

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**



**“DESINFECTANTE PRE Y POST-ORDEÑO A BASE DE SÁBILA  
(*Aloe vera*) EN LA PREVENCIÓN DE MASTITIS BOVINA”**

Presentado por:

**SOFÍA CRISTINA MINAYA DUFFOÓ**

Tesis para optar el Título de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA**















Lima - Perú

**2023**

**Document Information**

<b>Analyzed document</b>	Tesis - Sofia Minaya Duffoó 27.01.23.docx (D160035235)
<b>Submitted</b>	3/3/2023 9:58:00 PM
<b>Submitted by</b>	Maria Helena Souza de Abreu
<b>Submitter email</b>	mhabreu@lamolina.edu.pe
<b>Similarity</b>	4%
<b>Analysis address</b>	mhabreu.unalm@analysis.arkund.com

**Sources included in the report**

<b>SA</b>	<b>TRABAJO DE GRADO MASTITIS 01_06_22_II.docx</b> Document TRABAJO DE GRADO MASTITIS 01_06_22_II.docx (D138928668)		<b>3</b>
<b>SA</b>	<b>Proyecto de Medicina Interna.docx</b> Document Proyecto de Medicina Interna.docx (D137571821)		<b>1</b>
<b>SA</b>	<b>proyecto para trabajar en farmacología (1).docx</b> Document proyecto para trabajar en farmacología (1).docx (D115550451)		<b>2</b>
<b>SA</b>	<b>TRABAJO DE GRADO DE PREVALENCIA DE MASTITIS John dominguez y Ingrid escobar.docx</b> Document TRABAJO DE GRADO DE PREVALENCIA DE MASTITIS John dominguez y Ingrid escobar.docx (D127692479)		<b>3</b>
<b>SA</b>	<b>ETIOLOG%C3%8DA+Y+CAUSAS+DE+INFECCIONES+INTRAMAMARIAS+%28ENFOQUE+MICROBIOL%C3%93GICO%29+%281%29.pdf</b> Document ETIOLOG%C3%8DA+Y+CAUSAS+DE+INFECCIONES+INTRAMAMARIAS+%28ENFOQUE+MICROBIOL%C3%93GICO%29+%281%29.pdf (D148598188)		<b>2</b>
<b>SA</b>	<b>USO DEL ALLIUM SATIVUM EN EL CONTROL DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS LECHERAS.docx</b> Document USO DEL ALLIUM SATIVUM EN EL CONTROL DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS LECHERAS.docx (D142410547)		<b>1</b>
<b>SA</b>	<b>Avance 15 Juan Pablo Silva.docx</b> Document Avance 15 Juan Pablo Silva.docx (D141982633)		<b>2</b>
<b>SA</b>	<b>Ana Belen Toasa Canseco-Informe final proyecto investigacion.pdf</b> Document Ana Belen Toasa Canseco-Informe final proyecto investigacion.pdf (D142526033)		<b>1</b>
<b>SA</b>	<b>Manejohigi%C3%A9nicodelacolecci%C3%B3ndeleche+.pdf</b> Document Manejohigi%C3%A9nicodelacolecci%C3%B3ndeleche+.pdf (D148596837)		<b>2</b>
<b>SA</b>	<b>TESIS FINAL.docx</b> Document TESIS FINAL.docx (D154986398)		<b>1</b>
<b>SA</b>	<b>ANDRESZUÑIGA .docx</b> Document ANDRESZUÑIGA .docx (D153288483)		<b>4</b>
			
<b>SA</b>	<b>INFECCION INTRAMAMARIA SUBCLINICA EN VACAS.docx</b> Document INFECCION INTRAMAMARIA SUBCLINICA EN VACAS.docx (D21778901)		<b>2</b>
<b>SA</b>	<b>Guía de Buenas Prácticas en el ordeño mecánico como herramienta para el manejo y control de la mastitis bovina..docx</b> Document Guía de Buenas Prácticas en el ordeño mecánico como herramienta para el manejo y control de la mastitis bovina..docx (D108445576)		<b>2</b>
<b>W</b>	URL: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17471788/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17471788/</a> Fetched: 8/27/2021 11:19:15 PM		<b>1</b>

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE PRODUCCIÓN ANIMAL**

**“DESINFECTANTE PRE Y POST-ORDEÑO A BASE DE SÁBILA  
(*Aloe vera*) EN LA PREVENCIÓN DE MASTITIS BOVINA”**

Presentado por:

**SOFÍA CRISTINA MINAYA DUFFOÓ**

Tesis para optar el Título de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Otto Zea Mendoza

**PRESIDENTE**

Mg.Sc. José Almeyda Matías

**MIEMBRO**

Mg.Sc. Segundo Gamarra Carrillo

**MIEMBRO**

Ph.D. María Helena Souza de Abreu

**ASESOR**

Mg.Sc. Jorge Vargas Morán

**CO ASESOR**

## DEDICATORIA

*A Dios, por iluminar siempre mi camino.*

*A mi familia, por todo lo que hacen por mí.*

*A Abel, por ser mi soporte e impulso.*

*A mí, por perseverar hasta cumplir mis objetivos.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Mg. Sc. Jorge Vargas, mi co-asesor y profesor, por el apoyo y tiempo, así como por compartirme sus conocimientos y experiencia para la elaboración de esta tesis.

A la Ph.D. Maria Helena Souza de Abreu, por ir más allá de la labor de un asesor, por brindarme su tiempo, confianza, apoyo incondicional y su constante motivación para mejorar.

A mi familia, por su amor, motivación, apoyo, paciencia y presencia a lo largo de este proceso.

A Abel González, por creer en mí y el motivarme siempre a superarme y cumplir mis metas.

A todos mis compañeros, quienes fueron mi apoyo durante este proceso, en especial a mis mejores amigos Leandro Román y Amada del Carpio; a mis amigos Gonzalo Rojas, Sammy Velapatiño y Sebastián Molina.

A mis compañeros del Club de Juzgamiento La Molina, en especial a Daniel Alarco, Ayrton Lozano, Marco Hilasaca y Arnold Calampa, quienes me brindaron su tiempo, apoyo, conocimiento, motivación y amistad a lo largo de este proyecto.

A los profesores Fritz Trillo, María Elisa García y Teresa Alvarado por sus aportes para la elaboración de esta tesis.

Al establo de la Unidad Experimental de Zootecnia “Renato Zeppilli Ferrazza” (UEZRZF) por el apoyo en la selección de animales y durante el ordeño, y al Laboratorio de Ecología y Utilización de Pastizales (LEUP) por brindarme todas las facilidades mientras estuve allí.

## ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN .....	13
II.	REVISIÓN DE LITERATURA .....	15
2.1.	Mastitis bovina.....	15
2.1.1.	Respuesta innata.....	16
2.1.2.	Clasificación de la mastitis bovina .....	16
2.1.3.	Agentes causales.....	17
2.1.4.	Impacto productivo y económico .....	18
2.1.5.	Antecedentes de mastitis en el Perú .....	19
2.2.	Diagnóstico de mastitis .....	20
2.2.1.	Conteo de Células Somáticas (CCS).....	20
2.2.2.	California Mastitis Test (CMT).....	21
2.3.	Tratamiento de mastitis bovina .....	22
2.4.	Prevención.....	23
2.4.1.	Desinfectantes de pezones convencionales .....	24
2.4.2.	Desinfectantes de pezones naturales a base de plantas.....	24
2.5.	Sábila ( <i>Aloe vera</i> ) .....	26
2.5.1.	Morfología .....	26
2.5.2.	Composición y propiedades del gel.....	26
2.5.3.	Restricciones de uso .....	27
2.5.4.	Actividad antimicrobiana de la sábila ( <i>Aloe vera</i> ) .....	28
2.5.4.1.	Extracción del gel de <i>Aloe vera</i> .....	28
2.6.	Potencial uso del gel de sábila ( <i>Aloe vera</i> ) en la mastitis bovina .....	29
III.	METODOLOGÍA.....	31
3.1.	Lugar, duración y fecha de ejecución .....	31
3.2.	Animales experimentales .....	31
3.3.	Condiciones experimentales .....	32
3.4.	Materiales.....	33
3.5.	Metodología .....	34
3.5.1.	Estudios preliminares .....	34
3.5.1.1.	Determinación <i>in vitro</i> de la capacidad inhibitoria del <i>Aloe vera</i> .....	34
3.5.1.2.	Estudio de la reacción de la piel de pezón.....	34
3.5.2.	Preparación del desinfectante de pezones .....	35
3.6.	Tratamientos .....	35

3.7.	Evaluación de los tratamientos .....	36
3.7.1.	Determinación del efecto de los tratamientos en el conteo de células somáticas .....	36
3.7.2.	Determinación del efecto preventivo de los tratamientos .....	37
3.7.3.	Determinación de la efectividad de los tratamientos .....	37
3.7.4.	Evaluación económica .....	38
3.8.	Diseño estadístico .....	39
3.9.	Análisis estadístico.....	39
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
4.1.	Determinación del efecto de los tratamientos en el conteo de las células somáticas.....	40
4.2.	Determinación del efecto preventivo de los tratamientos.....	41
4.3.	Determinación de la efectividad de los tratamientos .....	43
4.4.	Evaluación económica .....	44
V.	CONCLUSIONES .....	46
VI.	RECOMENDACIONES .....	47
VII.	BIBLIOGRAFÍA .....	48
VIII.	ANEXOS .....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Escala de evaluación de CMT .....	32
Tabla 2: Descripción de tratamientos .....	36
Tabla 3: Efecto de la aplicación de los tratamientos por control en el conteo de células somáticas promedio (CS/mL) .....	40
Tabla 4: Efecto preventivo de los tratamientos.....	42
Tabla 5: Efectividad de los tratamientos.....	44
Tabla 6: Costo por litro de los desinfectantes pre y post-ordeño.....	45



## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Resultados de la prueba CMT .....	58
Anexo 2: Determinación <i>in vitro</i> de la capacidad inhibitoria del <i>Aloe vera</i> .....	57
Anexo 3: Resultados de la evaluación de la condición de la piel del pezón frente a dos concentraciones de desinfectante .....	59
Anexo 4: Resultados de prueba PortaSCC® .....	60
Anexo 5: Análisis de varianza del efecto de los tratamientos al día 0 en el conteo de células somáticas – Control Inicial .....	61
Anexo 6: Análisis de varianza del efecto de los tratamientos al día 30 en el conteo de células somáticas – Control Medio .....	63
Anexo 7: Análisis de varianza del efecto de los tratamientos al día 60 en el conteo de células somáticas – Control Final .....	65
Anexo 8: Efecto preventivo de los tratamientos .....	67
Anexo 9: Efectividad de los tratamientos .....	69

## RESUMEN

La antisepsia de los pezones, tanto pre-ordeño como post-ordeño, previene infecciones intramamarias. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la sustitución de un desinfectante de pezones comercial de yodo (7 000 ppm), pre y post-ordeño, por el extracto etanólico de gel de *Aloe vera* “sábila” (200 mg/mL) en la prevención de la mastitis bovina mediante los parámetros: conteo de células somáticas, efecto preventivo, efectividad y evaluación económica de los tratamientos. Se evaluaron 21 vacas Holstein en lactación. Se aplicaron 2 tratamientos simultáneamente en la misma ubre por 2 meses, asignando los pezones del lado derecho al desinfectante alternativo a base de sábila y los del lado izquierdo al desinfectante comercial iodóforo a manera de testigo. Las muestras de leche se tomaron mensualmente por 2 meses y fueron analizadas con la prueba PortaSCC®. El promedio de conteo células somáticas obtenido con los tratamientos testigo y alternativo fue de  $280\ 079.37 \pm 10\ 157.32$  y  $295\ 873.02 \pm 11\ 243.33$ , sin diferencias estadísticamente significativas en el efecto de los tratamientos sobre el conteo de células somáticas ( $P > 0.05$ ). El efecto preventivo fue de 61.11% y 64.28% para los tratamientos testigo y alternativo respectivamente, siendo este último 5.20% superior, sin diferencia significativa ( $P > 0.05$ ). En cuanto a la efectividad, el testigo y el alternativo presentaron 60.53% y 67.50%. Este último tuvo 11.51% más efectividad respecto al testigo, sin diferencia significativa ( $P > 0.05$ ). Los desinfectantes pre y post-ordeño a base de sábila representan el 94.61% y 93.72% de los costos de los desinfectantes iodóforos respectivamente. El desinfectante de pezones a base de extracto etanólico de gel de sábila (200 mg/mL) podría actuar como una alternativa efectiva para la prevención de mastitis bovina, ya que este producto no representa un riesgo para la producción animal ni el medio ambiente

**Palabras claves:** Desinfectante natural de pezones, prevención de mastitis bovina, *Aloe vera*, infección intramamaria, pre-sellador, sellador

## ABSTRACT

The antiseptics of the teats, both pre-milking and post-milking, prevent intramammary infections. The aim of the study was to evaluate the effect of substituting a commercial iodine teat disinfectant (7000 ppm), pre-milking and post-milking, for the ethanolic extract of *Aloe vera* gel (200 mg/mL) in the prevention of bovine mastitis through the parameters: somatic cell count, preventive effect, effectiveness and economic evaluation of the treatments. Twenty-one lactating Holstein cows were evaluated. Two treatments were applied simultaneously to the same udder for 2 months, assigning the right teats to the alternative disinfectant based on ethanolic extract of *Aloe gel* and the left side to a commercial iodophor disinfectant as a control. Milk samples were taken monthly for 2 months and analyzed using the PortaSCC® test. The average somatic cell count obtained with the control and alternative treatments was  $280\ 079.37 \pm 10\ 157.32$  and  $295\ 873.02 \pm 11\ 243.33$ , without significant differences between the effect of the treatments on the somatic cell count ( $P > 0.05$ ). The preventive effect was 61.11% and 64.28% for the control and alternative treatments respectively, the latter being 5.20% higher, with no significant difference ( $P > 0.05$ ). Regarding the efficacy, the control and the alternative appeared 60.53% and 67.50%. The latter was 11.51% more effective than the control, with no significant difference ( $P > 0.05$ ). Aloe-based pre- and post-milking disinfectants represent 94.61% and 93.72% of the costs of iodophor disinfectants, respectively. The teat disinfectant based on ethanolic extract of *aloe vera* gel (200 mg/mL) could act as an effective alternative for the prevention of bovine mastitis that do not represent a risk to animal production or the environment.

