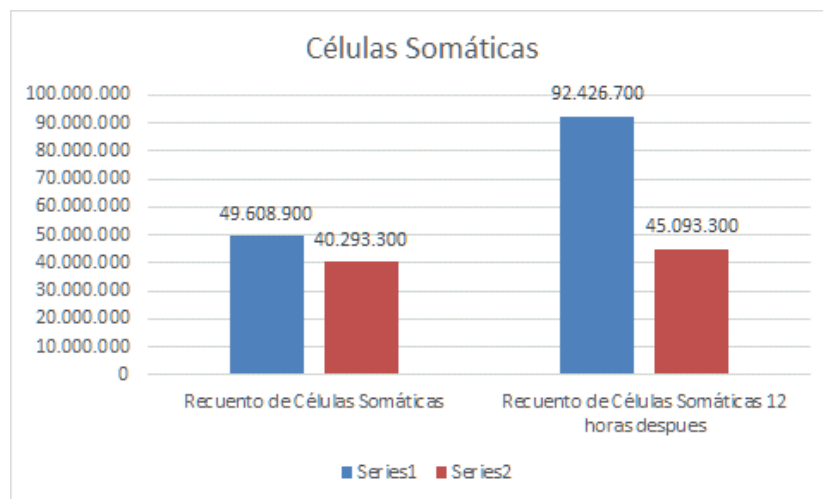
**Tabla 11. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III grupo testigo.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas	Recuento de Células Somáticas 12 horas después.
1	Verónica	Anterior Izquierdo	49.608.900	92.426.700
2	Manzana	Anterior Derecho	40.293.300	45.093.300
		<b>PROMEDIO</b>	<b>44.951.100</b>	<b>68.760.000</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 11, se presenta el análisis de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden al grado III del grupo testigo de mastitis subclínica. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre las 0 y 12 horas.

**Gráfico N°6. Total de células somáticas del grado III grupo testigo.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 6, se observa que existen diferencias significativas en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando diferentes rangos en los resultados. En la tabla se observa que el grupo control muestran grandes variaciones, puesto que sin la aplicación del flavonoide® las células somáticas disminuyen levemente su concentración notablemente a las 12 horas respecto a las 0 horas de la toma de muestra.

**Tabla N° 12. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado III.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) grupo control Grado II		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	44951100	68760000
Varianza	4,33902E+13	1,12023E+15
Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	-1,252513296	
P(T<=t) una cola	0,214464897	
Valor crítico de t (una cola)	6,313751515	
P(T<=t) dos colas	0,428929794	
Valor crítico de t (dos colas)	12,70620474	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 12, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre el grupo testigo respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,4289) es mayor que el nivel de significancia (0,05). La importancia biológica de las células somáticas estriba en la intervención en la defensa contra infecciones de la ubre, sin embargo la cantidad de CS/ml suben para actuar fisiológicamente. (Gonzales, 2008).

**Tabla N° 23. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide-diomina®.**

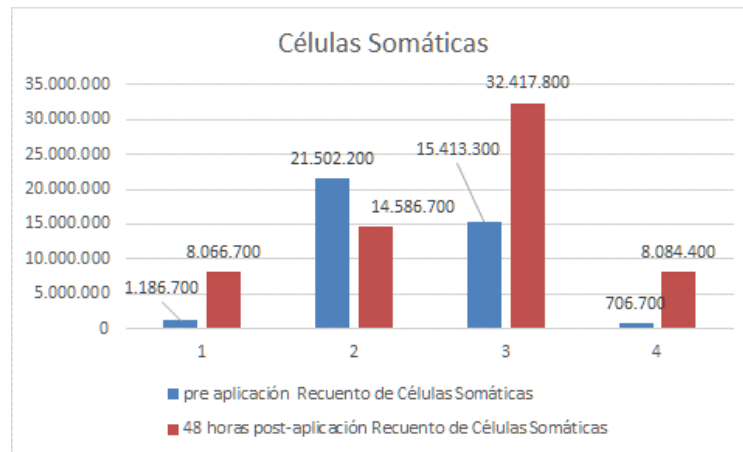
Numero	Nombre	Cuarto afectado	pre-aplicación Recuento de Células Somáticas	48 horas post- aplicación Recuento de Células Somáticas
1	Ramona	Anterior Izquierdo	1.186.700	8.066.700
2	Primor	Posterior Derecho	21.502.200	14.586.700
3	Primor	Anterior Izquierdo	15.413.300	32.417.800
4	Novilla	Anterior Derecho	706.700	8.084.400
		<b>PROMEDIO</b>	<b>9.702.225</b>	<b>15.788.900</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 13, se presenta el análisis y los promedios generales de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado I. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre el “RCS-pre-flavonoide®y 48 horas post-flavonoide” respecto a sus rangos y promedios, se puede observar que 48 horas post-aplicación existe una elevación en el Recuento de

Células Somáticas. Sin embargo, estas diferencias determinan que existe variación del RCS respecto a los valores obtenidos en la pre-aplicación y post-aplicación. Por lo tanto, se considera que los flavonoides® generan un efecto a las 48 horas post-aplicación sobre el cuadro de mastitis subclínica, y que la respuesta inmunológica de la glándula mamaria se ve mediada en diferentes grados establecida por los promedios obtenidos.

**Grafico N° 7. Total de células somáticas del grado I pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 7, se observa que entre la pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubres) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide® el número 2 (21.502.200 CCS) presenta el mayor número de células somáticas, seguido por el 3 (15.413.300 CCS), 1 (1.186.700 CCS), y el 4 (706.700 CCS); en relación a las 48 post-aplicación el número 2 (14.586.700 CCS) se considera que es el que mejor respuesta presentó respecto a los valores 1, 3 y 4 en cuanto a la mastitis subclínica grado I.

**Tabla N° 14. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I con una variación de 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) pre y 48 post aplicación del flavonoide®

	Variable 1	Variable 2
Media	9702225	15788900

Varianza	1,0843E+14	1,3232E+14
Observaciones	4	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,60067604	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	-1,23696988	
P(T<=t) una cola	0,15205021	
Valor crítico de t (una cola)	2,35336343	
P(T<=t) dos colas	0,30410042	
Valor crítico de t (dos colas)	3,18244631	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 14, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre-aplicación y 48 post-aplicación del flavonoide® respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,3041) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Se considera que el efecto de los flavonoides sobre el cuarto afectado por mastitis subclínica causa efecto de reacción en CS/ ml, este resultado es comparable con lo reportado por, (Dután, 2014). En donde utilizo 60mcg/ml de ozono obteniendo 24,750.000 CS/ml con la primera aplicación desciende a 3,000.000 CS/ml pero con la segunda aplicación existe un ascenso a 6,000.000 CS/ml. Sin embargo los resultados obtenidos no se encuentran dentro de establecido por (Vetelab, 2017), en donde para leche cruda el RCS debe ser menor a 700.000 células / ml.

**Tabla N° 15. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado II pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

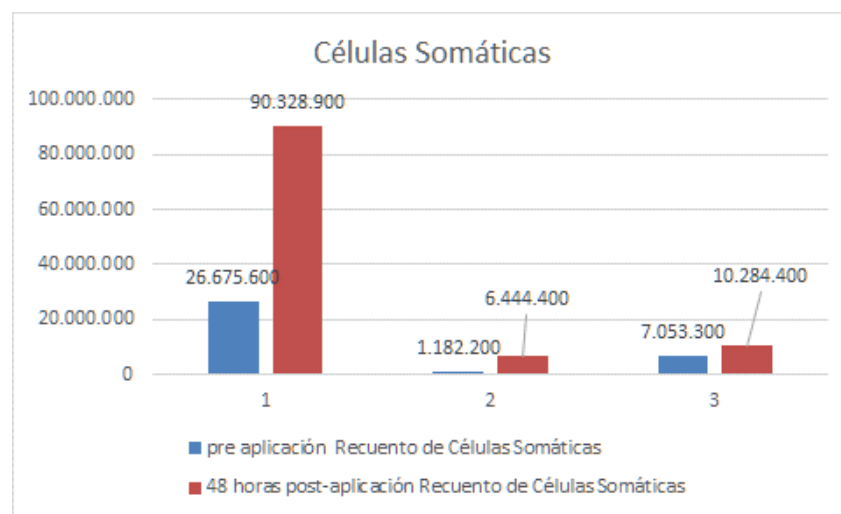
Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas pre-aplicación del flavonoide.	Recuento de Células Somáticas 48 horas post-aplicación del flavonoide.
1	Melinda	Anterior Derecho	26.675.600	90.328.900
2	Ramona	Posterior Izquierdo	1.182.200	6.444.400
3	Chiquita	Anterior Izquierdo	7.053.300	10.284.400
		<b>PROMEDIO</b>	<b>11.637.033</b>	<b>35.685.900</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 15, se presenta el análisis y los promedios generales de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado I. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre el “RCS-pre-flavonoide y 48 horas post-flavonoide” respecto a sus rangos y promedios, se

puede observar que 48 horas post-aplicación existe una elevación en el Recuento de Células Somáticas. Sin embargo, estas diferencias determinan que existe variación del RCS respecto a los valores obtenidos en la pre-aplicación y post-aplicación. Por lo tanto, se considera que los flavonoides® generan un efecto a las 12 horas post-aplicación sobre el cuadro de mastitis subclínica, y que la respuesta inmunológica de la glándula mamaria se ve mediada en diferentes grados establecida por los promedios obtenidos.

**Grafico N° 8. Total de células somáticas del grado II pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 8, se observa que entre la pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubre) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide® el numero 1 (26.675.600 CCS) presenta el mayor número de células somáticas, seguido por el 3 (7.053.300 CCS), y el 2 (1.182.200 CCS); en relación a las 48 horas post-aplicación se observa que la cantidad de CCS eleva su concentración considerablemente en lugar de reducirla.

**Tabla N° 16. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado II pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) pre y 48 post aplicación del flavonoide

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	11637033,3	35685900
Varianza	1,7824E+14	2,2431E+15
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	0,98363829	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-1,21392125	
P(T<=t) una cola	0,17433558	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,34867116	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 16, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre-aplicación y 48 post-aplicación del flavonoide® respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,3486) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Los resultados obtenidos en el presente estudio son comparativos a (Barreno, 1999) en donde utilizó Cefaspur en una concentración baja, las células somáticas fueron de 350.000C/ml antes de la aplicación, y de 300.000 C/ml después de la aplicación. Demostrando que los flavonoides por su acción antibacteriana, de estimulación del drenaje linfático, antioxidante y de atrapar los radicales libres generados en el cuarto afectado ayudan reduciendo la CS/ml. Sin embargo los resultados obtenidos no se encuentran dentro del promedio de leche establecido por (Vetelab, 2017), para leche cruda en donde el RCS debe ser menor a 700.000 células / ml.

**Tabla 17. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III pre y 48 post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas pre aplicación	Recuento de Células Somáticas 48 horas post-aplicación
1	Griega	Posterior Izquierdo	250.000	0

2	Susy	Anterior Derecho	300.000	500.000
3	Silvia	Anterior Izquierdo	250.000	300.000
4	Julieta	Anterior Derecho	250.000	250.000
5	Labradora	Anterior Derecho	250.000	0
6	Guayaba	Posterior Izquierdo	500.000	3.000
7	Sargenta	Anterior Izquierdo	750.000	750.000
8	Gema	Posterior Derecho	200.000	250.000
		<b>PROMEDIO</b>	<b>343.750</b>	<b>256.625</b>

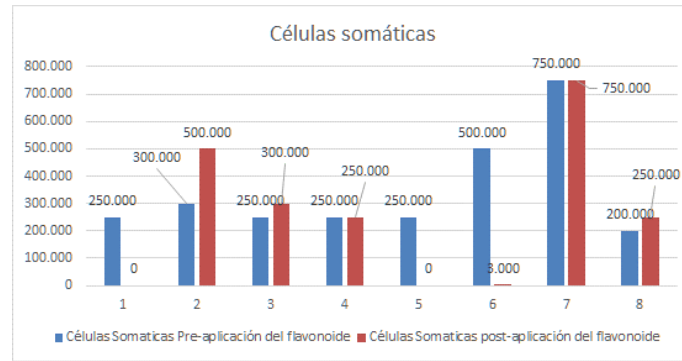
*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 17, se presenta el análisis y los promedios generales de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden a mastitis subclínica grado II. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre la pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide® respecto a sus rangos. Sin embargo, estas diferencias determinan que existe variación del RCS respecto a los valores obtenidos en la pre-aplicación y post-aplicación. Por lo tanto, se considera que los flavonoides generan un efecto a las 48 horas post-aplicación sobre el cuadro de mastitis subclínica, y que la respuesta inmunológica de la glándula mamaria se ve mediada en diferentes grados establecida por los promedios obtenidos.

**Grafico N°9. Total de células somáticas del grado III pre y 48 horas post Aplicación del flavonoide®.**





*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 9, se observa que entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando rangos entre los diferentes números experimentales, estableciendo que en la pre-aplicación del flavonoide el número 7 (750.000 CCS) presenta el mayor número de células somáticas, seguido por el 6 (500.000 CCS), 2 (300.000 CCS), 1,3,4,5 (250.000 CCS) y el 8 (200.000 CCS) y en la post-aplicación los números 1,5 (250.000 CCS) y 6 (3.000 CCS) se considera que son los que mejor respuesta determinaron respecto a los números 2,3,4,7 y 8 en cuanto a la mastitis subclínica grado I.

**Tabla N°18. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado III pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) pre y 48 post aplicación del flavonoide®

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	343750	256625
Varianza	3,5313E+10	7,1523E+10
Observaciones	8	8
Coefficiente de correlación de Pearson	0,55652838	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	1,09229345	
P(T<=t) una cola	0,15543255	
Valor crítico de t (una cola)	1,89457861	
P(T<=t) dos colas	0,31086511	
Valor crítico de t (dos colas)	2,36462425	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N°18, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre-aplicación y 48 post-aplicación del flavonoide® respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,3108) es mayor que el nivel de

significancia (0,05). Se determina que el efecto de los flavonoides® sobre la mastitis subclínica grado III, es superando por lo reportados por Lozada, et al 2009, en que utilizaron de miel al 10 % y 30 % en forma intramamaria. Sin embargo se considera que los flavonoides por su acción antibacteriana, de estimulación del drenaje linfático, antioxidante y de atrapar los radicales libres generados en el cuarto afectado ayudan reduciendo la CS/ml. Puesto que (Vetelab, 2017), para leche cruda estable que el RCS debe ser menor a 700.000 células / ml.

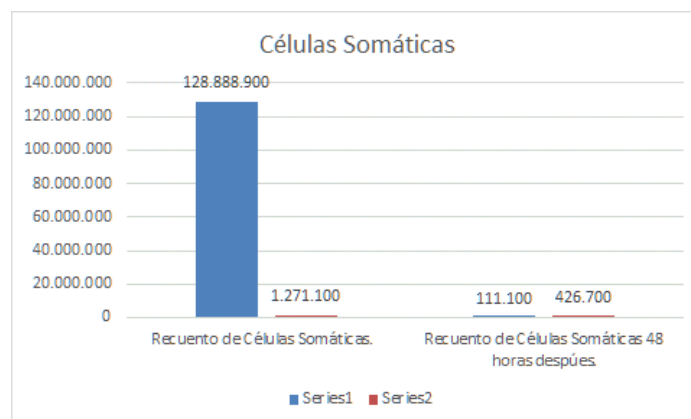
**Tabla 19. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado I grupo testigo con una variación de 48 horas.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas.	Recuento de Células Somáticas 48 horas después.
1	Paulina	Posterior Derecho	128.888.900	111.100
2	Dulce María	Anterior Derecho	1.271.100	426.700
		<b>PROMEDIO</b>	65.080.000	268.900

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 21, se presenta el análisis de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden al grado I del grupo testigo de mastitis subclínica. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre las 48 horas.

**Gráfico N°10. Total de células somáticas del grado I grupo testigo en 48 horas**



*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 10, se observa que en las 0 horas a 48 horas que varía la colecta de las muestras existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando diferentes rangos en los resultados.

**Tabla N20 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas (CCS/1000) grupo control grado I 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas  
(CCS/1000) grupo control grado

Variable 1	Variable 2		
Media		65080000	268900
Varianza		8,1432E+15	4,9802E+10
Observaciones		2	2
Coeficiente de correlación de Pearson		-1	
Diferencia hipotética de las medias		0	
Grados de libertad		1	
Estadístico t		1,01320062	
P(T<=t) una cola		0,24791286	
Valor crítico de t (una cola)		6,31375151	
P(T<=t) dos colas		0,49582572	
Valor crítico de t (dos colas)		12,7062047	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 20, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor < 0,05) entre el grupo control respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,4958) es mayor que el nivel de significancia (0,05). La importancia biológica de las células somáticas estriba en la intervención en la defensa contra infecciones de la ubre, sin embargo la cantidad de CS/ml suben para actuar fisiológicamente. (Gonzales, 2008)

**Tabla 21. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica II grado grupo testigo.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas	Recuento de Células Somáticas 48 horas después.
1	Selena	Anterior Derecho	1.515.600	1.666.700
2	Corazón	Anterior Izquierdo	14.373.300	4.195.600
		PROMEDIO	7.944.450	2.931.150

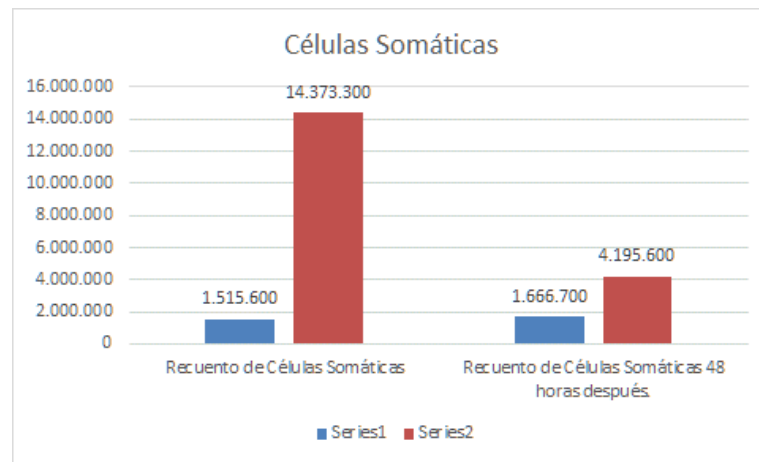
*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 21, se presenta el análisis de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden al grado II del grupo control de

mastitis subclínica. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre las 0 y 48 horas.

**Grafico N°11. Total de células somáticas del grado II grupo testigo 48 horas.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 11, se observa que en las 48 horas que varía la colecta de las muestras existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando diferentes rangos en los resultados.

**Tabla N° 22 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grado II.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas(CCS/1000)

	Variable 1	Variable 2
Media	7944450	2931150
Varianza	8,266E+13	3,1977E+12
Observaciones	2	2
Coeficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	0,970742	
P(T<=t) una cola	0,25472534	
Valor crítico de t (una cola)	6,31375151	
P(T<=t) dos colas	0,50945068	
Valor crítico de t (dos colas)	12,7062047	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 22, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre el grupo testigo respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,5094) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Las células somáticas

varían debido al proceso inflamatorio y por ende las causas de su fluctuación serán aquellas que causen o intensifiquen las inflamaciones. (Fernández y col., 1980).

**Tabla 23. Total de células somáticas (CCSx1000/ml) en mastitis subclínica grado III grupo testigo 48 horas.**

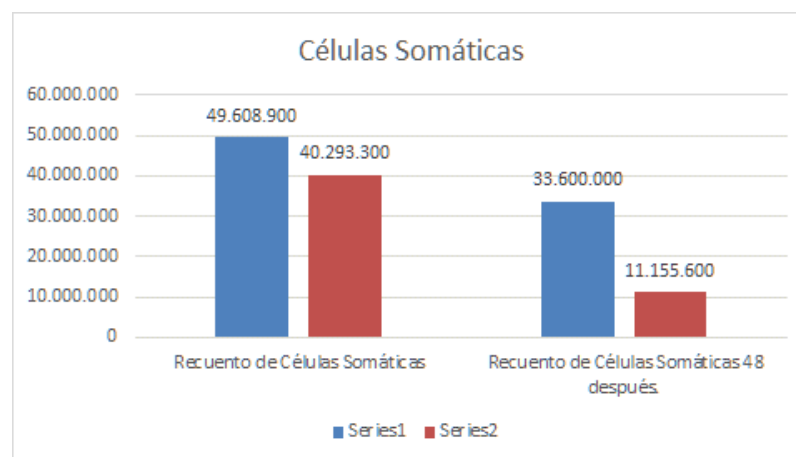
Numero	Nombre	Cuarto afectado	Recuento de Células Somáticas	Recuento de Células Somáticas 48 después.
1	Verónica	Anterior Izquierdo	49.608.900	33.600.000
2	Manzana	Anterior Derecho	40.293.300	11.155.600
		PROMEDIO	44.951.100	22.377.800

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 23, se presenta el análisis de los contenidos del recuento de células somáticas de las muestras de leche que corresponden al grado III del grupo testigo de mastitis subclínica. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre las 48 horas.

**Gráfico N°12. Total de células somáticas del grado III grupo testigo 48 horas.**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 12, se observa que en las 48 horas que varía la colecta de las muestras existen diferencias en la concentración del recuento de células somáticas. Determinando diferentes rangos en los resultados.