**Keywords:** Natural teat disinfectant, bovine mastitis prevention, *Aloe vera*, intramammary infection, pre-dipping, dipping

## I. INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es la respuesta inflamatoria de la glándula mamaria ocasionada por traumatismos o infecciones por microorganismos, siendo esta última la causa principal (Cheng & Han, 2020; De Vliegher *et al.* 2018). El principal agente etiológico de esta enfermedad es *Staphylococcus aureus* (Fiordalisi *et al.*, 2018; Gomes *et al.*, 2016).

Esta enfermedad multifactorial es de gran importancia en la industria láctea a nivel mundial, no solo debido a su alta prevalencia y la dificultad para su erradicación, sino también por su impacto en el bienestar del animal, la cantidad y calidad de la leche, la rentabilidad de la producción lechera y el potencial riesgo en la salud pública que representa (Andresen, 2001; Belay *et al.*, 2022). Es considerada la enfermedad más común y costosa en la industria lechera por las pérdidas económicas que genera debido a la disminución de la producción y la afectación de la calidad de la leche (Cheng & Han, 2020). Por tal motivo, la prevención adquiere un rol importante.

El pezón, a través de sus barreras físicas como el epitelio del pezón, el músculo del esfínter y el tapón de queratina, actúa como la primera línea de defensa frente a patógenos. No obstante, al momento del ordeño, se retira el tapón de queratina dejando el canal del pezón expuesto hasta unas horas tras el ordeño, lo cual representa un riesgo de penetración por microorganismos patógenos (Olivera-Angel *et al.*, 2020).

Se ha demostrado que existe una relación entre la colonización bacteriana de la superficie del pezón y el desarrollo de infecciones intramamarias (Bhakat *et al.*, 2020). La antisepsia de los pezones es la práctica preventiva más efectiva para las vacas en lactación (Fitzpatrick *et al.*, 2021). Esta medida higiénica, que implica la desinfección de los pezones del ganado lechero antes y después del ordeño con una solución germicida para reducir la colonización y contaminación por bacterias causantes de mastitis en la piel del pezón, permite reducir significativamente la aparición de nuevos casos (Ríos *et al.*, 2013).

Tanto la desinfección de los pezones pre-ordeño, cuanto post-ordeño, son importantes para la prevención de las infecciones intramamarias. Si bien los desinfectantes convencionales son efectivos en la reducción de la incidencia de infecciones intramamarias, existe una preocupación por el potencial incremento de residuos de estos en la leche, tales como cuando se usa el yodo como desinfectante (Chotigarpa *et al.*, 2019; Fitzpatrick *et al.*, 2021; Sharma *et al.*, 2014). En consecuencia, gran variedad de plantas y hierbas, como el ajo (*Allium sativum*) y el alfilerillo de pastor (*Erodium cicutarium*), han sido evaluadas para el uso en la prevención de la mastitis bovina debido a los agentes biológicos activos con acción antimicrobiana que proveen, con la ventaja de no generar resistencia tras un largo tiempo de exposición y baja toxicidad como sí lo hacen los químicos convencionales (Cheng & Han, 2020; Chotigarpa *et al.*, 2019; González *et al.*, 2021; Gomes & Henriques, 2016; Leyton *et al.*, 2013; Saddiq & Mohamed, 2019). Estudios realizados, como el de Forno-Bell *et al.* (2019), han demostrado el efecto antimicrobial del *Aloe vera* frente a bacterias asociadas a mastitis bovina, como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA).

El gel de sábila (*Aloe vera*) es un mucílago, producto natural extraído de la parte carnosa de las hojas de la sábila (Rodríguez *et al.*, 2006; Forno-Bell *et al.*, 2021). Cuenta con una serie de componentes, tales como polisacáridos y compuestos fenólicos, cuya interacción sinérgica le otorgan propiedades medicinales ampliamente conocidas, entre las cuales resaltan su poder antiinflamatorio, antimicrobiano, inmunosupresor y regenerador de la piel (Forno-Bell *et al.*, 2021; Hamman, 2008; Gao *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019). Estas propiedades convierten al *Aloe vera* en ideal para la elaboración de un potencial desinfectante de pezones (Fiordalisi *et al.*, 2018).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del desinfectante de pezones pre y post-ordeño a base de extracto etanólico de gel de *Aloe vera* “sábila” (200 mg/mL) como sustituto de un desinfectante yodóforo comercial (7 000 ppm) en la prevención de mastitis, siendo los objetivos específicos: determinar el efecto en el conteo de células somáticas, el efecto preventivo y efectividad de los tratamientos, y realizar una evaluación económica de los tratamientos.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Mastitis bovina

La mastitis es considerada una de las enfermedades más frecuentes y costosas del ganado lechero a nivel mundial (Gomes *et al.*, 2016; Gomes & Henriques, 2016; Jamali *et al.*, 2018). Asimismo, resulta una de las patologías más difíciles de controlar, debido al amplio número de agentes patógenos causales, las diferentes respuestas fisiológicas a estos (en variedad y magnitud), así como la variable eficacia de las medidas de control (Bogni *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2016).

La mastitis bovina es una respuesta inflamatoria de la glándula mamaria (Gomes & Henriques, 2016; Menzies & Ramanoon, 2001). Por lo general, es producto de la infección de tejido mamario por diversos agentes patógenos, los cuales pueden variar dependiendo de las condiciones climáticas y prácticas de manejo (Deb *et al.*, 2013; Gomes & Henriques, 2016). Sin embargo, también puede ser causada por lesiones y, con menor frecuencia, por alergia o neoplasias (Menzies & Ramanoon, 2001).

Esta patología causa importantes efectos perjudiciales en las características y calidad de la leche, el bienestar del animal y la rentabilidad del establo, y la convierten en una de las más grandes preocupaciones de la industria lechera (Belay *et al.*, 2022; Ruegg, 2017). De igual manera, tiene relevancia en la salud pública, debido a que representa un riesgo de intoxicaciones por fármacos usados para el tratamiento de la mastitis y presentes en la leche, así como zoonosis, por transmitir bacterias resistentes a los antimicrobianos (Belay *et al.*, 2022; Gomes *et al.*, 2016; Mordmuang *et al.*, 2019; Sánchez *et al.*, 2018).

### **2.1.1. Respuesta innata**

El término inmunidad innata hace referencia a los mecanismos de defensa inicial que actúan frente a la exposición a microorganismos patógenos de manera inmediata y no específica. Entre estos mecanismos se encuentran los factores constitutivos, barreras naturales, moléculas de reconocimiento, células, sistemas enzimáticos, fagocitosis e inflamación (Olivera-Angel *et al.*, 2020).

El pezón actúa como la primera línea de defensa frente a los microorganismos patógenos (Guerrero, 2017). Resultan de gran importancia las barreras físicas del pezón, que son defensas externas compuestas principalmente por el epitelio externo del pezón, músculo del esfínter y el tapón de queratina. El epitelio externo del pezón, cuando se encuentra intacto, se vuelve un medio inhibitorio del desarrollo de bacterias. Mientras que, el músculo liso del esfínter se contrae, manteniendo el cierre del canal del pezón tras el ordeño, impidiendo de esta manera la penetración de las bacterias. Asimismo, este cierre se sella con un tapón de queratina, producido por el epitelio cúbico, que recubre el canal del pezón actuando como obstrucción física además de tener actividad bacteriostática. Al momento del ordeño, se retira el tapón de queratina para permitir la apertura del canal del pezón y realizar la cosecha de la leche. Este canal permanece abierto al menos dos horas después de finalizado el ordeño (Olivera-Angel *et al.*, 2020; Paulrud, 2005).

### **2.1.2. Clasificación de la mastitis bovina**

En base a la presencia o ausencia de manifestaciones de signos clínicos, la mastitis bovina puede desarrollarse de forma clínica o subclínica respectivamente (Belay *et al.*, 2022; Tezera & Aman Ali, 2021). La manifestación de los signos de la mastitis bovina varía según factores relacionados al hospedero, así como el patógeno invasor, por lo que puede producirse de manera subclínica o clínica (dos Santos *et al.*, 2002; Leigh, 1999; Sánchez *et al.*, 2018). Ambas, las mastitis subclínica y clínica, producen una disminución en la producción de leche; sin embargo, difieren en la detectabilidad de los cambios producidos en el tejido glandular y/o la leche. La mastitis clínica produce cambios que pueden detectarse por medio de la inspección y/o palpación, tales como anomalías visibles en la leche (composición y apariencia) y/o la ubre. Mientras que, la mastitis subclínica es aquella que no evidencia cambios visibles, por lo que su detección requiere métodos

indirectos, ya sean de campo o de laboratorio (Andresen, 2001; Leigh, 1999; Sánchez *et al.*, 2018; Schrick *et al.*, 2001). Según lo indicado por Belay *et al.* (2022), la mastitis subclínica es la forma más común y se detecta a través del conteo alto de células somáticas.

Según su reservorio primario o el modo de transmisión, la mastitis puede ser clasificada en contagiosa o ambiental. La mastitis contagiosa tiene como fuente de contagio la glándula mamaria de la vaca infectada. Por el otro lado, los microorganismos causantes de mastitis ambiental tienen el hábitat del animal como su fuente de contagio (Bogni *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2016; Gomes & Henriques, 2016).

### **2.1.3. Agentes causales**

Los *Staphylococcus aureus* y los *Streptococcus spp.*, como *S. agalactiae*, bacterias Gram positivas, son los principales microorganismos causantes de mastitis contagiosa. Su fuente de contagio es la glándula mamaria de la vaca infectada, por lo que su diseminación se da durante el ordeño, debido a malas prácticas de higiene en el proceso. Por otro lado, los coliformes y las bacterias Gram negativas son los principales microorganismos causantes de mastitis ambiental, cuya fuente de contagio se encuentra en el hábitat del animal como el suelo, estiércol, entre otros. Entre los principales agentes causales de la mastitis ambiental se encuentran: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* y *Enterobacter*. También son patógenos ambientales algunas bacterias Gram positivas del género *Streptococcus* como *S. uberis*, *S. dysgalactiae* y *S. bovis* (Bogni *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2016; Gomes & Henriques, 2016; Harmon, 1994).

Comúnmente, la mastitis clínica es causada por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, y enterobacterias (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* y *Mycoplasma spp.*). Mientras que, patógenos del género *Staphylococcus*, a excepción del *S. aureus*, tales como *S. chromogenes*, *S. hyicus*, *S. epidermis* y *S. xylosus*, así como *Corynebacterium spp.*, están relacionadas a infecciones moderadas, que rara vez manifiestan signos clínicos (Bogni *et al.*, 2011; Gomes & Henriques, 2016).

Por lo general, las bacterias aisladas más comunes en mastitis bovina son las del género *Staphylococcus*, siendo la *S. aureus* el agente etiológico principal de la enfermedad



(Calderón & Rodríguez., 2008; Fiordalisi *et al.*, 2018; Gomes *et al.*, 2016). Las mastitis causadas por este patógeno pueden resultar ser difíciles de erradicar, debido a que esta bacteria posee la capacidad de evitar y manipular la respuesta inmune (Olivera-Angel *et al.*, 2020).

#### **2.1.4. Impacto productivo y económico**

La mastitis genera un impacto productivo, el cual depende de la forma (clínica o subclínica) y el momento de la lactación en la que se presenta, el patógeno involucrado, el riesgo de descarte o muerte prematura del animal y las probables fallas reproductivas (Huijps *et al.*, 2008; Vissio *et al.*, 2015; Yalçi, 2000).

La mastitis clínica y subclínica disminuyen el nivel de producción de manera diferente, donde la clínica tiene un mayor impacto; mientras que, el nivel de disminución de la producción causado por mastitis subclínica está relacionado directamente al conteo de células somáticas (Halasa *et al.*, 2007; Seegers *et al.*, 2003; Vissio *et al.*, 2015). Asimismo, el grado de reducción del nivel de producción varía según el momento de la lactación en la que la infección ocurre, siendo más frecuente y con mayor impacto durante los primeros meses (Huijps *et al.*, 2008).

Por otra parte, la mastitis, tanto en su forma clínica como subclínica, puede afectar la reproducción. Estudios citados por Lavon *et al.* (2011), asocian la mastitis con una reducción de la eficiencia reproductiva, por una disminución en la tasa de concepción, incremento de días abierto, entre otros. De igual manera, Wolfenson *et al.* (2015) mencionan que la mastitis bovina resulta en una baja fertilidad y la reducción de la tasa de concepción.

Las pérdidas económicas están justificadas en los costos directos e indirectos que genera. Las pérdidas directas incluyen básicamente los costos del tratamiento, servicios veterinarios y el descarte de leche. Por otro lado, las pérdidas indirectas están reflejadas principalmente en la reducción de la producción lechera y los cambios originados en la composición y calidad de la leche (Gomes & Henriques, 2016; Heikkilä *et al.*, 2018). Según Wellenberg (2002) y O'Flaherty (2005), las pérdidas económicas a nivel mundial al año están estimadas en 35 billones de dólares. En el Perú, según el estudio de Ajahuana (2009) citado por Guerrero (2017), las pérdidas económicas en los casos de mastitis clínica son mayores que en los de la subclínica, siendo de 3417.89 y 1465.5

soles/vaca/campaña respectivamente. Por otro lado, el nivel de reducción de la producción para bovinos con mastitis clínica y subclínica no presentó diferencia significativa. Sin embargo, obtuvo como resultado una disminución de la producción de 8.28% para casos de vacas con mastitis subclínica y de 15.65% para los de mastitis clínica, lo cual se representa en 729 y 1378.8 kg/campaña respectivamente según lo indicado (Guerrero, 2017).

### **2.1.5. Antecedentes de mastitis en el Perú**

En el Perú no existen muchos datos acerca de la incidencia de mastitis subclínica y clínica a nivel nacional. Sin embargo, es sabido que nuestro país está fuertemente afectado por esta enfermedad.

No obstante, la Norma Técnica Peruana (NTP) 202.001 establece 500 000 CS/mL como el límite máximo para el conteo de células somáticas, este conteo es superior en varias regiones de nuestro país (Sánchez, 2013). Tal es el caso de Arequipa, región productora del 90% de la leche de la cuenca del sur. Un estudio realizado en 74 establos en las cuencas lecheras de Arequipa, determinó que el 9% de los establos evaluados presentaron un conteo de células somáticas mayor a 600 000 células/mL (Olivera, 2001).

Asimismo, otros estudios reflejan el alto porcentaje de mastitis en las diferentes regiones del país como en Apurímac, donde Gómez *et al.* (2015) determinó una prevalencia de 65.5% de mastitis subclínica. Mientras que, en Colán– Piura, Chamba (2019) obtuvo una prevalencia de mastitis subclínica de 68.1%.

Del mismo modo, se han realizado estudios en la cuenca lechera de Lima. En Huacho, provincia de Huaura, Velásquez & Vega (2012) evaluó el porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica en establos pequeños, medianos y grandes con resultados de 29.8%, 52.6% y 49.9% respectivamente. De igual forma, Guerrero (2017) evaluó la prevalencia de mastitis subclínica en dos establos de la cuenca lechera de Lima, Establo Labrador - Herbay Alto y la Unidad Experimental de Zootecnia (UEZ) de la Universidad Nacional Agraria La Molina - La Molina, con resultados de 94.2% y 60.5% por vaca afectada y 47.9% y 32.9% por cuartos afectados respectivamente.

## **2.2. Diagnóstico de mastitis**

Debido a las grandes pérdidas económicas que la mastitis ocasiona, se han desarrollado una serie de técnicas para el diagnóstico de esta enfermedad. La selección de una sobre la otra dependerá de factores como la precisión, presupuesto, entre otros. Algunas de las nuevas tendencias de diagnóstico son el uso de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que puede ser PCR en sí misma, Multiplex PCR, PCR en tiempo real, biochips y biosensores (Deb *et al.*, 2013). Sin embargo, según Gabli *et al.* (2019) y Rossi *et al.* (2018), el diagnóstico puede ser realizado por pruebas de fácil uso y rápido resultado, como *California Mastitis Test* (CMT) y el Conteo de Células Somáticas (CCS).

El Conteo de Células Somáticas (CCS) se refiere a la medida de las células somáticas en una muestra de leche (Deb *et al.*, 2013). La variación de la cantidad de células somáticas por mililitro de leche (CS/mL) puede deberse a una serie de factores tales como etapa de lactancia, estación, estrés, entre otros. No obstante, la mayor variación se genera debido a la presencia o ausencia de una infección bacteriana en la glándula mamaria (Deb *et al.*, 2013; Olechnowicz & Jaskowski, 2012).

### **2.2.1. Conteo de Células Somáticas (CCS)**

Las células somáticas de la leche son básicamente células epiteliales que se han desprendido del revestimiento de la glándula mamaria (25%) y leucocitos (75%), tales como neutrófilos, linfocitos y macrófagos. Al darse una inflamación, como la mastitis, se produce un incremento del número de células somáticas debido principalmente al aumento de la migración de neutrófilos, la cual aumenta a un 90% (Deb *et al.*, 2013; Harmon, 1994; Patil *et al.*, 2015). Por esto, las células somáticas actúan como indicadores de la resistencia y susceptibilidad de las vacas a la mastitis, así como un monitor de la magnitud de la mastitis (Patil *et al.*, 2015). En tal sentido, puede ser considerado una prueba práctica para el diagnóstico de mastitis (Deb *et al.*, 2013).

Por lo general, según lo indicado por Lavon *et al.* (2011), la leche proveniente de ubres sanas presenta un conteo de células somáticas basal que varía entre 18 000 a 200 000 CS/mL, con una media geométrica de 68 000. Seegers *et al.* (2003) señalan que, en animales no infectados, este conteo es menor o igual a 50 000 CS/mL, según estudios realizados en vacas Holstein. Hernández & Bedolla (2008) indican un conteo de células

somáticas entre 20 000 y 50 000 CS/mL para animales que nunca han presentado alguna infección mamaria; mientras que, en animales sanos con infecciones previas se espera un conteo de 100 000 a 200 000 CS/mL. Por otra parte, en el Perú, la Norma Técnica Peruana (NTP) 202.001, establece que el límite máximo para el conteo de células somáticas es de 500 000 CS/mL (Sánchez, 2013).

Si bien existe un debate acerca del recuento exacto a partir del cual se indica una infección en la vaca, por lo general, la industria lechera conviene en usar como nivel 200 000 CS/mL, es decir, un conteo superior es considerado como indicador de mastitis subclínica (Moroni *et al.*, 2018; Gómez *et al.*, 2015).

### **2.2.2. California Mastitis Test (CMT)**

La prueba de *California Mastitis Test* (CMT) es una prueba de campo de carácter práctico y económico (Kandeel *et al.*, 2018). Permite realizar una estimación indirecta de la cantidad de células somáticas en la leche, la cual se evidencia por la reacción del ácido desoxirribonucleico (ADN) de esas células con el reactivo, formando un gel. El resultado puede ser evaluado desde negativo (sin cambios) hasta la puntuación 3 (formación sólida de gel); siendo la puntuación el 1, 2 y 3 considerados positivos para mastitis (Deb *et al.*, 2013; Kandeel *et al.*, 2018).

Si bien esta técnica permite detectar la presencia de mastitis subclínica, la misma presenta ciertas limitaciones como la subjetividad o falsos resultados. Al ser una prueba que no brinda un resultado numérico, sino un resultado cualitativo cuya interpretación proporciona una valoración aproximada del conteo de células somáticas, el resultado puede variar con el operador. Por otra parte, algunos casos pueden dar falsos resultados, como falsos positivos cuando se tienen animales recién paridos o cercanos a la seca y falsos negativos en casos de mastitis clínica aguda, producto de la destrucción de los leucocitos por los microorganismos patógenos (Magandi, 2008).

### **2.2.3. Prueba PortaSCC®**

La prueba de conteo de células somáticas PortaSCC® permite evaluar de manera rápida, simple y sensible, el recuento de células somáticas del hato (Portacheck, 2022). La prueba

PortaSCC® es considerada una buena prueba para diagnosticar mastitis subclínica e infecciones intramamarias (Kandeel *et al.*, 2019).

Este método cuenta con una correlación de 0.8 con respecto a los estudios de laboratorio. Además, posee sensibilidad del 84.4% y especificidad de 97.5% a 200 000 CS/mL, con un intervalo de confianza del 95% (Portacheck, 2022).

Salvador *et al.* (2014) reportaron una sensibilidad y especificidad de 94.12% y 87.30% respectivamente en la identificación de mastitis subclínica utilizando la prueba PortaSCC®, tomando como referencia el contador de células somáticas de laboratorio Fossomatic. Asimismo, basado en las propiedades de la prueba y su capacidad para dar resultados de manera rápida y simple, consideraron que PortaSCC® podría usarse como una alternativa al conteo de células somáticas de laboratorio en áreas remotas.

El principio de esta prueba es la reacción que se produce entre las tiras de prueba y una enzima presente en las células blancas de la leche, la esterasa. Como resultado de esta reacción, se obtiene una coloración azul, cuya intensidad es proporcional a la actividad de la esterasa y, por ende, indirectamente valora el conteo de células somáticas (Kandeel *et al.*, 2019). Los resultados pueden ser leídos por medio de la comparación del resultado con la cartilla de colores o con el lector digital *PortaReader*, que permite obtener resultados cuantitativos y de fácil interpretación (Portacheck, 2022).

### **2.3. Tratamiento de mastitis bovina**

El tratamiento para mastitis tiene como objetivo curar la patología y evitar la dispersión de la enfermedad en el hato lechero. Por décadas, el tratamiento convencional de la mastitis se ha basado en el uso de antibióticos, siendo el tratamiento de esta enfermedad la principal razón para el uso de estos en la industria lechera (Heikkilä *et al.*, 2018). Sin embargo, el uso de antibióticos presenta problemas críticos como la generación de resistencia y la falta de respuesta a esta terapia (Gomes & Henriques, 2016; Mordmuang *et al.*, 2019). Existe una creciente preocupación a nivel de salud pública, relacionada a la presencia de residuos de fármacos en la leche causado por el tratamiento de la mastitis, así como la transmisión de bacterias resistentes a los antimicrobianos, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, conocido por sus siglas MRSA (Gomes *et al.*, 2016; Mordmuang *et al.*, 2019; Sánchez *et al.*, 2018). Esto, unido a las políticas que

promueven la reducción del uso de antibióticos, generan la necesidad de buscar nuevos tratamientos para la prevención y control de la mastitis (Serna & Pabón, 2016; Breyne *et al.*, 2017; EMA-EFSA, 2017).

#### **2.4. Prevención**

A pesar de los tratamientos existentes, la erradicación de la mastitis resulta imposible, ya que es un problema, multifactorial producto de la interacción de tres factores claves: el animal, los patógenos y el ambiente, considerando dentro de este último factor también las prácticas de manejo (Belay *et al.*, 2022). Por este motivo, se busca implementar programas de control integral de los factores predisponentes de mastitis, que deberían tener como objetivo la reducción de la duración de infecciones intramamarias y la disminución de la aparición de casos nuevos (Andresen, 2001; De Vliegher *et al.* 2018).