**Tabla N° 24. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas mastitis subclínica grupo testigo grado III 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas(CCS/1000)

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	44951100	22377800
Varianza	4,33902E+13	2,5188E+14
Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	3,438745354	
P(T<=t) una cola	0,090081268	
Valor crítico de t (una cola)	6,313751515	
P(T<=t) dos colas	0,180162536	
Valor crítico de t (dos colas)	12,70620474	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 24, se observa que no existe diferencia estadística significativa (p-valor<0,05) entre el grupo testigo respecto al recuento de las células somáticas, ya que el p-valor (0,1801 es mayor que el nivel de significancia (0,05). La importancia biológica de las células somáticas estriba en la intervención en la defensa contra infecciones de la ubre, sin embargo la cantidad de CS/ml suben para actuar fisiológicamente. (Gonzales, 2008)

**Cuadro N° 4. Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) pre-aplicación de flavonoides y 12, 48 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

<b>Grados de mastitis</b>	<b>Nombre</b>	<b>Cuarto afectado</b>	<b>UFC/ ml Pre-aplicación del flavonoide</b>	<b>UFC/ ml 12 horas Post-aplicación del flavonoide</b>	<b>UFC/ ml 48 horas Post-aplicación del flavonoide</b>
<b>GRADO I</b>	Ramona	Anterior Izquierdo	2.100	690	210
	Primor	Posterior Derecho	850	3.100	1.800
	Primor	Anterior Izquierdo	17.000	9.600	150.000
	Novilla	Anterior Derecho	610	-10	760
<b>GRADO II</b>	Melinda	Anterior Derecho	44.000.000	6.000.000	1.200.000
	Ramona	Posterior Izquierdo	29.000	30	15.000
	Chiquita	Anterior Izquierdo	470	580	2.900
<b>GRADO III</b>	Griega	Posterior Izquierdo	0	0	-
	Susy	Anterior Derecho	142.000	8.000	-
	Silvia	Anterior Izquierdo	0	0	-
	Julieta	Anterior Derecho	0	0	-
	Labradora	Anterior Derecho	25.000	0	-
	Guayaba	Posterior Izquierdo	32.000	9.000	-
	Sargenta	Anterior Izquierdo	58.000	0	-
	Gema	Posterior Derecho	23.000	0	-
<b>TESTIGA GRADO I</b>	Paulina	Posterior Derecho	100	16	8.200
	Dulce María	Anterior Derecho	360	30	200
<b>TESTIGA GRADO II</b>	Selena	Anterior Derecho	120	800	46.000
	Corazón	Anterior Izquierdo	140	1.200	6.900
<b>TESTIGA GRADO III</b>	Verónica	Anterior Izquierdo	380.000	150.000	1.300.000
	Manzana	Anterior Derecho	-10	920.000	21.000

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el presente cuadro, se observa el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de las muestras obtenidas de los diferentes cuartos de la glándula mamaria, pre y post-aplicación de los flavonoides® presentando el grupo experimental y grupo testigo

desniveles en los valores de los rangos de UFC, que determinan cuadros de mastitis subclínica de grado I, II y III. Así, las UFC establecen los gérmenes presentes en la leche pero no sobre su fuente de origen. Las mismas pueden provenir del equipamiento del ordeño, de una mala higiene en la rutina de ordeño, manejo de la leche o de infecciones intramamarias. El recuento de organismos mesofílicos es una medida de las condiciones de higiene en la producción de leche, donde 10.000 UFC/ml se considera leche de buena calidad de lo que reportan Revelli y col (2004) y Parra y col (1998), al muestrear inmediatamente después del ordeño. Los recuentos de UFC coinciden con lo que reportan Elmoslemany y col (2009) quienes encontraron los mayores conteos bacterianos. Algunos de los cuartos analizados en relación a los conteos de UFC obtenidos en el presente estudio superan lo deseable, de acuerdo a los estándares de higiene en el manejo de la leche que describen Harrigan y McCance (1976).

**Tabla N° 25. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado I pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**

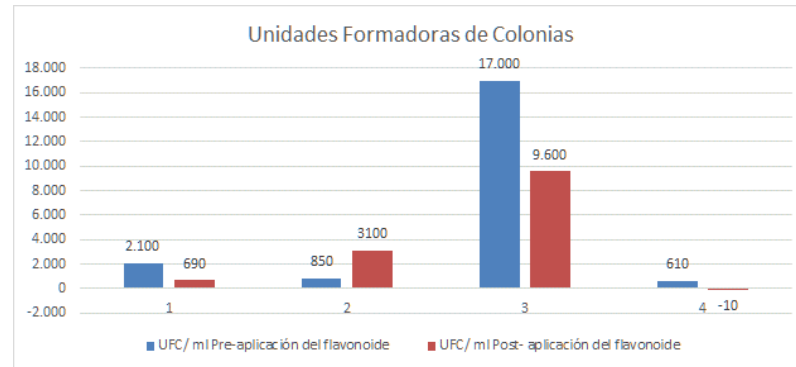
Numero	Nombre	Cuarto afectado	(UFCx10/10ml) pre-aplicación del flavonoide.	(UFCx10/10ml) post-aplicación del flavonoide.
1	Ramona	Anterior Izquierdo	2.100	690
2	Primor	Posterior Derecho	850	3100
3	Primor	Anterior Izquierdo	17.000	9.600
4	Novilla	Anterior Derecho	610	-10
		<b>PROMEDIO</b>	<b>5.140</b>	<b>13.380</b>

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 25, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado I. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide® respecto a sus rangos y promedios.

**Gráfico N° 13. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I Pre-aplicación y 12 horas post-aplicación.**





*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 13, se observa que entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide® existen diferencias en las Unidades Formadoras de Colonias. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubre) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide el número 3 (17.000 UFC) presenta el mayor número de Unidades Formadoras de Colonias, seguido por el 1 (2.100 UFC), 2 (850 CCS) y el 4 (610 UFC); en relación a la post-aplicación el número 3 (9.600 UFC) se considera que es el que mejor respuesta presentó respecto a los valores 1,2 y 4, en cuanto a la mastitis subclínica grado I.

**Tabla N° 26. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post- Aplicación del flavonoide.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml Pre y post aplicación del flavonoide®.

	Variable 1	Variable 2
Media	5140	3345
Varianza	62942066,67	19163366,67
Observaciones	4	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,945429815	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	0,885525816	
P(T<=t) una cola	0,220546525	
Valor crítico de t (una cola)	2,353363435	
P(T<=t) dos colas	0,441093051	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182446305	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 26, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor<0,05) entre la pre y post-aplicación del flavonoide® respecto a Unidades

Formadoras de Colonias, ya que el p-valor (0.4410) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Sin embargo, algunos de los conteos de bacterias mesofílicas aerobias (UFC) reportados en el presente estudio cumplen con el estándar de referencia (100.000 UFC/ml máximo) y coinciden con los resultados de Chombo y col (1999), pero son mayores a lo que reportan Ávila y col (2002). Por lo tanto, se podría considerar que el conteo de unidades formadoras de colonias de bacterias post aplicación de flavonoides está dentro de lo que señala la norma de referencia, existiendo diferencias con el tipo de limpieza de la ubre.

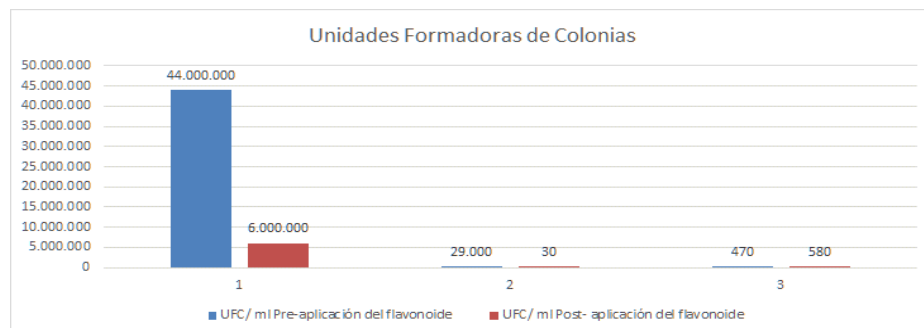
**Tabla N° 27. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina® Mastitis Subclínica grado II.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml Pre-aplicación del flavonoide	UFC/ ml Post- aplicación del flavonoide
1	Melinda	Anterior Derecho	44.000.000	6.000.000
2	Ramona	Posterior Izquierdo	29.000	30
3	Chiquita	Anterior Izquierdo	470	580
			<b>14.676.490</b>	<b>2.000.203</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 27, se presenta el análisis del recuento de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a mastitis subclínica grado II. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre el pre y post-aplicación del flavonoide® respecto a sus rangos y promedios.

**Gráfico N° 14. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) de mastitis subclínica grado II Pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina®.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 14, se observa que entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide existen diferencias en las Unidades Formadoras de Colonias. Determinando

rangos entre los diferentes cuartos (ubre) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide el numero 1 (44.000.000 UFC) presenta el mayor número de Unidades Formadoras de Colonias, seguido por el 2 (29.000 UFC), y el 3 (470 UFC); en relación a la post-aplicación el número 1 (6.000.000 UFC) se considera que es el que mejor respuesta presento respecto a los valores 2 y 3, en cuanto a la mastitis subclínica grado I.

**Tabla N° 28. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post- Aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml Pre y post aplicación del flavonoide®.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	14676490	2000203,333
Varianza	6,44901E+14	1,19988E+13
Observaciones	3	3
Coeficiente de correlación de Pearson	0,999999794	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	1,001139423	
P(T<=t) una cola	0,211105708	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,422211416	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 28, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide respecto a Unidades Formadoras de Colonias, ya que el  $p$ -valor (0,4222) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Los resultados del presente estudio redujeron su cantidad de ufc/ml. Sin embargo no cumplen con el rango referencia establecido por VETELAB, 2017, en donde los rangos referencia para UFC/ml para leche cruda deben ser menores a 1,500.000 UFC/ml. Por lo tanto estos resultados son similares a los encontrados por Rodríguez (2011), quien informó que utilizando 60mcg/ml de ozono obtuvo 150,000 UFC/ml con la primera aplicación descendiendo a 448.000 UFC/ml. Por otra parte, los resultados del presente trabajo difieren de los obtenidos por Manzeng *et al.* (1998), quienes no encontraron acción específica de los extractos entre las cepas Gram (-) y Gram (+).

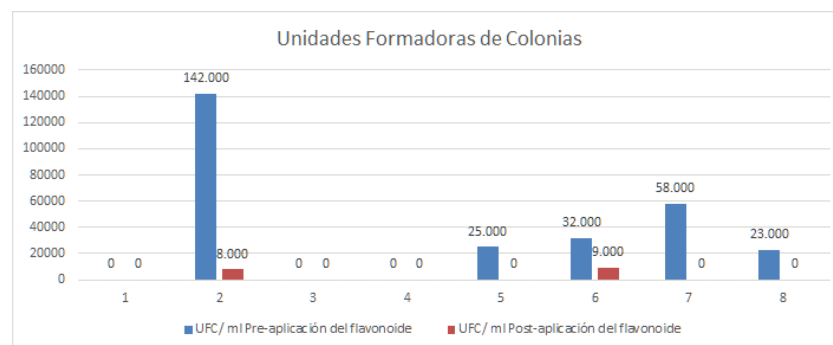
**Tabla 29. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide-diosmina® Mastitis Subclínica grado III.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml Pre-aplicación del flavonoide	UFC/ ml Post-aplicación del flavonoide
1	Griega	Posterior Izquierdo	0	0
2	Susy	Anterior Derecho	142.000	8.000
3	Silvia	Anterior Izquierdo	0	0
4	Julieta	Anterior Derecho	0	0
5	Labradora	Anterior Derecho	25.000	0
6	Guayaba	Posterior Izquierdo	32.000	9.000
7	Sargenta	Anterior Izquierdo	58.000	0
8	Gema	Posterior Derecho	23.000	0
		<b>PROMEDIO</b>	<b>35.000</b>	<b>2.145</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 30, se presenta el análisis del recuento de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a mastitis subclínica grado III, pre y post-aplicación del flavonoide. Se observa que existen diferencias numéricas considerables entre el pre y la post aplicación del flavonoide respecto a sus rangos y promedios.