Existen varias medidas higiénicas para la prevención de la mastitis, siendo las de mayor importancia aquellas que minimizan la contaminación de los pezones con microorganismos patógenos durante el ordeño (Kruze, 1998; Atehortua *et al.*, 2013). En tal sentido, la reducción de la exposición a microorganismos patógenos en la piel del pezón está directamente relacionada a la disminución de incidencia de infecciones intramamarias (Bhakat *et al.*, 2020; Fitzpatrick *et al.*, 2021; Leyton *et al.*, 2013).

Entre estas medidas preventivas se encuentran el uso de desinfectantes de pezones pre y post-ordeño, rutina de ordeño higiénica y correcta, el adecuado uso, mantenimiento, lavado y desinfección del equipo de ordeño, entre otros (Andresen, 2001; Guerrero, 2017). La antisepsia de los pezones es la práctica de prevención más efectiva para las vacas en lactación. Esta práctica implica en la desinfección de los pezones antes y después del ordeño con una solución germicida usada para reducir la colonización y contaminación por bacterias causantes de mastitis en la piel de pezón (Fitzpatrick *et al.*, 2021; Sharma *et al.*, 2014). La desinfección de los pezones pre y post-ordeño son importantes medidas que previenen infecciones intramamarias y logran una reducción del 50 a 90% de la aparición de nuevos casos (Ríos *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2014). La desinfección pre-ordeño de los pezones con solución sanitizante por inmersión o aspersión, también conocido como “*pre-dipping*” o pre-sellado, es una medida recomendada para prevenir casos de mastitis ambiental, pues mejora la calidad

bacteriológica de la leche y disminuye la contaminación bacteriana en la piel del pezón. Para esto, se emplea un desinfectante con concentración menor al desinfectante post-ordeño, también llamado “*dipping*” o sellado (Chotigarpa *et al.*, 2019; Fitzpatrick *et al.*, 2021; Kruze, 1998). Mientras que, la desinfección post-ordeño tiene como objetivo prevenir la mastitis contagiosa. Se aplica después del retiro de la pezonera para eliminar los patógenos causantes de mastitis que pudieron haberse transmitido por medio de las pezoneras (Chotigarpa *et al.*, 2019; Fitzpatrick *et al.*, 2021; Pulero *et al.*, 2010).

#### **2.4.1. Desinfectantes de pezones convencionales**

Se tiene gran variedad de desinfectantes de pezones, siendo los principios activos más comunes: iodo, clorhexidina, compuestos aniónicos, cloro, amonios cuaternarios y ácidos grasos (Kruze, 1998; Callejo, 2010). Los desinfectantes a base de iodo, también llamados iodóforos, son de amplio espectro incluyendo bacterias, virus, levaduras y hongos (Callejo, 2010). No obstante, al emplear compuestos iodados existe un riesgo inminente de resistencia microbiana y que estos compuestos iodados se incorporen a la leche (Serna & Pabón, 2016). De la misma forma, los desinfectantes a base de cloro son conocidos por su amplio espectro de acción; sin embargo, tienen un potencial irritante. Un problema similar se tiene con los amonios cuaternarios, los cuales pueden causar hipersensibilidad por uso prolongado. Por otro lado, los desinfectantes con clorhexidina como principio activo tienen un amplio espectro, principalmente contra bacterias y un efecto variable contra virus y hongos. Asimismo, los ácidos grasos tienen acción desinfectante exclusiva contra bacterias. Mientras que los compuestos aniónicos, que contienen ácido sulfónico de alquil benceno, son conocidos por su rápida acción bactericida; sin embargo, no controlan *Corynebacterium bovis* o *Staphylococcus coagulasa negativo* (Callejo, 2010).

#### **2.4.2. Desinfectantes de pezones naturales a base de plantas**

Existe una tendencia a la búsqueda de nuevas alternativas para la prevención de la mastitis, tales como selladores naturales y biológicos (Serna & Pabón, 2016). Actualmente, existe una preferencia por el empleo de productos naturales efectivos que sustituyan a los químicos convencionales y signifiquen un bajo riesgo, tanto para la producción animal, como para el medio ambiente (Almeida *et al.*, 2011). Algunas plantas

contienen agentes biológicos activos con una acción antimicrobial, con la ventaja de no generar resistencia tras un largo tiempo de exposición (Gomes & Henriques, 2016; Saddiq & Mohamed, 2019). El desarrollo de tratamientos alternativos naturales, tales como el tratamiento con uso de hierbas y plantas (fitoterapia), responde a los críticos problemas que se presenta con el uso de los antibióticos; por lo que su empleo beneficiaría a la salud pública, así como permitiría la prevención de la generación de resistencia (Mordmuang *et al.*, 2019). Por esto, se han evaluado una diversidad de plantas y hierbas para la prevención y control de la mastitis, por su efecto inhibitorio frente a las principales bacterias causantes de estas (Bhatt *et al.*, 2014).

En Colombia, Suárez (2019) estudió *in vitro* la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales de plantas medicinales como orégano de monte (*Lippia origanoides*), cedrón (*Lippia citriodora*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) frente a los principales patógenos causantes de la mastitis bovina. Asimismo, hizo una evaluación *in vivo* del uso de los aceites esenciales de las tres plantas mencionadas a manera de sellador para la prevención y control de la mastitis, concluyendo que no existen diferencias significativas entre el sellador elaborado a base de aceites esenciales y el yodóforo.

En Cuba, se realizó un estudio en el cual se evaluó la efectividad de un desinfectante post-ordeño obtenido a partir de una solución de ajo (*Allium sativum*) al 30%, determinándose una efectividad similar a la iodopovidona al 1% para la disminución de la prevalencia de mastitis (González *et al.*, 2021). Mientras tanto, Almeida *et al.* (2011) estudiaron el uso de plantas medicinales como desinfectante de pezones post-ordeño, que incluía un extracto hidroalcohólico de huacatay (*Tagetes minuta* L.) y un extracto de goma de linaza (*Linum usitatissimum*), teniendo como resultado ninguna diferencia significativa entre este sellador y un yodóforo comercial (Iodo Mastin®).

De igual forma, un estudio realizado en Argentina por Leyton *et al.* (2013), demuestra la tendencia del aprovechamiento de los recursos vegetales y el conocimiento ancestral de los pobladores de la zona para la realización de productos desinfectantes de pezones. En tal sentido, elaboraron un sellador a base de infusión de alfilerillo de pastor (*Erodium cicutarium*), con el que obtuvieron resultados exitosos, con más de 70% de disminución de la carga microbiana del pezón.

Existen varios estudios que han demostrado el efecto inhibitorio del cristal de sábila (*Aloe vera*) frente a las principales bacterias causantes de mastitis en bovinos como:



*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. y *Escherichia coli* (Kuhlmann, 2014; Queirolo & Muñoz; 2012; Reyes de Fuentes & Fernández Da Silva, 2014; Fiordalisi *et al.*, 2018; Forno-Bell *et al.*, 2019). Al mismo tiempo, en el caso de la mastitis en humanos, se ha evidenciado su acción antiinflamatoria y analgésica, teniendo acción en los nódulos linfáticos, la cual favorece la curación (Ruiz *et al.*, 2012).

## **2.5. Sábila (*Aloe vera*)**

La sábila (*Aloe vera*) es una planta ampliamente conocida y utilizada en la medicina herbolaria debido a sus propiedades terapéuticas (Rodríguez *et al.*, 2006). Sus hojas son la parte más usada de esta planta, de donde se pueden extraer dos productos: la savia, que es una sustancia amarilla jugosa con poder laxante; y el gel o cristal, que es un mucílago incoloro (Queirolo & Muñoz, 2012; Ranjbar & Yousefi, 2018)

### **2.5.1. Morfología**

El *Aloe vera* es una planta que pertenece a la familia de las Liliáceas. Se compone de raíz, tallo, hojas y flores. Las hojas disponen su crecimiento alrededor del tallo a nivel del suelo formando una roseta. Tienen forma lanceolada y dentada, lo cual le sirve de protección a la planta (Domínguez *et al.*, 2012; Queirolo & Muñoz, 2012).

En cuanto a su estructura, está formada por el exocarpio o también llamado corteza, cubierta de una delgada cutícula. Esta corteza, estructura de color verde, representa 20 al 30% aproximadamente del peso de toda la planta. Mientras que el parénquima, o también conocido como pulpa, gel o cristal, se encuentra la parte central de la hoja y representa del 65 al 80% del peso total de la planta. En esta parte última, radican sus principales propiedades medicinales (Domínguez *et al.*, 2012).

### **2.5.2. Composición y propiedades del gel**

Este cristal o gel está conformado principalmente por agua (98.5%), siendo el glucomanano el componente que le otorga un carácter viscoso. Está compuesto por 200 ingredientes activos entre los cuales resaltan minerales, vitaminas (A, B1, B2, B6, C, E),

aminoácidos esenciales, proteínas, lípidos y polisacáridos (Rodríguez *et al.*, 2006; Queirolo & Muñoz, 2012; Ranjbar & Yousefi, 2018). Los componentes de este cristal son los que le otorgan propiedades como poder antiinflamatorio, antimicrobial y regenerador de la piel (Hamman, 2008; Kumar *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2019).

Su función antimicrobiana no se ha podido atribuir a un solo componente. Sin embargo, se postula que son principalmente los compuestos fenólicos y su acción junto a los polisacáridos, a los cuales se les atribuye el efecto inhibitorio del *Aloe vera* frente a una serie de bacterias (Kuhlmann, 2014). Según lo indicado por Rodríguez *et al.* (2010), la acción conjunta en simultáneo de estos componentes afectaría partes estratégicas de la bacteria, tales como la pared celular y las enzimas esenciales del metabolismo. Esto causaría un obstáculo para la generación de resistencia o una adquisición más lenta de ésta por parte de la bacteria hacia el cristal de sábila (Kuhlmann, 2014).

El *Aloe vera* posee una gran capacidad de penetración que permite combatir las inflamaciones, reduciendo los signos de ésta, como son el dolor y aumento de temperatura, por medio de la aplicación tópica. Esta capacidad le permite alcanzar el sistema capilar de irrigación sanguínea de la dermis (Gómez, 2003; Ramírez, 2003).

### **2.5.3. Restricciones de uso**

Los principales componentes que se extraen de las hojas de la sábila (*Aloe vera*) son el acíbar, extraído de la superficie interna de la hoja, y el gel, extraído del parénquima (Ramírez, 2003). Las restricciones para el uso de la sábila son exclusivamente debido al acíbar, en cuya composición se tiene cerca del 20% de aloína. Esta sustancia es un glucósido antraquinona que puede causar toxicidad, debido a sus propiedades purgantes y alergénicas. La aloína se puede eliminar por medio del drenaje de las hojas. Por esto, el cristal de *Aloe vera* se somete a un procesamiento que permita la extracción de la aloína y así, no produce reacciones adversas como las antes mencionadas, mientras que mantiene sus propiedades como su acción bactericida, antiinflamatoria, cicatrizante, hidratante, y regeneradora de la piel (Domínguez *et al.*, 2012; Ramírez, 2003).

#### **2.5.4. Actividad antimicrobiana de la sábila (*Aloe vera*)**

El *Aloe vera* es una planta medicinal, conocida principalmente por su actividad antiinflamatoria, inhibitoria y propiedades inmunoestimulantes, por lo que se ha investigado su uso en diversas ramas de la medicina.

Se realizó un estudio donde se comprobó la actividad inhibitoria del gel de *Aloe vera* frente a patógenos causantes de caries y enfermedades periodontales como bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans* y periodontopáticas tales como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bacteroides fragilis* (Fani & Kohanteb, 2012). En la estomatología, también se ha evaluado satisfactoriamente el uso del *Aloe vera* como sustituto de los desinfectantes químicos por su propiedad antimicrobial frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Natasha *et al.*, 2015).

Diversos estudios han sido realizados para evaluar el efecto antimicrobiano del *Aloe vera in vitro* frente a patógenos de interés clínico. Reyes de Fuentes & Fernández Da Silva (2014) demostraron este efecto del gel de sábila frente a varios microorganismos, entre los cuales se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Pseudomonas aeruginosa*. Inclusive, el uso de esta planta también ha sido probado para el tratamiento de úlceras en la pierna, causado por bacterias con resistencia a múltiples fármacos como *Staphylococcus aureus* resistentes a Metilicina o también conocidas por sus siglas MRSA, llegando a la conclusión de que el gel de *Aloe vera* es un tratamiento de bajo costo y efectivo frente a los tratamientos antimicrobianos tópicos convencionales (Banu *et al.*, 2012).

##### **2.5.4.1. Extracción del gel de *Aloe vera***

Rivero *et al.* (2002) estudiaron diferentes solventes para preparar un extracto de *Aloe vera* con actividad antiviral. Entre estos solventes están: agua, etanol, mezcla agua-etanol en proporción 1:1, acetato de etilo y glicerina, determinando que la mezcla etanol: agua fue la más adecuada para la extracción de los compuestos activos. De manera similar, Pawar *et al.* (2005) compararon la extracción del gel de *Aloe vera* con metanol y acetona frente a *Staphylococcus aureus*, obteniéndose mejores resultados con la acetona en cuanto a zonas de inhibición. Mientras que, Lawrence *et al.* (2009) evaluaron la actividad

antibacterial de la extracción del gel de *Aloe vera* con 3 solventes: etanol, metanol y acetona, siendo este último el que presentó la menor actividad antimicrobiana o ausencia de esta frente a una serie de patógenos Gram positivos y negativos, como *S. aureus* y *E. coli*. Por otro lado, Fatalo & Tesfaye (2020) realizaron una extracción de *Aloe vera* con agua y etanol con diferentes concentraciones (1, 0.5, 0.25 y 0.125 g/mL) y evaluó su acción antibacteriana frente a *S. aureus* y *E. coli*, obteniendo mejores resultados en todas las concentraciones con el extracto etanólico frente a ambos patógenos. Musmeci & Lezcano (2013) realizaron una comparación de la acción antimicrobiana sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* del gel de *Aloe vera* extraído con alcohol 50°, 70° y agua en la concentración 100 mg/mL, resultando los extractos alcohólicos los únicos con actividad inhibitoria.

## **2.6. Potencial uso del gel de sábila (*Aloe vera*) en la mastitis bovina**

Debido a la acción antimicrobiana demostrada y los reportes que indican que el *Aloe vera* es empleado para la prevención y control de mastitis bovina en producciones orgánicas, varios autores han estudiado su uso como posible tratamiento curativo y preventivo para la mastitis (Avancini, 2008; Ruegg, 2009). Forno-Bell *et al.* (2019) demostraron el efecto antimicrobiano de un extracto metanólico de *Aloe vera* frente a patógenos asociados a la mastitis como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus uberis*. Por otro lado, Kuhlmann (2014) evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* del *Aloe vera* asociado a ceftiofur y cloxacilina como tratamiento alternativo frente al principal agente etiológico de la mastitis, *Staphylococcus aureus*, demostrando una reducción del 87.5% y 75% respectivamente en las concentraciones mínimas inhibitorias establecidas de los fármacos mencionados, tras la inclusión de la planta. De igual manera, Fiordalisi *et al.* (2018) proponen el uso del exudado de esta planta como tratamiento tópico potencial para la mastitis bovina por su acción inhibitoria *in vitro* probada frente al mismo patógeno, *S. aureus*.

También se ha probado el uso potencial de esta planta medicinal para la mastitis *in vivo*. Para evaluar su uso como tratamiento de mastitis, se empleó una solución herbal elaborada a partir de *Aloe vera*, mayoritariamente, con polvo de cúrcuma y limón, cuyos resultados indican 100% de efectividad en la recuperación de los casos de mastitis y

ausencia de complicaciones post-tratamiento. Además, resultó ser un tratamiento 10 veces menos costoso que el tratamiento convencional (Thangadurai *et al.*, 2017). Con respecto a la prevención de la mastitis, Amaro *et al.* (2011) compararon un desinfectante post-ordeño a base de extracto acuoso de *Aloe vera* con iodo glicerinado, obteniendo como resultado que el uso del extracto de sábila puede sustituir al iodo glicerinado, sin efectos negativos en la composición química de la leche ni en el conteo de células somáticas. Asimismo, Sharma *et al.* (2014) realizaron *in vivo* la comparación del uso del glutaraldehído al 0.2% como sellador, frente a uno hecho a partir de 95% de gel de *Aloe vera*, 2.5% de aceite de oliva y 2.5% de glicerina. Como resultado obtuvo una reducción significativa tanto en CMT y el CCS tras la aplicación del desinfectante a base de *Aloe vera*, concluyendo que esa reducción revela la capacidad antibacteriana y anti-inflamatoria del *Aloe vera*.

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Lugar, duración y fecha de ejecución**

La fase de laboratorio de la presente investigación se realizó en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso” (LMT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), durante los meses de febrero a marzo del 2022.

La fase de campo se realizó en el estable la Unidad Experimental de Zootecnia “Renato Zeppilli Ferrazza” (UEZRZF) del Programa de Investigación y Proyección Social en Leche (PIL) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). La elaboración del desinfectante de pezones a base de sábila (*Aloe vera*) se realizó en el Laboratorio de Ecología y Utilización de Pastizales (LEUP) de la UNALM. Tanto los laboratorios cuanto la UEZRZF están ubicados en el distrito de La Molina, región de Lima - Perú, que geográficamente se encuentra a 12° 05' 06'' Latitud Sur y 76° 57' 00'' Latitud Oeste a 238 msnm. La fase de campo fue realizada durante los meses de mayo a julio del 2022.

#### **3.2. Animales experimentales**

El estudio evaluó 21 vacas de la raza Holstein a partir de 30 días de lactación. Se consideraron solo las vacas en lactación, cuyo período de seca y parto futuro no estuvieran programadas dentro del período experimental (2 meses). Además, éstas no debían presentar antecedentes de mastitis clínica, según el software *Dairy Plan C21*. Posteriormente, se realizó la elección de los animales, a partir de la pre-selección realizada, por medio del *California Mastitis Test* (CMT).

Para la prueba CMT, se colectó una muestra de leche de cada cuarto en los cuatro compartimentos de la paleta. Se agregó un volumen de reactivo CMT igual que la cantidad de la leche (Godden *et al.*, 2017). Se registraron los datos de cada animal por cuarto (*Anexo I*) y se seleccionaron las vacas en base a la observación, con un grado de reacción igual a negativo (-), trazas (T) o grado 1 (+), según la *Tabla 1*.

**Tabla 1: Escala de evaluación de CMT**

Grado de Reacción	Abreviación	Observación	RCS (CS/mL)
Negativo	-	Sin precipitación	0 – 200 000
Trazas	T	Ligero espesamiento	150 000 – 500 000
1	+	Espesamiento pero sin formar gel	400 000 – 1 000 000
2	++	Espesamiento inmediato con formación ligera de gel	800 000 – 5 000 000
3	+++	Formación de gel y se adhiere a la paleta	>5 000 000

Fuente: Adaptado de Godden *et al.* (2017) y Moroni *et al.* (2018)

### 3.3. Condiciones experimentales

Los animales experimentales estuvieron bajo un sistema de crianza intensiva, con agua y alimento suministrados *ad libitum*.

Las 21 vacas de la raza Holstein estuvieron dispuestas en un mismo corral (P4). Este corral cuenta con un área total aproximada de 672 m<sup>2</sup>, asignándose 32 m<sup>2</sup> de superficie por animal, de los cuales 5.43 m<sup>2</sup> por animal están destinados a área de sombra.

Los animales experimentales fueron diferenciados con una cinta color rosado a manera de collar. El lado asignado al tratamiento alternativo (extracto etanólico de gel de *Aloe vera*), lado visible al operario en el momento del ordeño, fue debidamente identificado en la cara externa del miembro posterior derecho con la letra “T” (que hace referencia al tratamiento) con crayón marcador de ganado color azul.

El ordeño fue de tipo mecánico, en una sala de ordeño tipo tándem con 6 puestos. Se realizó 2 ordeños al día, turno mañana y tarde, en los horarios de 4:00 am y 4:00 pm. La duración aproximada de cada ordeño fue de 2.5 horas.

La rutina de ordeño constó de los siguientes pasos: despunte, pre-sellado, secado de pezones, colocación de la unidad de ordeño, retiro automático de la unidad de ordeño y sellado de pezones.

### **3.4. Materiales**

Los materiales, equipos e instrumentos empleados a lo largo del experimento se especifican a continuación:

#### **Materiales**

- Reactivo CMT
- Paleta para CMT
- Cinta de tela (25mm)
- Crayón marcador de ganado
- Extracto de sábila (*Aloe vera*)
- Alcohol etílico 70°
- Glicerina USP
- Frasco estéril de tapa rosca (100mL)
- Yodiggen Dipping
- Kit Porta SCC®
- Etiquetas autoadhesivas (13x19 mm)
- Plumón indelible

#### **Equipos e instrumentos**

- Botella selladora no retorno
- PortaReader®
- Balanza electrónica
- Refrigeradora



- Vaso precipitado (200 mL y 3000mL)
- Embudo

### **3.5. Metodología**

#### **3.5.1. Estudios preliminares**

Se realizaron dos estudios previos a la ejecución de la fase de campo: 1) la determinación *in vitro* de la capacidad inhibitoria del *Aloe vera* y 2) el estudio de la reacción de la piel de pezón tras la aplicación del producto. El primero, tuvo como objetivo corroborar el efecto inhibitorio del *Aloe vera* frente al principal agente etiológico de la mastitis: *Staphylococcus aureus*. Mientras que, el segundo tuvo como objetivo verificar la reacción y tolerancia de la vaca (piel del pezón) a dos concentraciones del extracto etanólico de gel de sábila (*Aloe vera*).

##### **3.5.1.1. Determinación *in vitro* de la capacidad inhibitoria del *Aloe vera***

En el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso”, se realizó un ensayo de inhibición extracto etanólico de gel de *Aloe vera* en concentración 100 mg/mL del frente a *Staphylococcus aureus*. Los resultados determinaron que hubo una capacidad inhibitoria del extracto de *Aloe vera* (100 mg/mL) frente a este patógeno (*Anexo 2*).

##### **3.5.1.2. Estudio de la reacción de la piel de pezón**

Se estimó, a través de la escala descrita por Rasmussen & Larsen (1998), el efecto de 2 concentraciones de extracto etanólico de gel de *Aloe vera* (100 mg/mL y 200 mg/mL) en la piel del pezón de 4 vacas en seca de la raza Holstein. Se aplicaron los 2 tratamientos simultáneamente en la misma ubre por 10 días consecutivos, asignando los pezones del lado izquierdo para la concentración 100 mg/mL y derecho para 200 mg/mL.

Los resultados obtenidos en la reacción de la piel del pezón fueron positivos, quiere decir que no hubo una reacción visible de la piel, siendo más evidente este resultado positivo con el uso de la concentración de 200 mg/mL (*Anexo 3*). Estos datos concuerdan con lo señalado

por Leon *et al.* (2004), quien demostraron la tolerancia de la piel a un producto natural con *Aloe vera* y propuso su uso frente a productos comerciales de iodo. No obstante, para evitar interrupciones durante el experimento y según lo mencionado por Rasmussen & Larsen (1998), se consideró agregar 10% de glicerina para mantener y/o mejorar la condición de la piel del pezón (*Anexo 3*).

### **3.5.2. Preparación del desinfectante de pezones**

La elaboración del desinfectante de pezones a base de extracto etanólico de gel de sábila (*Aloe vera*) se ha dividido en dos fases: extracción etanólica y preparación del desinfectante de pezones. Estas serán descritas a continuación.

#### **3.5.2.1. Extracción etanólica**

Se realizó una modificación del método planteado por Musmeci & Lezcano (2013). El gel de *Aloe vera* se diluyó en etanol 70° en la proporción 200g/1000mL. Como agente emoliente se agregó 10% de glicerina USP. Esta mezcla se refrigeró y maceró por 24 horas para poder extraer los ingredientes activos. Se obtuvo como resultado el extracto etanólico de *Aloe vera*.

#### **3.5.2.2. Preparación del desinfectante de pezones**

El desinfectante se elaboró semanalmente a partir de la mezcla del extracto etanólico con 10% de glicerina como agente emoliente. El desinfectante post-ordeño está conformado por la solución al 100%, mientras que el desinfectante pre-ordeño se diluyó al 50% en agua destilada.

### **3.6. Tratamientos**

El estudio consistió en 2 tratamientos, el testigo (T1) y el alternativo (T2). Ambos tratamientos se aplicaron por inmersión, usando una botella selladora no retorno, de forma simultánea a la ubre de la vaca, asignando los pezones de los lados izquierdo y derecho de la ubre para los tratamientos 1 y 2 respectivamente (*Tabla 2*).

**Tabla 2: Descripción de tratamientos**

Tratamiento	Composición	Lado de aplicación
T1: Testigo	Yodigen® Dipping: Iodóforo a base de iodo molecular activo (7 000 ppm)	Izquierdo
T2: Alternativo	Extracto etanólico de gel de <i>Aloe vera</i> (200 mg/mL)	Derecho

### 3.7. Evaluación de los tratamientos

Se tomaron muestras de leche de cada uno de los pezones de los animales experimentales de manera mensual por 2 meses consecutivos. Se analizaron los resultados por medio de la prueba PortaSCC®, valorando las células somáticas como indicador de una infección.