**Gráfico N° 15. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) de mastitis subclínica grado III Pre y 12 horas post-aplicación del flavonoide®.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 15, se observa que entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide existen diferencias en las Unidades Formadoras de Colonias. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubres) analizados, estableciendo que los valores en la

pre-aplicación del flavonoide el numero 1 (44.000.000 UFC) presenta el mayor número de Unidades Formadoras de Colonias, seguido por el 2 (29.000 UFC), y el 3 (470 UFC); en relación a la post-aplicación el número 1 (6.000.000 UFC) se considera que es el que mejor respuesta presento respecto a los valores 2 y 3, en cuanto a la mastitis subclínica grado I.

**Tabla N° 30. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado III (UFCx10/10ml) pre y 12 horas post- Aplicación del flavonoide-diosmina®.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml Pre y post aplicación del flavonoide®.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	35000	2125
Varianza	2272285714	15553571,43
Observaciones	8	8
Coefficiente de correlación de Pearson	0,629955624	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	2,053193191	
P(T<=t) una cola	0,039578217	
Valor crítico de t (una cola)	1,894578605	
P(T<=t) dos colas	0,079156435	
Valor crítico de t (dos colas)	2,364624252	

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 30, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre-aplicación y post-aplicación del flavonoide respecto al recuento de las células somáticas, ya que el  $p$ -valor (0,079) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Se determina que el efecto de los flavonoides sobre la mastitis subclínica grado III, es superando por lo reportados por Lozada, et al 2009, en que utilizaron de miel al 10 % y 30 % en forma intramamaria. Por lo tanto se considera que los flavonoides por su acción antibacteriana, de estimulación del drenaje linfático, antioxidante y de atrapar los radicales libres generados en el cuarto afectado ayudan reduciendo UFC/ml. Y cumplen con el rango referencia establecido por VETELAB, 2017, en donde para leche cruda deben ser menores a 1,500.000 UFC/ml.

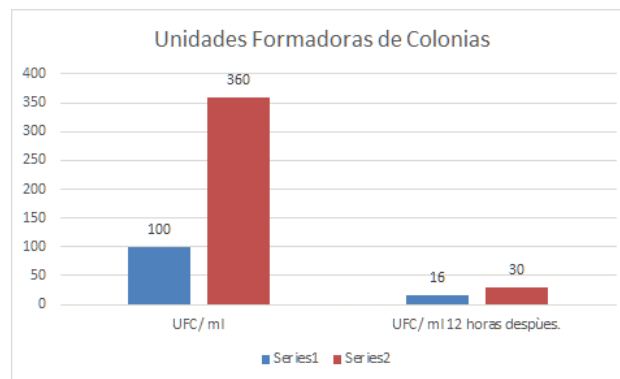
**Tabla N° 31. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado I grupo testigo.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml 0 horas	UFC/ ml 12 horas después.
1	Paulina	Posterior Derecho	100	16
2	Dulce María	Anterior Derecho	360	30
		<b>PROMEDIO</b>	<b>230</b>	<b>23</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 31, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado I del grupo testigo a las 0 y 12 horas. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de la toma de la muestra.

**Grafico. N° 16. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I grupo testigo.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 16, se observa que entre los tratamientos existen diferencias en la concentración de las UFC, pre y post-aplicación del flavonoide en la mastitis subclínica grado del grupo testigo a las 12 horas.

**Tabla N° 32. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) 12 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml

Variable 1	Variable 2
------------	------------

Media	230	23
Varianza	33800	98
Observaciones	2	2
Coeficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	1,682926829	
P(T<=t) una cola	0,170660579	
Valor crítico de t (una cola)	6,313751515	
P(T<=t) dos colas	0,341321158	
Valor crítico de t (dos colas)	12,70620474	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 32, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre y post-aplicación del flavonoide respecto a Unidades Formadoras de Colonias, ya que el  $p$ -valor (0.3413) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Hay cambio en la cantidad de (UFCx10/10ml) sin que hayan recibido el tratamiento con flavonoides los cambios observados se deben al proceso fisiológico.

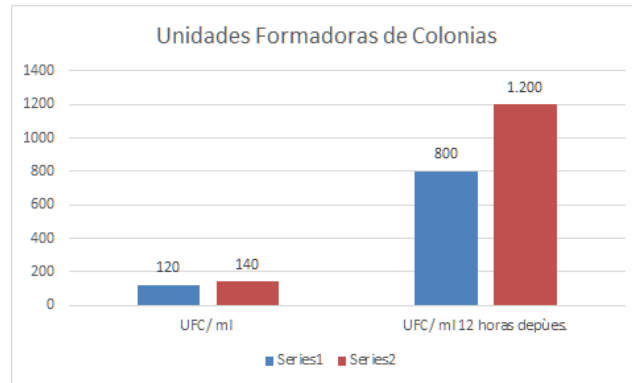
**Tabla N° 33. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado II, grupo control.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml	UFC/ ml 12 horas después.
1	Selena	Anterior Derecho	120	800
2	Corazón	Anterior Izquierdo	140	1.200
		<b>PROMEDIO</b>	<b>130</b>	<b>1.000</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 33, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado II grupo testigo, 0 y 12 horas. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de la toma de la muestra.

**Grafico. N° 17. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado II grupo testigo.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 17, se observa que en el grado II existen diferencias en la concentración de las UFC, en la mastitis subclínica grado II del grupo testigo a las 12 horas.

**Tabla N° 34. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) 12 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml.

	Variable 1	Variable 2
Media	130	1000
Varianza	200	80000
Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	-4,578947368	
P(T<=t) una cola	0,068441363	
Valor crítico de t (una cola)	6,313751515	
P(T<=t) dos colas	0,136882725	
Valor crítico de t (dos colas)	12,70620474	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 34, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) grupo testigo de la mastitis subclínica grado II respecto a Unidades Formadoras de Colonias, ya que el  $p$ -valor (0.1368) es mayor que el nivel de significancia (0.05).

**Tabla N° 35. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado III grupo testigo.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml	UFC/ ml 12 horas después
--------	--------	-----------------	---------	--------------------------

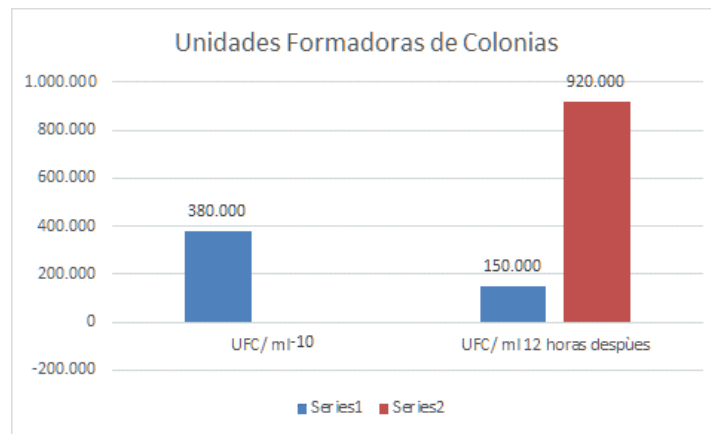


1	Verónica	Anterior Izquierdo	380.000	150.000
2	Manzana	Anterior Derecho	-10	920.000
		<b>PROMEDIO</b>	<b>379.990</b>	<b>535.000</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 36, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado III a las 0 y 12 horas del grupo testigo. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de la toma de la muestra.

**Grafico. N° 18. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado III grupo testigo.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 18, se observa que entre los tratamientos existen diferencias en la concentración de las UFC, pre y post-aplicación del flavonoide en la mastitis subclínica grado III del grupo testigo a las 12 horas.

**Tabla N° 36. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado III (UFCx10/10ml) 12 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml.

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
--	-------------------	-------------------

Media	189995	535000
Varianza	72203800050	2,9645E+11
Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	-1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	-0,600003478	
P(T<=t) una cola	0,327978316	
Valor crítico de t (una cola)	6,313751515	
P(T<=t) dos colas	0,655956633	
Valor crítico de t (dos colas)	12,70620474	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 37, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) grupo testigo de la mastitis subclínica grado III respecto a Unidades Formadoras de Colonias, ya que el  $p$ -valor (0.6559) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Hay cambio en la cantidad de (UFCx10/10ml) sin que hayan recibido el tratamiento con flavonoides® los cambios observados se deben al proceso fisiológico.

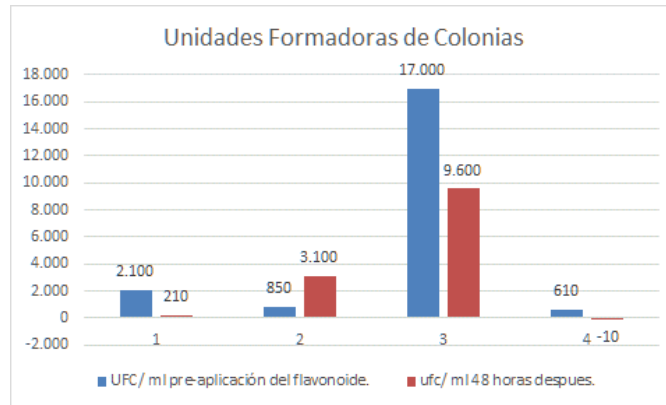
**Tabla N° 37. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide®, mastitis subclínica grado I.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml pre-aplicación del flavonoide.	Ufc / ml 48 horas después.
1	Ramona	Anterior Izquierdo	2.100	210
2	Primor	Posterior Derecho	850	1.800
3	Primor	Anterior Izquierdo	17.000	150.000
4	Novilla	Anterior Derecho	610	760
		<b>PROMEDIO</b>	<b>5.140</b>	<b>152.770</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 37, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado I pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide®. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de rangos y promedios.

**Gráfico. N° 19. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N° 19, se observa que entre la pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide existen diferencias en las Unidades Formadoras de Colonias. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubre) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide el número 3 (17.000 UFC) presenta el mayor número de Unidades Formadoras de Colonias, seguido por el 1 (2.100 UFC), 2 (850 UFC), y el 4 (610 UFC); en relación a la post-aplicación el número 3 (9.600 UFC) se considera que es el que mejor respuesta presento respecto a los valores 1,2 y 4, en cuanto a la mastitis subclínica grado I.

**Tabla N° 38. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml pre-aplicación y 48 horas post-aplicación.

	Variable 1	Variable 2
Media	5140	3225
Varianza	62942066,67	20070566,7
Observaciones	4	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,937500742	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	3	
Estadístico t	0,94661633	
P(T<=t) una cola	0,206835203	
Valor crítico de t (una cola)	2,353363435	
P(T<=t) dos colas	0,413670407	
Valor crítico de t (dos colas)	3,182446305	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 38, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la pre y post-aplicación del flavonoide respecto a Unidades Formadoras de Colonias, ya que el  $p$ -valor (0.4136) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Sin embargo, algunos de los conteos de bacterias mesofílicas aerobias (UFC) reportados en el presente estudio cumplen con el estándar de referencia (100.000 UFC/ml máximo) y coinciden con los resultados de Chombo y col (1999), pero son mayores a lo que reportan Ávila y col (2002). Por lo tanto, se podría considerar que el conteo de unidades formadoras de colonias de bacterias mesofílicas aerobias post aplicación de flavonoides está dentro de lo que señala la norma de referencia, existiendo diferencias con el tipo de limpieza de la ubre.

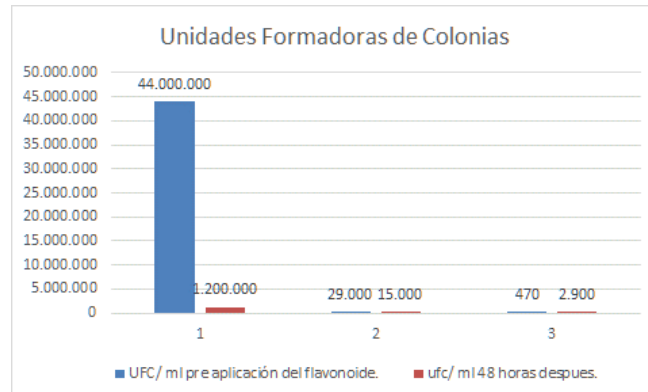
**Tabla N° 39. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica pre y 48 post aplicación del flavonoide, mastitis subclínica grado II.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml pre aplicación del flavonoide.	UFC/ ml 48 horas después.
1	Melinda	Anterior Derecho	44.000.000	1.200.000
2	Ramona	Posterior Izquierdo	29.000	15.000
3	Chiquita	Anterior Izquierdo	470	2.900
		<b>PROMEDIO</b>	<b>1.4676.490</b>	<b>405.966</b>

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 39, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado II pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide®. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de la toma de la muestra en cuanto a sus rangos y promedios.

**GráficoN° 20.Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml)grado II pre y 48 horas post-aplicación del flavonoide®.**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N°20, se observa que entre la pre-aplicación y 48 horas post-aplicación del flavonoide existen diferencias en las Unidades Formadoras de Colonias. Determinando rangos entre los diferentes cuartos (ubre) analizados, estableciendo que los valores en la pre-aplicación del flavonoide el numero 1 (44.000.000 UFC) presenta el mayor número de Unidades Formadoras de Colonias, seguido por el 2 (29.000 UFC), y el 3 (470 UFC); en relación a la post-aplicación el número 1 (1.200.000 UFC) se considera que es el que mejor respuesta presento respecto a los valores 1,2 y 4, en cuanto a la mastitis subclínica grado II.

**Tabla N° 40. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml pre-aplicación y 48 horas post-aplicación.

	Variable 1	Variable 2
Media	14676490	405966,667
Varianza	6,44901E+14	4,729E+11
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	0,999966084	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	1,00040549	
P(T<=t) una cola	0,211246845	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,422493689	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 40, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor<0,05) entre la pre y post-aplicación del flavonoide® respecto a Unidades

Formadoras de Colonias, ya que el p-valor (0.4224) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Estos resultados son similares a los encontrados por Rodríguez (2011), quien informó que el ajo al 30 % por su composición química posee los niveles más altos de actividad bacteriana frente a UFC (Unidades Formadoras de Colonias) al igual que los flavonoides. Sin embargo, los resultados del presente trabajo difieren de los obtenidos por Manzaner, (2009), En donde utilizo 60mcg/ml de ozono obteniendo 300,000 UFC/ml con la tercera aplicación desciende a 520.000 UFC/ml. Por lo tanto cumplen con el rango referencia establecido por VETELAB, 2017, en donde los rangos referencia para leche cruda deben ser menores a 1,500.000 UFC/ml.

**Tabla N° 41. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado I, grupo testigo con una variación de 48 horas.**

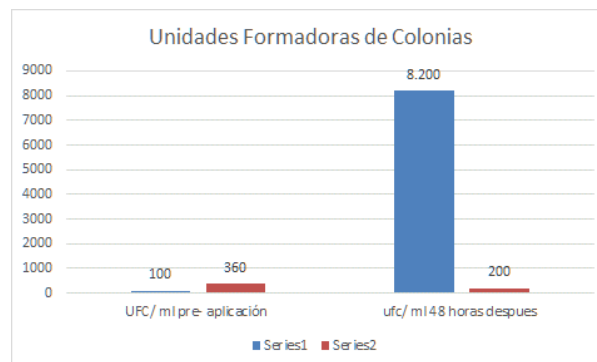
Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml pre-aplicación	UFC/ ml 48 horas después
1	Paulina	Posterior Derecho	100	8.200
2	Dulce María	Anterior Derecho	360	200
		<b>PROMEDIO</b>	<b>230</b>	<b>4.200</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 41, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado I del grupo testigo a las 0 y 48 horas. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de la toma de la muestra.

**Gráfico. N° 21. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado I del grupo testigo con una variación de 48 horas en la toma de muestra.**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N°21, se observa que entre los tratamientos existen diferencias en la concentración de las UFC pre y 48 horas post-aplicación.

**Tabla N° 42. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado I (UFCx10/10ml) 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	230	4200
Varianza	33800	32000000
Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	-1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	-0,96125908	
P(T<=t) una cola	0,25628679	
Valor crítico de t (una cola)	6,31375151	
P(T<=t) dos colas	0,51257357	
Valor crítico de t (dos colas)	12,7062047	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 42, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la toma de muestras a las 48 horas respecto a Unidades Formadoras de Colonias, ya que el  $p$ -valor (0.5125) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Hay cambio en la cantidad de (UFCx10/10ml) sin que hayan recibido el tratamiento con flavonoides los cambios observados se deben al proceso fisiológico.

**Tabla N° 43. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado II, grupo testigo con una variación de 48 horas.**

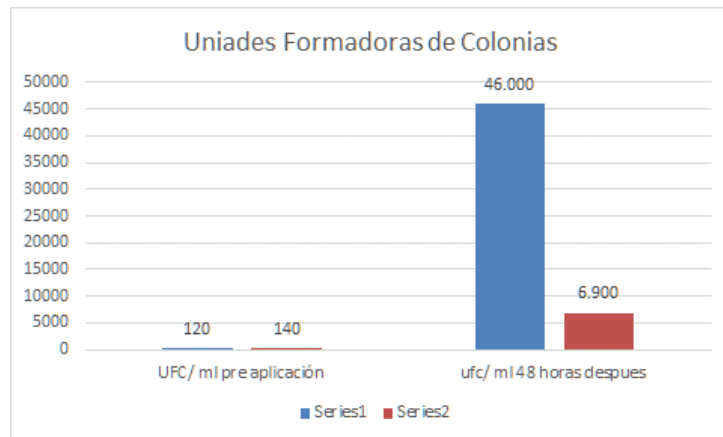
Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml pre-aplicación	UFC/ ml 48 horas después
1	Selena	Anterior Derecho	120	46.000
2	Corazón	Anterior Izquierdo	140	6.900
		<b>PROMEDIO</b>	<b>130</b>	<b>26450</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 43, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado II del grupo testigo a

las 48 horas. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de la toma de la muestra.

**Grafico. N° 22. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado II del grupo testigo con una variación de 48 horas en la toma de muestra.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N°22, se observa que entre los tratamientos existen diferencias en la concentración de las UFC a las 0 horas respecto de las 12 horas.

**Tabla N° 44. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado II (UFCx10/10ml) 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas UFC/ml

	Variable 1	Variable 2
Media	130	26450
Varianza	200	764405000
Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	-1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
Estadístico t	-1,34560327	
P(T<=t) una cola	0,20343497	
Valor crítico de t (una cola)	6,31375151	
P(T<=t) dos colas	0,40686995	
Valor crítico de t (dos colas)	12,7062047	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 45, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la toma de muestras a las 48 horas respecto a Unidades Formadoras de



Colonias, ya que el p-valor (0.4068) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Hay cambio en la cantidad de (UFCx10/10ml) sin que hayan recibido el tratamiento con flavonoides los cambios observados se deben al proceso fisiológico.

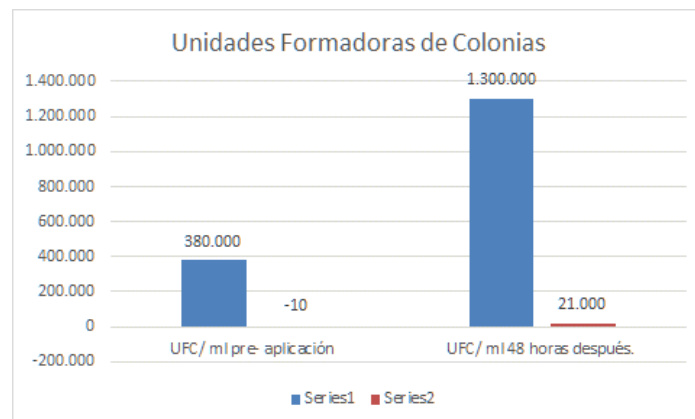
**Tabla N° 45. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) en la mastitis subclínica grado III, grupo testigo con una variación de 48 horas.**

Numero	Nombre	Cuarto afectado	UFC/ ml pre-aplicación	UFC/ ml 48 horas después
1	Verónica	Anterior Izquierdo	380.000	1.300.000
2	Manzana	Anterior Derecho	-10	21.000
		<b>PROMEDIO</b>	<b>189.995</b>	<b>660.500</b>

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 45, se presenta el análisis de las Unidades Formadoras de Colonias de las muestras de leche que corresponden a la mastitis subclínica grado III del grupo testigo a las 48 horas. Se observa que existen diferencias numéricas considerables en la variación de la toma de la muestra.

**Gráfico. N° 23. Total de Unidades Formadoras de Colonias (UFCx10/10ml) grado III del grupo testigo con una variación de 48 horas en la toma de muestra.**



*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En el Gráfico N°23, se observa que entre los tratamientos existen diferencias en la concentración de las UFC las 0 horas respecto de las 48 horas de la toma de muestras.

**Tabla N° 46. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grado III (UFCx10/10ml) 48 horas.**

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas  
UFC/ml

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	189995	660500
Varianza	7,2204E+10	8,1792E+11
Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1	
	-	
Estadístico t	1,04674134	
P(T<=t) una cola	0,24273203	
Valor crítico de t (una cola)	6,31375151	
P(T<=t) dos colas	0,48546407	
Valor crítico de t (dos colas)	12,7062047	

*FUENTE: Directa*  
*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En la Tabla N° 46, se observa que no existe diferencia estadística significativa ( $p$ -valor $<0,05$ ) entre la toma de muestras a las 48 horas respecto a Unidades Formadoras de Colonias, ya que el  $p$ -valor (0.4854) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Hay cambio en la cantidad de (UFCx10/10ml) sin que hayan recibido el tratamiento con flavonoides® los cambios observados se deben al proceso fisiológico.