Para la prueba PortaSCC®, se tomaron muestras de leche de cada cuarto mamario. Para este fin, se realizó el despunte y se descartaron los primeros chorros de leche. Se realizó la desinfección de pezones pre-ordeño con los tratamientos respectivos y, tras esto, se procedió a la toma de muestra de leche de cada cuarto mamario en un frasco estéril rotulado.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio. Una vez en el laboratorio, se tomó la muestra de leche debidamente mezclada con ayuda de la pipeta y se colocó una gota en la tira de prueba respectiva, la cual fue debidamente rotulada. Luego, se añadieron 3 gotas de la solución activadora del kit PortaSCC®. Se dejó actuar por 45 minutos. Finalmente, se dio lectura a los resultados de cada tira con el lector digital *PortaReader*. Los resultados con un CCS mayor a 200 000 CS/mL, fueron considerados como positivos para mastitis. (*Anexo 4*).

#### 3.7.1. Determinación del efecto de los tratamientos en el conteo de células somáticas

El efecto de los tratamientos en el CCS se determinó por medio de la comparación entre sí de los promedios de células somáticas obtenidos de los dos tratamientos por cada control. El Control Inicial (CI) evaluó el conteo de células somáticas al día 0, es decir, el CCS con el que inician los animales experimentales para, a partir de eso, poder determinar el efecto de

los tratamientos. El Control Medio (CM) evaluó el efecto de los tratamientos al día 30; mientras que, el Control Final (CF) determinó el efecto al día 60.

### 3.7.2. Determinación del efecto preventivo de los tratamientos

El efecto preventivo (P%) de los desinfectantes se evaluó por medio de la determinación de la prevalencia de mastitis por cuartos mamarios. A su vez, la prevalencia se determinó por medio del cálculo de la proporción de población que presentó mastitis de manera mensual.

$$P(\%) = 100 - \left( \frac{N^{\circ} \text{ cuartos positivos a mastitis por mes}}{\text{Total de cuartos evaluados por mes}} \right) \times 100$$

La estimación del efecto preventivo comparativo del tratamiento alternativo (*Aloe vera*) respecto al tratamiento testigo (iodo comercial) se realizó en base al siguiente cálculo:

$$\text{Efecto preventivo comparativo} = \frac{P(\%)_{T_2}}{P(\%)_{T_1}} \times 100$$

Donde:

T<sub>1</sub> = Iodóforo comercial (7000 ppm)

T<sub>2</sub> = Extracto etanólico de gel de *Aloe vera* (200 mg/mL)

### 3.7.3. Determinación de la efectividad de los tratamientos

La efectividad (E%) de los desinfectantes de pezones evaluados se determinó en base al número de casos nuevos de mastitis por cuartos mamarios, es decir, la incidencia. No se consideraron los casos pasados o las repeticiones de casos ocurridos durante el período experimental.

$$E(\%) = 100 - \left( \frac{N^{\circ} \text{ total de casos nuevos de mastitis}}{N^{\circ} \text{ total de cuartos libres}} \right) \times 100$$

Se tuvo en cuenta lo siguiente:

- Cuartos libres de mastitis al inicio de la aplicación de tratamientos: Todos aquellos que presentaron valores de conteo de células somáticas menores o iguales a 200 000 CS/mL.
- Nuevos casos de mastitis en los cuartos libres: Todos aquellos casos que presentaron en el conteo de células somáticas valores mayores a 200 000CS/mL en los cuartos libres de mastitis al inicio del tratamiento.

La estimación de la efectividad comparativa del tratamiento alternativo (*Aloe vera*) respecto al tratamiento testigo (iodo comercial) se basó en el siguiente cálculo:

$$Efectividad\ comparativo = \frac{E(\%)_{T_2}}{E(\%)_{T_1}} \times 100$$

Donde:

T<sub>1</sub> = Iodóforo comercial (7000 ppm)

T<sub>2</sub> = Extracto etanólico de gel de *Aloe vera* (200 mg/mL)

#### **3.7.4. Evaluación económica**

La evaluación económica comparó los costos por litro (CL) de los desinfectantes pre y post-ordeño de ambos tratamientos. La evaluación económica comparativa fue calculada de la siguiente manera:

$$Evaluación\ económica\ comparativa = \frac{CL_{T_2}}{CL_{T_1}} \times 100$$

Donde:

T<sub>1</sub> = Iodóforo comercial (7000 ppm)

T<sub>2</sub> = Extracto etanólico de gel de *Aloe vera* (200 mg/mL)

### 3.8. Diseño estadístico

Se evaluó el efecto de los tratamientos a partir de la variable respuesta, células somáticas, por medio de los parámetros: conteo de células somáticas, efecto preventivo y efectividad de los tratamientos. Se empleó un DCA con 2 tratamientos (testigo y alternativo).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta (conteo de células somáticas)

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto del tratamiento  $i$

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental de la u.e.i.j.

### 3.9. Análisis estadístico

Se evaluó el efecto de los tratamientos a partir de la variable de respuesta, células somáticas, por medio de los siguientes parámetros: conteo de células somáticas, efecto preventivo, efectividad y evaluación económica.

Para evaluar el efecto en el conteo de células somáticas se realizó un Test F de análisis de varianza (ANOVA) en el programa IBM SPSS Statistics descrito por Castañeda *et al.* (2010). Mientras que, para evaluar si hubo diferencias significativas entre los tratamientos para el efecto preventivo y la efectividad de los tratamientos se utilizó la prueba Chi cuadrado en tablas de contingencia 2x2 descrita por de Sainz (1990) en el programa Minitab Statistical Software.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Determinación del efecto de los tratamientos en el conteo de las células somáticas

El efecto de los tratamientos en el conteo de células somáticas se determinó comparando los promedios de células somáticas por grupo de tratamiento en cada control: inicial, medio y final (*Anexo 5, 6 y 7*).

La *Tabla 3* muestra en el Control Inicial (CI), los valores promedio de células somáticas al inicio del experimento, los cuales son estadísticamente similares ( $P > 0.05$ ). Por ende, ambos tratamientos iniciaron con poblaciones homogéneas entre sí, en lo que respecta al conteo de células somáticas. En consecuencia, esto facilitó la valoración de los efectos de los tratamientos evaluados en los siguientes controles. En el Control Medio (CM), que presenta el efecto de los tratamientos a los 30 días de aplicación, se obtuvo un conteo similar para ambos, siendo de  $293\ 571.43 \pm 10\ 000.39$  CS/mL y  $293\ 571.43 \pm 10\ 000.39$  CS/mL para T1 y T2 respectivamente. Con este resultado se evidencia que no hubo diferencias estadísticas ( $P > 0.05$ ) entre ambos desinfectantes, respecto a su efecto sobre el conteo de células somáticas. Asimismo, la *Tabla 3* expone que en el Control Final (CF), realizado a los 60 días del inicio de la aplicación del tratamiento, se registró un conteo de células somáticas de  $280\ 079.37 \pm 10\ 157.32$  CS/mL para el T1 y  $328\ 333.33 \pm 11\ 797.18$  CS/mL para el T2, sin diferencia significativa ( $P > 0.05$ ).

**Tabla 3: Efecto de la aplicación de los tratamientos por control en el conteo de células somáticas promedio (CS/mL)**

Control	T1: testigo	T2: alternativo
Control Inicial (CI)	$229\ 761.90 \pm 10\ 722.15^a$	$234\ 523.81 \pm 11\ 607.34^a$
Control Medio (CM)	$293\ 571.43 \pm 10\ 000.39^a$	$324\ 761.90 \pm 10\ 325.47^a$
Control Final (CF)	$316\ 904.76 \pm 9\ 749.43^a$	$328\ 333.33 \pm 11\ 797.18^a$
Promedio	$280\ 079.37 \pm 10\ 157.32^a$	$295\ 873.02 \pm 11\ 243.33^a$

<sup>a, b, c</sup> Letras distintas en la misma fila indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ )

Los resultados expuestos en la *Tabla 3* son análogos a los obtenidos por Amaro *et al.* (2011), estudio en el cual demostró que no existen diferencias significativas entre el conteo de células somáticas de animales sometidos a dos desinfectantes de pezones: iodo glicerinado y extracto acuoso de *Aloe vera*.

Por otro lado, los resultados promedio registrados en el presente estudio, de  $280\,079.37 \pm 10\,157.32$  para el T1 y  $295\,873.02 \pm 11\,243.33$  para el T2, son inferiores a los valores obtenidos por Guerrero (2017), quien determinó que el conteo promedio de células somáticas en leche de las vacas de la Unidad Experimental de Zootecnia “Renato Zeppilli Ferrazza” (UEZRZF) de la UNALM entre los años 2012-2016 fue de 873 000 CS/mL. Posiblemente, la diferencia de resultados responde a que la población experimental fue seleccionada previamente, en la que se tomaron solamente los animales sin antecedentes de mastitis clínica próximos con prueba CMT con resultados negativo (-), trazas (T) o grado 1 (+).

Adicionalmente a esto, se puede destacar que ambos presentan una misma tendencia al alza del conteo de células somáticas a lo largo del período experimental, probablemente debido a las prácticas de manejo realizadas durante del ordeño. No obstante, los promedios obtenidos están dentro del límite de 500 000 CS/mL establecido por la Norma Técnica Peruana (NTP) 202.001. Según Zemanate y Grass (2005) citado por Barrera (2019), la calificación higiénica de la leche varía según el conteo de células somáticas, siendo: entre 1 – 100 000, es excelente; 100 001 – 250 000, es buena; 250 001 – 500 000, es regular; 500 001 – 1 000 000, es mala. Según los promedios obtenidos, tanto en el tratamiento 1 como el 2, la calidad higiénica de la leche fluctúa entre buena y regular.

#### **4.2. Determinación del efecto preventivo de los tratamientos**

Para determinar el efecto preventivo, se estimó la prevalencia por cuarto mamario de mastitis registrada por cada tratamiento a lo largo del período experimental (*Anexo 8*).

El promedio mensual de prevalencia para los tratamientos 1 y 2, mostrado en la *Tabla 4*, fue de 38.89% y 35.72% respectivamente ( $P > 0.05$ ). A partir de esto, se obtuvo un efecto preventivo de 61.11% para el T1 y 64.28% para el T2.

Si bien hay un mejor resultado en el efectivo preventivo comparativo del tratamiento alternativo frente al iodo (+5.20%), no hubo diferencia significativa entre los tratamientos ( $P > 0.05$ ).



**Tabla 4: Efecto preventivo de los tratamientos**

Tratamiento	Parámetro	Mes 0	Mes 1	Mes 2	Promedio mensual
1	Cuartos izquierdos	42	42	42	42.00
	Cuartos afectados	12	18	19	16.33
	Prevalencia (%)	28.57	42.86	45.24	38.89
	<b>Efecto preventivo (%)</b>	<b>71.43</b>	<b>57.14</b>	<b>54.76</b>	<b>61.11</b>
2	Cuartos derechos	42	42	42	42.00
	Cuartos afectados	10	19	16	15.00
	Prevalencia (%)	23.81	45.24	38.10	35.72
	<b>Efecto preventivo (%)</b>	<b>76.19</b>	<b>54.76</b>	<b>61.9</b>	<b>64.28</b>

Alvarado *et al.* (2019) analizaron los factores de prevalencia de mastitis subclínica relacionados al animal (raza, edad, número de partos y período de lactancia). Solo determinaron diferencias significativas en la prevalencia según la raza del animal. Por este motivo, los animales experimentales de este estudio, fueron Holstein en su totalidad.

Guerrero (2017) realizó un estudio en la misma UEZRZF en la cual evaluó la prevalencia de mastitis subclínica por cuartos afectados. El promedio detectado con la prueba PortaSCC® en este estudio fue de 37.46%. Por los resultados similares para la prevalencia usando yodo (7 000 ppm) bajo las mismas prácticas de manejo en el estudio antes mencionado y el presente, se puede apreciar que el efecto preventivo de este producto iodóforo fluctúa entre 62.54% y 60.53% respectivamente, siendo ambos inferiores a los registrados con el tratamiento a base de extracto etanólico de gel de sábila (64.28%), pero sin diferencias significativas ( $P > 0.05$ ).

En ambos casos, los tratamientos presentaron una prevalencia con tendencia al alza, sin diferencia significativa entre el T1 y T2. Con esto, se evidencia que los desinfectantes de pezones estudiados tienen una función orientada a la prevención y en un efecto mucho menor al tratamiento de los casos de mastitis ya adquiridos. Probablemente, la concentración de polisacáridos en el desinfectante a base de sábila, componentes a los que se les atribuye la propiedad antiinflamatoria, fue muy baja para tener un efecto curativo como lo reportó Thangadurai *et al.* (2017).