**Cuadro N° 5, Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 pre-aplicación y post-aplicación de flavonoides-diosmina®.**

Grados de mastitis	Nombre	Cuarto afectado	Germen Aislado pre-aplicación del flavonoide	Germen Aislado Post-aplicación del flavonoide.
--------------------	--------	-----------------	--	--

<b>GRADO I</b>	Ramona	Anterior Izquierdo	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
	Primor	Posterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
	Primor	Anterior Izquierdo	Crecimiento moderado de Streptococcus agalactiae	Crecimiento escaso de Streptococcus agalactiae.
	Novilla	Anterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Sin Desarrollo hasta las 72 horas de incubación.
<b>GRADO II</b>	Melinda	Anterior Derecho	Crecimiento abundante de Streptococcus agalactiae	Crecimiento abundante de Streptococcus agalactiae
	Ramona	Posterior Izquierdo	Crecimiento moderado de Staphylococcus spp. (No aureus)	Sin Desarrollo hasta las 72 horas de incubación.
	Chiquita	Anterior Izquierdo	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
<b>GRADO III</b>	Griega	Posterior Izquierdo	Crecimiento mayor a 100,000 UFC/ ml de Streptococcus agalactiae (Grupo B)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (3,000 UFC/ ml)
	Susy	Anterior Derecho	-	-
	Silvia	Anterior Izquierdo	-	-
	Julieta	Anterior Derecho	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ ml Staphylococcus aureus (Coagulasa Positiva)	-
	Labradora	Anterior Derecho	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ ml Escherichia coli.	-
	Guayaba	Posterior Izquierdo	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ml Citrobacter feundii.	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (8,000 UFC/ ml)
	Sargenta	Anterior Izquierdo	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ml Klebsiella oxytoca.	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (3,000 UFC/ ml)
	Gema	Posterior Derecho	Crecimiento mayor a 100,000 UFC/ ml de Streptococcus agalactiae (Grupo B)	-

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

**Cuadro N° 6, Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 grupo testigo.**

<b>Grados de mastitis</b>	<b>Nombre</b>	<b>Cuarto afectado</b>	<b>Germen Aislado a las 0 horas.</b>	<b>Germen Aislado a las 12 horas.</b>
<b>TESTIGA GRADO I</b>	Paulina	Posterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
	Dulce María	Anterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Sin Desarrollo hasta las 72 horas de incubación.
<b>TESTIGA GRADO II</b>	Selena	Anterior Derecho	Crecimiento escaso de Estafilococos coagulasa positiva	Crecimiento escaso de Estafilococos coagulasa positiva
	Corazón	Anterior Izquierdo	Crecimiento escaso de Escherichia coli.	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
<b>TESTIGA GRADO III</b>	Verónica	Anterior Izquierdo	Crecimiento moderado de Streptococcus agalactiae.	Crecimiento moderado de Streptococcus agalactiae.
	Manzana	Anterior Derecho	Sin Desarrollo hasta las 72 horas de incubación.	Crecimiento abundante de Staphylococcus spp. (No aureus)

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

**Cuadro N° 7, Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 pre-aplicación y 48 horas post-aplicación.**

<b>Grados de mastitis</b>	<b>Nombre</b>	<b>Cuarto afectado</b>	<b>Germen Aislado pre-aplicación del flavonoide</b>	<b>Germen Aislado 48 horas Post-aplicación del flavonoide.</b>
<b>GRADO 1</b>	Ramona	Anterior Izquierdo	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
	Primor	Posterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento moderado de Staphylococcus spp. (No aureus)
	Primor	Anterior Izquierdo	Crecimiento moderado de Streptococcus agalactiae	Crecimiento moderado de Streptococcus agalactiae
	Novilla	Anterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
<b>GRADO II</b>	Melinda	Anterior Derecho	Crecimiento abundante de Streptococcus agalactiae	Crecimiento abundante de Streptococcus agalactiae
	Ramona	Posterior Izquierdo	Crecimiento moderado de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento moderado de Staphylococcus spp. (No aureus)
	Chiquita	Anterior Izquierdo	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento moderado de Staphylococcus spp. (No aureus)
<b>GRADO III</b>	Griega	Posterior Izquierdo	Crecimiento mayor a 100,000 UFC/ ml de Streptococcus agalactiae (Grupo B)	-
	Susy	Anterior Derecho	-	-
	Silvia	Anterior Izquierdo	-	-
	Julieta	Anterior Derecho	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ ml Staphylococcus aureus (Coagulasa Positiva)	-
	Labrador a	Anterior Derecho	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ ml Escherichia coli.	-
	Guayaba	Posterior Izquierdo	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ml Citrobacter feundii.	-
	Sargenta	Anterior Izquierdo	Crecimiento Entre 10,000 a 100,000 UFC/ml Klebsiella oxytoca.	-
	Gema	Posterior Derecho	Crecimiento mayor a 100,000 UFC/ ml de Streptococcus agalactiae (Grupo B)	-

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

**Cuadro N° 8, Cultivo de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 grupo testigo con variación de 48 horas en la toma de muestras.**

Grados de mastitis	Nombre	Cuarto afectado	Germen Aislado pre-aplicación del flavonoide	Germen Aislado 48 horas Post-aplicación del flavonoide.
<b>TESTIGA GRADO I</b>	Paulina	Posterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento moderado de Staphylococcus spp. (No aureus)
	Dulce María	Anterior Derecho	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)
<b>TESTIGA GRADO II</b>	Selena	Anterior Derecho	Crecimiento escaso de Estafilococos coagulasa positiva	Crecimiento moderado de Estafilococos coagulasa positiva.
	Corazón	Anterior Izquierdo	Crecimiento escaso de Escherichia coli.	Crecimiento moderado de Staphylococcus spp. (No aureus)
<b>TESTIGA GRADO III</b>	Verónica	Anterior Izquierdo	Crecimiento moderado de Streptococcus agalactiae.	Crecimiento abundante de Streptococcus agalactiae.
	Manzana	Anterior Derecho	Sin Desarrollo hasta las 72 horas de incubación.	Crecimiento escaso de Staphylococcus spp. (No aureus)

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En los cuadros N° 5, 6, 7, 8, se observa que mediante el cultivo de las muestras en sus diferentes grados de mastitis se obtuvo el germen bacteriano aislado de las muestras obtenidas de los diferentes cuartos de la glándula mamaria, antes y después de la aplicación de los flavonoides. Así, se establece como objetivo 10.000 UFC/ml. para una leche de buena calidad, y el recuento de microorganismos coliformes totales y enterobacterias spp., como indicadores de la higiene de la rutina de ordeño, identificados como patógenos ambientales. Estos microorganismos están presentes en el estiércol y en el medio ambiente. Por lo tanto, su presencia en la leche se debe a un deficiente lavado de los pezones sucios, o por caída de las unidades de ordeño al piso (contaminación). La presencia de estas bacterias indican falta de higiene, una leche de buena calidad debe tener <100 coliformes totales/ml de leche. Además, se identificó Staphylococcus spp, que son patógenos que tienen su origen en la glándula mamaria, por lo tanto son indicadores de infecciones intramamarias productoras de mastitis subclínica diagnosticada. La ausencia de estos patógenos en un análisis no necesariamente indica que no hay ubres infectadas, estos patógenos y ante todo los Staphylococcus spp se eliminan en forma esporádica. No se identificaron bacterias termodúricas en las muestra de la leche. Sin embargo, se considera como objetivo para una leche de buena calidad 200 UFC/ml de bacterias termodúricas, que se corresponde por lo reportado por (García, 2004).

**Cuadro N° 9, antibiograma de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3.**

Grados de mastitis	Nombre	Cuarto afectado	Sensible	Intermedio	Resistente
<b>GRADO I</b>	Ramona	Anterior Izquierdo	Cefquinome, Gentamicina, Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefalexina, Sulfatrimetoprim		Tetraciclina, Cloxacilina, Lincomicina.
	Primor	Posterior Derecho	Cefquinome, Tetraciclina, Amoxicilina.		Lincomicina, Cloxacilina.
	Primor	Anterior Izquierdo	Amoxicilina + Ac, Clavulánico, Cefquinome, Penicilina,	Ampicilina.	
	Novilla	Anterior Derecho	Cefquinome, Amoxicilina + Ac. Clavulánico,		Cloxacilina.
<b>GRADO II</b>	Melinda	Anterior Derecho	Cefquinome, Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefalexina, Lincomicina.	Penicilina.	Ampicilina, Sulfatrimetoprim.
	Ramona	Posterior Izquierdo	Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefalexina, Sulfatrimetoprim, Tetraciclina.		Cloxacilina
	Chiquita	Anterior Izquierdo	Cefquinome, Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Gentamicina, Cefalexina, Sulfatrimetoprim.	-	Tetraciclina, Lincomicina, Cloxacilina.
<b>GRADO III</b>	Griega	Posterior Izquierdo	Cefuroxima, Cefoxitina (30 mg), Ceftriaxona, Cefotaxima,	Cefalexina, Cefazolina (30mcg), Cefalotina, Cefaclor, ,	Amoxicilina + Ácido Clavulanico, Sulfatrimetoprim,
	Susy	Anterior Derecho	-	-	-
	Silvia	Anterior Izquierdo	-	-	-
	Julieta	Anterior Derecho	Cefuroxima, Cefoxitina - Meticilina, Ceftriaxona, Cefotaxima.	Cefalexina, Cefazolina (30mcg), Tetraciclina,	Amoxicilina + Ácido Clavulanico, Ampicilina + Sulbactam,
	Labrador a	Anterior Derecho	Cefuroxima, Cefoxitina (30 mcg), Ceftriaxona, Cefotaxima, Cefapirina,	Netilmicina, Sisomicina, Amikacina.	Colistina, Polixima B, , Ampicilina + Sulbactam,
	Guayaba	Posterior Izquierdo	Cefuroxima, Cefoxitina (30 mcg), Ceftriaxona, Cefotaxima,	Netilmicina, Noemicina,	Amoxicilina + Ácido Clavulanico,
	Sargenta	Anterior Izquierdo	Cefuroxima, Cefoxitina (30 mg), Cefaclor, Cefadroxilo, Cefradina, Cefalonium,	Florfenicol, Cloranfenicol, Dapsona, Tilosina.	Amoxicilina + Ácido clavulánico, Colistina, Polimixima B, Doxyciclina,
	Gema	Posterior Derecho	Cefuroxima, Cefoxitina (30 mcg), Ceftriaxona, Cefotaxima, Netilmicina, Neomicina, Gentamicina, Sisomicina, a	Cefalexina, Cefazolina Linezolid, Clindamicina- , Polimixima B	Amoxicilina + Ácido Clavulanico, Sulfatrimetoprim, Ampicilina,

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

**Cuadro N°10, Antibiograma de mastitis subclínica grado 1, 2 y 3 grupo testigo.**

Grados de mastitis	Nombre	Cuarto afectado	Sensible	Intermedio	Resistente
<b>TESTIGO GRADO I</b>	Paulina	Posterior Derecho	Cefquinome, Amoxicilina + Ac.	-	Cloxacilina, Sulfatrimetoprim.
	Dulce María	Anterior Derecho	Cefquinome, Tetraciclina, Cefalexina, Lincomicina,	-	Cloxacilina.
<b>TESTIGO GRADO II</b>	Selena	Anterior Derecho	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
	Corazón	Anterior Izquierdo	Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefquinome, Lincomicina.	-	Cloxacilina, Sulfatrimetoprim.
<b>TESTIGO GRADO III</b>	Verónica	Anterior Izquierdo	Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefquinome, Cefalexina, Sulfatrimetoprim.	Penicilina.	Ampicilina, Lincomicina.
	Manzana	Anterior Derecho	-	-	-

*FUENTE: Directa  
Elaborado por: CARRERA, Rocío, 2017*

En los cuadros N° 9 y 10, se observa el antibiograma de las muestras procesadas respecto a mastitis subclínica en sus diferentes grados (I, II, III), en donde se puede evidenciar que para identificar la sensibilidad de las bacterias se han dividido en sensible, intermedio y resistente; por lo tanto el antibiograma consiste en enfrentar un inóculo bacteriano estandarizado a una única o a diferentes concentraciones de antibiótico. La interpretación de los resultados obtenidos permite clasificar a los microorganismos en categorías clínicas: sensibles, intermedios o resistentes. Hay que tener en cuenta que no siempre un valor de CMI (concentración mínima inhibitoria) más bajo indica mayor actividad de este antimicrobiano, ya que las CMI que definen la sensibilidad o resistencia son diferentes para cada especie bacteriana y cada antimicrobiano. Si un microorganismo es sensible indica que con las dosis habituales se espera una evolución favorable de la infección, siempre que se alcancen valores adecuados en el lugar de la infección, lo que en ocasiones no es posible. Por el contrario, si el microorganismo es intermedio o resistente, es probable que la evolución sea desfavorable. La interpretación de la sensibilidad predice mejor el fracaso (cuando es resistente) que el éxito de un tratamiento. (Cercenado, 2010)

## 10.- DISCUSIÓN



Con respecto al análisis del Recuento de Células Somáticas (RCS) en el pre- experimento, es decir, antes de la aplicación de los flavonoides con disímiles grados de mastitis subclínica; se determina que estos valores se los utiliza constantemente como indicadores o medida de la calidad de la leche, niveles bajos determinarían una leche normal y niveles altos una leche anormal como consecuencia de una infección intramamaria (mastitis clínica o subclínica grado I,II,III). Así, en relación a los promedios ponderados de RCS se encontraron diferencias entre los cuartos. No existen estudios comparativos entre los cuartos de la ubre que demuestren diferencias en sanidad individual, pero estos hallazgos permiten caracterizar su sanidad e inmunidad.