Por otro lado, la tasa de prevalencia obtenida, es decir, el total de casos registrados durante el período experimental, puede estar justificada en prácticas de manejo no adecuadas y una falta de consistencia en la rutina de ordeño por la alta rotación de personal en el proceso de ordeño, lo cual pudo haber favorecido que las infecciones intramamarias persistan a lo largo del período experimental. Un estudio acerca de los factores de prevalencia de mastitis subclínica no relacionados al animal, determinó que existe diferencia significativa con respecto a las prácticas de manejo durante el ordeño, siendo las prácticas de higiene deficientes uno de los principales factores influyentes (Alvarado *et al.*, 2019). Esto podría explicar la prevalencia obtenida con tendencia creciente de la prevalencia de mastitis, considerando que el desinfectante a base de yodo es un producto comercial que actúa como control positivo, cuyo efecto ha sido probado.

#### **4.3.Determinación de la efectividad de los tratamientos**

La efectividad se determinó a partir del número de casos nuevos totales de mastitis por cuarto registrado por cada tratamiento (*Anexo 9*).

En la *Tabla 5* se muestra la efectividad de los desinfectantes de pezones en prevenir la mastitis, evaluada por medio del número de casos nuevos, incidencia, de manera mensual por cada tratamiento. Esta efectividad se traduce en demostrar cuál de los tratamientos, bajo las mismas condiciones, fue superior en la prevención de aparición de nuevos casos de mastitis, en la incidencia.

Se puede apreciar en la *Tabla 5* que ambos tratamientos no respondieron de la misma forma. Mientras que, el tratamiento 1, testigo, presentó 39.47% de incidencia (cuartos libres afectados por nuevos casos de mastitis); el tratamiento 2, a base de extracto etanólico de *Aloe vera*, obtuvo 32.50%. En relación a la efectividad, el tratamiento 1 mostró 60.53%; mientras que, el tratamiento 2, 67.50%.

Como resultado del cálculo de la efectividad comparativa, se obtuvo que el tratamiento 2 tuvo una ventaja de 11.51% respecto al testigo. Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ). Ambos tratamientos, los desinfectantes pre y post-ordeño lograron una reducción superior al 50% de la aparición de nuevos casos acorde a lo señalado por Ríos *et al.* (2013) y Sharma *et al.* (2014).

**Tabla 5: Efectividad de los tratamientos**

Tratamiento	Cuartos libres	Casos		Total	Incidencia (%)	Efectividad (%)	Efectividad comparativa (%)
		nuevos/mes					
		1	2				
1	38	9	6	15	39.47	60.53	100.00
2	40	10	3	13	32.50	67.50	111.51

Similares resultados obtuvieron Leon *et al.* (2004), cuyo estudio comparó el efecto de dos desinfectantes de pezones post-ordeño en la incidencia de nuevas infecciones intramamarias: uno conformado por el gel de *Aloe vera* y 3% de lanolina y un producto control a base de iodo (0.4%) y 3% de lanolina. El desinfectante a base de *Aloe vera* presentó 31.5% de casos nuevos de mastitis y el iodóforo, 31.2% ( $P > 0.05$ ), resultados semejantes a los obtenidos en esta investigación.

La incidencia de mastitis, proporción de casos nuevos de mastitis registrados en los cuartos libres, con el desinfectante de pezones a base de sábila (*Aloe vera*) puede estar justificada en las propiedades que sus componentes le otorgan. Por un lado, los compuestos fenólicos, especialmente las antraquinonas, que han sido reportadas como el principal componente al que se le atribuye su actividad antibacterial (Forno-Bell *et al.*, 2021). Por ende, una adecuada aplicación de este desinfectante pre y post-ordeño pudo haber reducido la carga bacteriana en la piel del pezón y con esto el riesgo de penetración por microorganismos, lo cual se refleja en la menor incidencia ( $P > 0.05$ ).

#### 4.4. Evaluación económica

Se compararon los costos por litro de los desinfectantes pre y post-ordeño alternativo (*Aloe vera*) y testigo (iodóforo). Tal como lo indica la *Tabla 6*, tanto el desinfectante pre-ordeño cuanto post-ordeño a base de extracto etanólico de *Aloe vera* (T2) tuvo costos por litro menores con respecto al iodo comercial (T1), siendo 5.39% y 6.28% más bajos respectivamente. Cabe resaltar que el extracto etanólico fue elaborado con un extracto comercial de gel de sábila, factor que elevó el costo de producción. Por consiguiente, se

sugiere que el procesamiento de la planta de sábila para la elaboración del desinfectante podría disminuir los costos.

La evaluación comparativa determinó que los costos del desinfectante pre-ordeño a base de *Aloe vera* representan el 94.61% del desinfectante iodóforo; mientras que, el post-ordeño de representa el 93.72% del post-ordeño a base de iodo (7 000 ppm).

Los resultados de la evaluación económica comparativa coinciden con lo indicado por Thangadurai *et al.* (2017), quienes mencionan que los tratamientos convencionales para mastitis pueden tener costos hasta 10 veces más elevados que los tratamientos herbales. Además, a los costos por litro inferiores obtenidos en este estudio con el uso del desinfectante de *Aloe vera*, la leche de la ubre tratada con *Aloe vera* podría tener un valor agregado a su precio en el mercado, por ser libre de residuos químicos. A esto, se suman los resultados superiores obtenidos en efecto preventivo y efectividad ( $P > 0.05$ ). Por otro lado, la elaboración de un desinfectante de pezones a partir de una planta, como es el caso de la sábila, puede abaratar los costos del producto y hacerlo más accesible a los ganaderos de zonas remotas. De esta forma, se promueve la realización de esta práctica pre y post-ordeño, generando un beneficio en la calidad higiénica de la leche.

**Tabla 6: Costo por litro de los desinfectantes pre y post-ordeño**

Desinfectante	Tratamiento	Precio por litro
Pre- ordeño	T1	S/. 7.05
	T2	S/. 6.67
Post-ordeño	T1	S/. 12.10
	T2	S/. 11.34

## V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones establecidas en el presente trabajo, se puede concluir lo siguiente:

- El conteo de células somáticas en la leche presentó tendencia al incremento para ambos tratamientos, pero no presentó diferencia significativa entre estos.
- El efecto preventivo para el tratamiento testigo y alternativo fue de 61.11% y 64.29%, sin diferencia significativa entre los tratamientos.
- La efectividad para los tratamientos 1 y 2 fue de 60.53% y 67.50%. El desinfectante de pezones a base de extracto etanólico de sábila (*Aloe vera*) fue 11.51% más efectivo ( $P > 0.05$ ).
- La evaluación comparativa demostró que los desinfectante pre-ordeño y post-ordeño a base de *Aloe vera* representan menores costos con respecto al desinfectante yodóforo (yodo 7 000 ppm), 94.61% y 93.72% respectivamente ( $P > 0.05$ ).

## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar una evaluación con un diseño experimental que estime el efecto de la etapa de lactación y/o número de partos en la variable respuesta que fue conteo de células somáticas.
- Considerar otros métodos de campo y laboratorio para la evaluación *in vitro* e *in vivo* del desinfectante de pezones a base de extracto etanólico de *Aloe vera* “sábila” (200 mg/mL) como sustituto del desinfectante comercial a base de iodo (7 000 ppm).
- Llevar a cabo más trabajos de investigación acerca de la efectividad del uso de plantas, hierbas medicinales y sus combinaciones con el objetivo de reemplazar los desinfectantes químicos de pezones, en favor de la salud animal, de la seguridad alimentaria y del medio ambiente.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Almeida, D.B.; Damé; L.F.; Bastos, M.E.; de Souza, L., Luiz, J.; de Andrade, C. (2011). Aplicación de plantas medicinales para la antisepsia de pezones de vacas posordeño. *Rev. Cubana Plan. Med.* 16(3). ISSN: 1028-4796
- Alvarado, W.; González, J.; Quilcate, C.; Saucedo, J.; Bardales, J. (2019). Factores de prevalencia de mastitis subclínica en vacas lecheras del distrito de Florida, Región Amazonas, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 30(2), 923-931. doi: 10.15381/rivep.v30i2.16088
- Andresen, H. (2001). Mastitis: Prevención y control. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 12(2), 55-64. ISSN: 1609-9117
- Aterhortua, N.; Rendón Alvarez, L.; Moncada, M.; Molina, D.; Abreu, A.; Moreno, F.; Ramón, J.N. (2013). Evaluación del presellado como método de desinfección de pezones en una rutina de ordeño en el norte de Antioquia. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 2(1).
- Amaro, L.P.A.; Maciel, M. do V.; Lucena, J. A. de.; Lima Júnior, D. M. de.; Sombra, D. da S. (2011). Utilização do extrato aquoso da babosa (aloe vera) no manejo higiênico de ordenha em cabras. *Agropecuária Científica no Semi-Árido*, 7(1), 6-10. ISSN: 1808-6845.
- Avancini, C.; Wiest, J.M. & Dall’Agnol, R. (2008). Antimicrobial Activity of Plants Used in the Prevention and Control of Bovine Mastitis in the Southern Brazil. *Lat. Am. J. Pharm.*, 27(6), 894-9
- Barrera, O. (2019). Selección de leche de vaca para UHT aplicando su perfil analítico como método predictivo. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Banu, A.; Sathyanarayana, B. & Chattannavar G. (2012). Efficacy of fresh Aloe vera gel against multi-drug resistant bacteria in infected leg ulcers. *Australas Med J*, 5(6), 305-309. doi:10.4066/AMJ.2012.1301

- Belay, N.; Mohammed, N. & Seyoum, W. (2022) Bovine Mastitis: Prevalence, Risk Factors, and Bacterial Pathogens Isolated in Lactating Cows in Gamo Zone, Southern Ethiopia. *Vet Med (Auckl)*., 7(13), 9-19. doi: 10.2147/VMRR.S344024.
- Bhakat, C.; Mohammad, A.; Mandal, D.K.; Mandal, A.; Rai, S.; Chatterjee, A.; Ghosh, M.K.; Dutta, T.K. (2020). Readily usable strategies to control mastitis for production augmentation in dairy cattle: A review. *Vet World*, 13(11), 2364-2370. doi: 10.14202/vetworld.2020.2364-2370
- Bhatt, V.D.; Shah, T.M.; Nauriyal, D.S.; Kunjadia, A.P.; Joshi, C.G. (2014). Evaluation of a topical herbal drug for its in-vivo immunomodulatory effect on cytokines production and antibacterial activity in bovine subclinical mastitis. *Ayu.*, 35(2), 198-205. doi:10.4103/0974-8520.146254
- Bogni, C.; Odierno, L.; Raspanti, C.; Giraud, J.; Larriestra, A.; Reinoso, E.;... Vissio, C. (2011). War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16(23), 1653-1611. doi:10.3923/pjbs.2013.1653.1661
- Breyne, K.; Honaker, R.W.; Hobbs, Z.; Richter, M.; Żaczek, M.; Spangler, T.;... Mokres, L. (2017). Efficacy and Safety of a Bovine-Associated *Staphylococcus aureus* Phage Cocktail in a Murine Model of Mastitis. *Front Microbiol.*, 8,2348. doi:10.3389/fmicb.2017.02348
- Calderón, A. & Rodríguez, V. (2008). Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Universidad de Antioquia.
- Callejo, A. (2010). Desinfectantes de pezones. *Revista Frisona Española*, 178. ISSN: 0211-3767.
- Castañeda, M.B.; Cabrera, A.F.; Navarro, Y.; de Vries, W. (2010). Procesamiento de datos y análisis estadísticos usando SPSS.
- Chamba, D. (2019). Prevalencia de mastitis subclínica en vacas de la Asociación de Ganaderos de Pueblo Nuevo de Colán - provincia de Paita – Piura –Perú. Universidad Nacional de Piura.
- Cheng, W.N. & Han, S.G. (2020). Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - A review. *Asian-Australas J Anim Sci.*, 33(11), 1699-1713. doi: 10.5713/ajas.20.0156



- Chotigarpa, R.; Lampang, K.N.; Pikulkaew, S.; Okonogi, S.; Silman, P.; Mektrirat, R. (2019). Antiseptic effect of natural teat dip containing lactic acid against mastitis-causing *Escherichia coli*. *Vet World*, 12(3), 397-401. doi: 10.14202/vetworld.2019.397-401
- Deb, R.; Kumar, A.; Chakraborty, S.; Verma, A.K.; Tiwari, R.; Dhama, K.;... Kumar, S. (2013). Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. *Pak J Biol Sci.*, 16(23), 1653-1661. doi:10.3923/pjbs.2013.1653.1661
- De Sainz, A. (1990). Estudio comparativo de dos selladores post-ordeño para pezones en la prevención de mastitis en vacas lecheras. Tesis para optar el título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- De Vlieghe, S.; Ohnstad, I. & Piepers, S. (2018). Management and prevention of mastitis: A multifactorial approach with a focus on milking, bedding and data-management. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(6), 1214–1233. doi: 10.1016/S2095-3119(17)61893-8
- Domínguez, R.; Arzate, I.; Chanona, J.; Welti, J.; Alvarado, J.; Calderón, G.;... Gutiérrez, G. (2012). El gel de Aloe vera: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Rev. Mex. Ing. Quím.*, 11(1), 1665-2738.
- Dos Santos, J.; dos Santos, K. R. N.; Gentilini, E.; Sordelli, D.; de Freire Bastos, M. do C. (2002). Phenotypic and genetic characterisation of bacteriocin-producing strains of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 85(2), 133–144. doi:10.1016/s0378-1135(01)00476-x
- EMA-EFSA (European Medicines Agency-European Food Safety Authority). (2017). EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). *EFSA J.*, 15, 4666. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4666
- Fani, M. & Kohanteb, J. (2012). Inhibitory activity of Aloe vera gel on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. *Journal of Oral Science* 54(1), 15-21. doi:10.2334/josnurd.54.14.
- Fatalo, T. & Tesfaye, S. (2020). Antibacterial Efficacy of Aloe Vera, Guava and their Combined Leaf Extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Isolated from Mastitic Dairy Cows. An *in-vitro* Study. European Journal of Biological Sciences, 12(1), 01-09.