Por lo tanto, comparando los resultados con estudios realizados en leche cruda en sistemas de lechería especializada, Piñeros *et,al* 2005 encontraron recuentos de 329.000 a 463.000 CS/ml. En este estudio los resultados fueron más altos, oscilando en el grado I 27.193.05 CS/ml, en el grado II 11.637.033 CS/ml, y en el grado III 65.080.000CS/ml. Lo que permite inferir que los promedios de RCS y mastitis están directamente relacionados al manejo y sanidad de ubre individual. En relación al análisis del Recuento de Células Somáticas RCS en el post- experimento, es decir, posterior a la aplicación de los flavonoides en los cuartos con disímiles grados de mastitis subclínica; en grado I 53.0689CS/ml, grado II 740.151CS/ml, y grado III 147.000.000CS/ml, se determina que respecto al efecto generado por los flavonoides no existen estudios comparativos, así en los promedios ponderados de RCS se encontraron diferencias entre cada uno de los cuartos de la ubre respectivamente. Por lo tanto, comparando los resultados con estudios realizados por Piñeros *et, al* 2005 (329.000 a 463.000 CS/ml) y los resultados obtenidos en el pre-experimento (469.415 a 969.210 CS/ml) fueron relativamente iguales (415,00 a 1073,08 CS/ml). Lo que permite inferir que los promedios de RCS y la mastitis están directamente relacionados al manejo y sanidad de ubre individual. Sin embargo, se consideraría que existe efecto bacteriostático de los flavonoides. Comparando nuestros resultados con los reportes internacionales, los estudios europeos reportan RCS en tanque que oscilan entre 100.000 y 251.000 Hillerton y Berry (2004); Østerås y Sølverød (2005); Berry *et al.*, (2006), los canadienses entre 155.000 y 268.000 Sargeant *et al.*, (1988); CDC (2008); Elmoslemany *et al.*, (2009) y los estadounidenses entre 206.000 y 363.000 CS/ml Norman *et al.*, (2000), Van Sheik *et al.*, (2002); Jarayao *et al.*, (2004). Importante destacar que estos son muy inferiores a los reportados en esta investigación, lo que representaría

un desafío en el tratamiento y desarrollo de procesos de mejoramiento de la calidad sanitaria de leche para alcanzar niveles internacionales de RCS.

Con respecto al análisis del recuento de organismos mesofílicos aerobios - Unidades Formadoras de Colonia UFC en el pre-experimento, es decir, antes de la aplicación de los flavonoides en los cuartos con disímiles grados de mastitis subclínica; se determina que estos valores se los utiliza constantemente como indicadores o medida de la calidad de la leche, niveles bajos determinarían una leche normal y niveles altos una leche anormal como consecuencia de una infección intramamaria (mastitis clínica o subclínica grado I,II,III), además es una medida de las condiciones de higiene en la producción de leche, donde conteos bacterianos inferiores a 10.000 UFC/ml se considera leche de buena calidad, < 1000 excelente y conteos inferiores a 100.000 UFC para mantener el permiso de venta de leche. Así, respecto a los promedios ponderados de UFC se encontraron diferencias entre los cuartos respectivamente. No existen estudios comparativos entre los cuartos de la ubre que demuestren diferencias en sanidad individual, pero estos hallazgos permiten caracterizar su sanidad e inmunidad. Por lo tanto, los resultados obtenidos en leche cruda en el ensayo determinan recuentos de grado I 5.140, grado II 14.676.490 y III 35.000 UFC/ml. En el pre-experimento, mientras posterior a la aplicación de los flavonoides el recuento de bacterias fue de grado I 13.380, grado II 2.000.203 y grado III 2.145 UFC/ml. Lo que permite inferir que los promedios de UFC y mastitis están directamente relacionados al manejo y sanidad de ubre individual. Por lo tanto, se determina que el efecto generado de los flavonoides sobre la carga bacteriana es de tipo bactericida, determinado por los rangos de UFC homogéneos. Comparando nuestros resultados con los reportes internacionales, post tratamiento (flavonoides) cumplió con las normas internacionales exigidas por la Comunidad Europea y Estados Unidos para leche cruda (máximo 100.000 UFC/ml). Adicionalmente, comparando los parámetros del estudio con los encontrados en la literatura, los promedios de UFC de este trabajo fueron mucho menores a los encontrados por Calderón *et al.*, (2006) y Piñeros *et al.*, (2005), respectivamente. (1.179.000 y 175.000 UFC).

## **11.- CONCLUSIONES**

A partir de los resultados obtenidos se concluye que:

- La utilización de los flavonoides en relación a los diferentes grados de mastitis subclínica 1, 2 y 3, determino una correlación positiva de disminución RCS y UFC respecto a la sanidad de la ubre, posibilitando su uso en el tratamiento de esta patología.
- Al análisis de laboratorio se obtuvieron los distintos promedios en relación a la mastitis subclínica; en el grado I; 5.140 UFC/ml, grado II; 14.676.490 UFC/ml y en el grado III; 35.000 UFC/ml pre-aplicación de los flavonoides; mientras que posterior a la aplicación de los flavonoides en el grado I se obtuvieron valores de 13.380 UFC/ml, grado II 2.000.203 UFC/ml y grado III 2.145 UFC/ml. Lo que permite inferir que los flavonoides poseen efecto bactericida en la glándula mamaria.
- En relación al análisis del Recuento de Células Somáticas RCS en la pre-aplicación del flavonoide se obtuvieron en el grado I 27.193.05 CS/ml, en el grado II 11.637.033 CS/ml, y en el grado III 65.080.000CS/ml, y en la post-aplicación del flavonoide, es decir, posterior a la aplicación de los flavonoides en los cuartos afectados se obtuvo en el grado I 53.0689 CS/ml, grado II 740.151 CS/ml, y grado III 147.000.000 CS/ml, mediante los resultados obtenidos se determinó que a las 12 horas las células somáticas elevan su cantidad notablemente como reacción a la aplicación intramamaria del flavonoide, sin embargo a las 48 horas estos valores disminuyen.
- Las especies bacterianas más incidentes en las afecciones mamarias aisladas en el presente estudio mediante el cultivo fueron: *Staphylococcus* spp, *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella oxytoca*. responsables de mastitis de tipo contagioso. Así, como de las bacterias responsables de mastitis de tipo ambiental que se aislaron fue: *E. coli* y *Klebsiella*, para lo cual se realizó el antibiograma respectivo, para identificar el fármaco al que presentan sensibilidad o resistencia las bacterias aisladas.

## RECOMENDACIONES

Con base al estudio realizado se recomienda que:

- Para la dilución del flavonoide se debe evitar que el vehículo del flavonoide sea a base de Cloruro de sodio, puesto que causa reacciones adversas acidificando la leche y alterando resultados. Se recomienda la utilización de agua bidestilada como vehículo o solvente
- La dilución del flavonoide se la debe realizar 48 horas pre-aplicación y se la debe mantener en refrigeración a 4 grados centígrados, esto se lo realiza para lograr la dilución total del flavonoide.
- La toma de muestra de la post-aplicación se la debe realizar a las 48 horas, puesto que a las 12 horas no se pueden observan cambios marcados en las UFC y RCS.
- Se recomienda realizar ensayos en relación a la frecuencia de aplicación de flavonoides (3 aplicaciones cada 24 horas) respecto al tratamiento de mastitis subclínica con antibióticos.

## **12.- BIBLIOGRAFIA**

- Agricultura, M. (agosto de 2014). *Dane*. Obtenido de [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/insumos\\_factores\\_de\\_produccion\\_ago\\_2014.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/insumos_factores_de_produccion_ago_2014.pdf)
- Alarcon, C. (2012). *Polifenoles*. Obtenido de [https://alojamientos.uva.es/guia\\_docente/uploads/2013/470/45820/1/Documento45.pdf](https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2013/470/45820/1/Documento45.pdf)
- ÁLVAREZ, E. (2016). *Bioquimica*. Obtenido de [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_articulo=13054406&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v22n10a13054406pdf001.pdf&ty=95&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13054406&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v22n10a13054406pdf001.pdf&ty=95&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es)
- Álvarez, G. (2012). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2012000300005](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2012000300005)
- Andrade, R. (4 de Agosto de 2014). *Redalyc*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/959/95931404001.pdf>
- Aragadvay, G. (2015). *UTA*. Obtenido de <http://repo.uta.edu.ec/handle/123456789/18364>
- Argudo, D. (2012). *Universidad de Cuenca*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3320>
- Avila, S. (2010). *ANATOMIA Y FISILOGIA DE LA GLANDULA MAMARIA*. Obtenido de [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_bovina\\_de\\_leche/produccion\\_bovina\\_leche/110-anatomia.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_bovina_de_leche/produccion_bovina_leche/110-anatomia.pdf)
- Ayala, C. (2016). *Universidad Tecnologica de pereira*. Obtenido de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/6148>
- Ayala, L. (enero de 2016). *Universidad Tecnologica de Pereira*. Obtenido de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6148/6362142A973.pdf?sequence=1>
- Bedolla, J. (AGOSTO de 2010). *REDVET*. Obtenido de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908/090904.pdf>
- Bedolla, P. (21 de Noviembre de 2011). *REDVET*. Obtenido de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040805.pdf?q=lechera>
- Butendieck, N. (2010). *REVISTA VETERINARIA CARRILLANCA*. Obtenido de <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR22423.pdf>
- Cartaya, O. (2011). *redalyc*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>
- Castañón, N. (2010). *academia de fisica*. Obtenido de <https://sites.google.com/site/fisicabctis162/home/juicios-deductivos-e-inductivos-metodos-de-investigacion-cientifico-y-cientifico-experimental>
- Cercenado, E. (7 de julio de 2010). *Microbiologia*. Obtenido de <http://www.apcontinuada.com/es/el-antibiograma-interpretacion-del-antibiograma/articulo/80000504/>
- Cevallos, D. (2015). *flavonoides*. Obtenido de <http://es.slideshare.net/coniconstanzaaaa/flavonoides-2015>
- Cuarto, U. N. (2015). *Scielo*. Obtenido de <http://www.scielo.cl/pdf/amv/v47n1/art03.pdf>

- Cuzco, G. (2015). *UTA*. Obtenido de <http://redi.uta.edu.ec/bitstream/123456789/18364/1/Tesis%2031%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20343.pdf>
- Duarte, J. (2015). *Scielo*. Obtenido de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2340-98942015004400002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942015004400002)
- Echeverry, J. (2010). *Agrobit*. Obtenido de [http://www.agrobit.com/Info\\_tecnica/Ganaderia/prod\\_lechera/GA000019pr.htm](http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/prod_lechera/GA000019pr.htm)
- Escamilla, C. (2010). *Medigraphic*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un092g.pdf>
- Escandon, C. (marzo de 2011). *El libro blanco de la leche y sus productos lacteos*. Obtenido de [http://www.canilec.org.mx/descarga\\_archivos\\_publico/Libro\\_Blanco\\_mail.pdf](http://www.canilec.org.mx/descarga_archivos_publico/Libro_Blanco_mail.pdf)
- Espadas, M. (2011). *Anatomia de la ubre*. Obtenido de [http://www.remugants.cat/2/upload/anatomia\\_braguer\\_i\\_produccion\\_llet.pdf](http://www.remugants.cat/2/upload/anatomia_braguer_i_produccion_llet.pdf)
- Estrada, R. (2012). *Salud*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/salmen/sam-2012/sam125d.pdf>
- Fernández, O. (2012). *Sitio Argentino de Producción Animal*. Obtenido de Revista veterinaria REDVET: [http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/78-mastitis.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf)
- Ferrer, J. (2010). *tecnicas de investigacion*. Obtenido de <http://metodologia02.blogspot.com/p/tecnicas-de-la-investigacion.html>
- Gonzales, A. (2010). *salud*. Obtenido de <http://saludok.com/flavonoides-queson.html>
- Hoyos, N. (2016). *UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA*. Obtenido de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6148/6362142A973.pdf?sequence=1>
- Kutchynskaya, L. (2010). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592010000500008](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000500008)
- Leal, M. (2014). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262014000100020](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262014000100020)
- Lopez, T. (2016). *Fitoterapia*. Obtenido de [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_articulo=13028951&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v21n04a13028951pdf001.pdf&ty=119&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13028951&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v21n04a13028951pdf001.pdf&ty=119&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es)
- Lozano, J. (2012). *Ciencia y salud*. Obtenido de <http://cienciaysalud.laverdad.es/la-alimentacion/la-nutricion-ciencia/flavonoides-article.html>
- Mangandi, V. (2010). *UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR*. Obtenido de <http://ri.ues.edu.sv/1645/1/13100627.pdf>
- Manjarrez, A. (2012). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242012000200008](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000200008)
- Mansilla, A. (2010). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-28072001000200006](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072001000200006)

- Martínez, S. (2010). *http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf*. Obtenido de <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
- Mosquera, J. (mayo de 2015). *Universidad Central del Ecuador*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/handle/25000/6968>
- Navarro, M. (2012). *Albeitar*. Obtenido de <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/8862/id-empresas/antioxidantes-metabolicos-en-vacuno-de-leche.html>
- Nieto, D. (2012). Manual de Buenas Prácticas de ordeño. En D. Nieto, *Lechería* (págs. 94-98). Buenos Aires - Argentina: Estudio ab.
- Paz, J. L. (2009). *Universidad Nacional de Loja*. Obtenido de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5717/1/Naranja%20Paz%20Jos%c3%a9.pdf>
- Pérez, L. G. (2011). *Scielo*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002003000100007&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002003000100007&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Pesantes, D. (2016). *Universidad de Cuenca*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/25537>
- Ponce, A. R. (2011). *Scielo*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2011000100009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2011000100009)
- Rivera, A. (abril de 2014). *Repositorio Universidad Nacional Agraria*. Obtenido de <http://repositorio.una.edu.ni/2741/1/tnl73r621.pdf>
- Ruegg, P. (2011). *Milk Quality Factsheet*. Obtenido de [http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/streptococcus-agalactiae\\_spanish.pdf](http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/streptococcus-agalactiae_spanish.pdf)
- Ruiz, R. A. (2010). *Mastitis*. Obtenido de [http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis\\_bacteriana.pdf#page=1&zoom=auto,-99,798](http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf#page=1&zoom=auto,-99,798)
- Soto, M. M. (11 de Septiembre de 2015). *Universidad Nacional de Trujillo*. Obtenido de <http://documentslide.com/documents/clase-de-lignan-y-flavonoides-2012-impresion.html>
- Toapanta, D. (2014). *UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR*. Obtenido de <http://dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/1236/1/0.30.pdf>
- Uribe, J. C. (2014). *Corporación universitaria Lasallista*. Obtenido de [http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1088/1/Parametros\\_zootecnicos\\_prevalencia\\_mastitis\\_hatos\\_lecheros.pdf](http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1088/1/Parametros_zootecnicos_prevalencia_mastitis_hatos_lecheros.pdf)
- Voigt, M. F. (2013). *Scielo*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962013000300016&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962013000300016&script=sci_arttext&tlng=pt)
- W. Meyer. (21 de Septiembre de 2012). *noemagico*. Recuperado el 8 de Julio de 2015, de noemagico: <http://noemagico.blogia.com/2006/092201-la-investigacion-experimental.php>

### **Bibliografía citada.**

- Arguello, Enrique. 2008, Universidad Nacional Agraria, “Evaluación de la dosis efectiva de la Propolina en el tratamiento de la Mastitis bovina en la finca La Luna, en el municipio de Boaco.
- Ordoñez, Carlos. 2015, Universidad de San Carlos de Guatemala, “Evaluación del efecto antimicrobiano de la miel de abeja pura y dos concentraciones, administradas vía intramamaria, en ganado lechero con mastitis subclínica; en san José Pínula, Guatemala.”.

### **Bibliografía libros.**

- Barberán, T. (2012). Estudio sobre el contenido en flavonoides de las mieles de La Alcarría. . En T. Barberán, Su aplicación a la caracterización geográfico-botánica (págs. 35-37). Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Cheppi, A. (2007). LECHERIA. En D. S. Massoni, LECHERIA (págs. 92-95). Argentina: IDIA XXL.
- Lizaur, M. M. (2011). LA PRODUCCION DE LECHE. En D. F. Cabrera, El libro blanco de la leche y productos lacteos. (pág. 11). Mexico: CANILEC.
- Nieto, D. (2012). Manual de Buenas Prácticas de ordeño. En D. Nieto, Lechería (págs. 94-98). Buenos Aires - Argentina: Estudio ab.
- Wattiaux, M. A. (2006). Guía Técnica Básica de lechería Universidad de Wisconsin-Madison. En W. T. Howard, Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera (pág. 84). Lima: Wisconsin-Madison.

## **13. ANEXOS**



## ANEXO 1



Universidad  
Técnica de  
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

### *AVAL DE TRADUCCIÓN*

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del artículo científico al Idioma Inglés presentado por la señorita: CARRERA ALMACHI ROCÍO DEL PILAR, cuyo título versa “**EVALUACIÓN DE LOS FLAVONOIDES (1500mg) COMO TRATAMIENTO ALTERNATIVO EN LA MASTITIS SUBCLÍNICA GRADO 1, 2, 3 EN VACAS EN ORDEÑO**”, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, agosto del 2017

Atentamente,

.....  
Msc. Alison Mena Barthelotty  
**DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS**  
**C.C. 0501801252**



CENTRO  
DE IDIOMAS

## HOJA DE VIDA



### 1. DATOS PERSONALES:

NOMBRES Y APELLIDOS: Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso  
 FECHA DE NACIMIENTO: 24 / ABRIL / 1979  
 CÉDULA DE CIUDADANÍA: 0502236623  
 NACIONALIDAD: Ecuatoriana  
 NUMEROS TELÉFONICOS: 0995407023  
 E-MAIL: [mgutierrezreinoso@hotmail.com](mailto:mgutierrezreinoso@hotmail.com)

### 2. ESTUDIOS REALIZADOS:

NIVEL PRIMARIO : Escuela Isidro Ayora  
 NIVEL SECUNDARIO: Instituto Superior Vicente León  
 NIVEL SUPERIOR : Universidad Técnica de Cotopaxi  
 NIVEL POSGRADO: Universidad Tecnológica Equinoccial – Maestría en producción Animal.

### 3. NINVEL POSGRADO:

- . Diploma: Universidad Austral de Chile – Facultad de Ciencias veterinarias - CENEREMA
- . Diploma: Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Complutense de Madrid – España.
- . Estancia: Instituto de Reproducción Animal – INIA – Madrid España.
- . Estancia: Laboratorio de Fertilización In vitro- INIA – Madrid España.
- . Estancia: Instituto de Reproducción Animal – IRAC – Córdoba - Argentina
- . Colaboración Científica: Laboratorio 108 de células troncales y transgénesis INIA- Madrid-España.
- . Cursos Varios de capacitación: Argentina – Chile, Perú, Colombia, Ecuador y España.

.....  
**Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso**

**C.I.050223662-3**

**HOJA DE VIDA****DATOS PERSONALES**

**NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS:** Carrera Almcahi Rocío del Pilar

**CÉDULA DE CIUDADANIA:** 050379467-9

**FECHA DE NACIMIENTO:** 19 /ENERO/1993

**LUGAR DE NACIMIENTO:** Cotopaxi/Saquisilí/ Saquisilí

**ESTADO CIVIL:** Soltera

**DIRECCIÓN:** Saquisilí, calle 24 de mayo y quito.

**TELÉFONO:** 032-722-307/0993547327

**E-MAIL:** rocio.carrera9@utc.edu.ec

**FORMACIÓN ACADÉMICA:**

**ESTUDIOS PRIMARIOS:** Escuela Fiscal de Niñas Republica de Colombia.

**ESTUDIOS SECUNDARIOS:** Colegio Nacional Saquisilí

**ESTUDIOS SUPERIORES:** Universidad Técnica de Cotopaxi

.....  
Firma

## FICHA DE CAMPO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI					
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES					
MEDICINA VETERINARIA					
FICHA DE CAMPO					
Fecha de la Prueba de CMT: .....			Encargado de la prueba CMT: .....		
NOMBRE DE LA VACA	CUARTO ANTERIOR IZQUIERDO (AI)	CUARTO ANTERIOR DERECHO (DI)	CUARTO POSTERIOR IZQUIERDO (PI)	CUARTO POSTERIOR DERECHO (PD)	OBSERVACIONES
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					

**ANEXO 5:** Diagnóstico de mastitis subclínica en todo el hato de ordeño (CMT).



**ANEXO 6:** Toma de muestra de leche



**ANEXO 7:** Flavonoides y muestras de leche.



**ANEXO 8:** Dilución del flavonoide



**ANEXO 9:** Aplicación del tratamiento a base de flavonoides en las vacas diagnosticadas con mastitis subclínica.



**ANEXO 10:** Almacenamiento de muestras en cooler



**ANEXO 11:** Recepción de muestras de leche en el laboratorio