- Fiordalisi, SdA. L.; Honorato, L.H. & Kuhnen, S. (2018). Aloe barbadensis Miller leaf exudate is a potential treatment for bovine mastitis. doi: 10.12688/f1000research.15671.1
- Fitzpatrick, S.R.; Garvey, M.; Flynn, J.; O'Brien, B.; Gleeson, D. (2021). The effect of disinfectant ingredients on teat skin bacteria associated with mastitis in Irish dairy herds. Irish Veterinary Journal, 74, 1. doi: 10.1186/s13620-020-00179-7
- Forno-Bell, N; Bucarey, S.; García, D.; Iragüen, D.; Chacón, O.; San Martín, B. (2019). Antimicrobial effects caused by Aloe barbadensis Miller on bacteria associated with mastitis in dairy cattle. Natural Product Communications. doi: 10.1177/1934578X19896670
- Forno-Bell, N.; Muñoz, M.A.; Chacón, O.; Pachá, P.; Iragüen, D.; Cornejo, J.; San Martín, B. (2021). Efficacy Prediction of Four Pharmaceutical Formulations for Intramammary Administration Containing Aloe vera (L.) Burm. f. Combined With Ceftiofur or Cloxacillin in Lactating Cows as an Alternative Therapy to Treat Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus*. Front Vet Sci., 8,572568. doi: 10.3389/fvets.2021.572568
- Gabli, Z.; Djerrou, Z.; Gabli, A.E.; Bensalem, M. (2019). Prevalence of mastitis in dairy goat farms in Eastern Algeria. Vet World, 12(10), 1563-1572. doi:10.14202/vetworld.2019.1563-1572
- Gao, Y.; Kuok, K.I.; Jin, Y.; Wang, R. (2019). Biomedical applications of Aloe vera. Crit Rev Food Sci Nutr., 59(1), S244-S256. doi:10.1080/10408398.2018.1496320
- Godden, S. M.; Royster, E.; Timmerman, J.; Rapnicki, P.; Green, H. (2017). Evaluation of an automated milk leukocyte differential test and the California Mastitis Test for detecting intramammary infection in early- and late-lactation quarters and cows. Journal of Dairy Science, 100(8), 6527–6544. doi:10.3168/jds.2017-12548
- Gomes, F. & Henriques, M. (2016). Control of Bovine Mastitis: Old and Recent Therapeutic. Curr Microbiol., 72(4), 377–382. doi: 10.1007/s00284-015-0958-8
- Gomes, F.; Saavedra, M.J. & Henriques, M. (2016). Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms. Pathog Dis., 74(3), ftw006. doi:10.1093/femspd/ftw006

- Gómez, A.M. (2003). El Aloe vera en Medicina. SEMERGEN, 20(7).
- Gómez, O.; Santivañez, C.; Arauco, F.; Espezua, O.; Manrique, J. (2015). Criterios de Interpretación para California Mastitis Test en el Diagnóstico de Mastitis Subclínica en Bovinos. Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú, 26(1). doi:10.15381/rivep.v26i1.10912
- González, A.; Suarez, Y.E. & Labrada, A. (2021). Evaluación del tratamiento con ajo (*Allium sativum*) en la antisepsia final del pezón. Rev. Prod. Anim. 33(2). ISSN: 2224-7920
- Guerrero, A. (2017). Prevalencia de mastitis clínica y subclínica en los establos lecheros de la Universidad Nacional Agraria La Molina período 2012-2016. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Halasa, T.; Huijps, K.; Ósterás, O.; Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. Vet Q. 29, 18-31. doi:10.1080/01652176.2007.9695224
- Hamman, J.H. (2008). Composition and applications of Aloe vera leaf gel. Molecules, 13(8), 1599-1616. doi:10.3390/molecules13081599
- Harmon, R.J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. J Dairy Sci., 77(7), 2103-2112. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8
- Heikkilä, A.M.; Liski, E.; Pyörälä, S.; Taponen, S. (2018). Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. J Dairy Sci., 101(10), 9493-9504. doi:10.3168/jds.2018-14824
- Hernández, J.M. & Bedolla, J.L.C. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. REDVET, 9(9), 1-34. ISSN 1695-7504
- Huijps, K.; Lam, T. J. & Hogeveen, H. (2008). Costs of mastitis: facts and perception. Journal of Dairy Research, 75(01). doi:10.1017/s0022029907002932
- Jamali, H.; Barkema, H.W.; Jacques, M.; Lavallée-Bourget, E.M.; Malouin, F.; Saini, V.;... Dufour, S. (2018). Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. J Dairy Sci., 101(6), 4729-4746. doi:10.3168/jds.2017-13730
- Kandeel, S.A.; Megahed, A.A.; Ebeid, M.H; Constable, P.D. (2019). Evaluation of 3 esterase tests for the diagnosis of subclinical mastitis at dry-off and freshening in dairy cattle. Journal of Dairy Science, 102(2), 1402-1416. doi: 10.3168/jds.2017-14345

- Kandeel, S.A.; Morin, D.E.; Calloway, C.D.; Constable, P.D. (2018). Association of California Mastitis Test Scores with Intramammary Infection Status in Lactating Dairy Cows Admitted to a Veterinary Teaching Hospital. *J Vet Intern Med.*, 32(1), 497-505. doi:10.1111/jvim.14876
- Kruze, J. (1998). La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. *Arch. med. vet.*, 30 (2). doi: 10.4067/S0301-732X1998000200001
- Kuhlmann, F. (2014). Evaluación del efecto antimicrobiano de *Aloe barbadensis* Miller asociado a Ceftiofur o Cloxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Universidad de Chile.
- Kumar, R.; Singh, A.K.; Gupta, A.; Bishayee, A.; Pandey, A.K. (2019). Therapeutic potential of Aloe vera-A miracle gift of nature. *Phytomedicine*, 60, 152996. doi:10.1016/j.phymed.2019.152996
- Lavon, Y.; Ezra, E.; Leitner, G.; Wolfenson, D. (2011). Association of conception rate with pattern and level of somatic cell count elevation relative to time of insemination in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4538–4545. doi:10.3168/jds.2011-4293
- Lawrence, R.; Tripathi, P. & Jeyakumar, E. (2009). Isolation, purification and evaluation of antibacterial agents from Aloe vera. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 906-915.
- Leigh, J. A. (1999). *Streptococcus uberis*: A Permanent Barrier to the Control of Bovine Mastitis? *The Veterinary Journal*, 157(3), 225–238. doi:10.1053/tvj.1998.0298
- Leon, L.; Beer, C.; Wäcken, H.; Nürnberg, M.; Andersson, R. (2004). Effect on teat skin condition and effectivity against new intramammary infections of a barrier teat dip based on aloe vera gel. *Tierärztliche Umschau* 59(4), 237-244.
- Leyton, S.M.; Monge, G.D. & Beltramino, J.B. (2013). Alfilerillo sellador. *Sitio Argentino de Producción Animal*.
- Menzies, P. I. & Ramanon, S. Z. (2001). Mastitis of Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 17(2), 333-358. doi:10.1016/s0749-0720(15)30032-3
- Magandi, V.E. (2008). Determinación de mastitis subclínica en vacas lecheras por medio del recuento de células somáticas en el tanque. Universidad de El Salvador.

- Mordmuang, A.; Brouillette, E.; Voravuthikunchai, S.P.; Malouin, F. (2019). Evaluation of a *Rhodomyrtus tomentosa* ethanolic extract for its therapeutic potential on *Staphylococcus aureus* infections using *in vitro* and *in vivo* models of mastitis. *Vet Res.*, 50(1), 49. doi:10.1186/s13567-019-0664-9
- Moroni, P.; Nydam, D. V.; Ospina, P. A.; Scillieri-Smith, J. C.; Virkler, P. D.; Watters, R. D.; ...Yeager, A. E. (2018). Diseases of the Teats and Udder. *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 389–465. doi:10.1016/b978-0-323-39055-2.00008-5
- Musmeci, R. & Lezcano, M.T. (2013). Acción antimicrobiana del gel de aloe vera sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*, 7(7), 23-27.
- Natasha, F.; Dutta, K. & Moniruzzaman Mollah, A.K.M. (2015). Antimicrobial and decontamination efficacy of neem, aloe vera and neem+ aloe vera in gutta percha (gp) cones using *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as contaminants. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.*, 17(4), 917-920. ISSN: 0972-3005.
- O'Flaherty, S.; Ross, R.P.; Flynn, J.; Meaney, W.J.; Fitzgerald, G.F.; Coffey, A. (2005). Isolation and characterization of two anti-staphylococcal bacteriophages specific for pathogenic *Staphylococcus aureus* associated with bovine infections. *Lett Appl Microbiol.*, 41(6), 482-486. doi:10.1111/j.1472-765X.2005.01781.x
- Olechnowicz, J. & Jąskowski, J. M. (2012). Somatic Cells Count in Cow's Bulk Tank Milk. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(6), 681–686. doi:10.1292/jvms.11-0506
- Olivera, L. (2001). Sanidad del ganado lechero de la Cuenca del Sur. *Rev. investig. vet. Perú*, 23(2). ISSN:1609-9117
- Olivera-Angel, M.; Vargas, K.; Guzmán, V.; Huertas-Molina, O.F.; Londoño, D. (2020). La lactancia vista desde múltiples enfoques. Primera parte: biología e inmunología. Universidad de Antioquía.
- Patil, M.P.; Nagvekar, A.S.; Ingole, S.D.; Bharucha, S.V.; Palve, V.T. (2015). Somatic cell count and alkaline phosphatase activity in milk for evaluation of mastitis in buffalo. *Vet World*, 8(3), 363-366. doi:10.14202/vetworld.2015.363-366
- Paulrud, C.O. (2005). Basic Concepts of the Bovine Teat Canal. *Veterinary Research Communications*, 29(3):215-45. doi: 10.1023/B:VERC.0000047496.47571.41

- Pawar, V.C.; Bagatharia, S.B & Thaker, V.S. (2005). Antibacterial activity of Aloe vera leaf gel extract against *Staphylococcus aureus*. Indian Journal of Microbiology, 45(3), 227-229.
- Portacheck. (2022). PortaSCC for Cows. Recuperado de: <https://portacheck.com/product/portascc-milk-test/>.
- Pulero, A.; Rodríguez, M.&Texeira, S. (2010). Evaluación del uso de sellador sobre la incidencia de mastitis en un tambo comercial. Universidad de la República.
- Queirolo, P. & Muñoz, M. (2012). Efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico de Aloe vera, l., sobre *Streptococcus mutans*. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
- Ramírez, G. (2003). Sábila (Aloe vera). Rev. Natura Medicatrix, 21(1), 0212-9078.
- Ranjbar, R. & Yousefi, A. (2018). Effects of Aloe Vera and Chitosan Nanoparticle Thin-Film Membranes on Wound Healing in Full Thickness Infected Wounds with Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*. Bulletin of Emergency and Trauma, 6(1), 8–15. doi:10.29252/beat-060102
- Rasmussen, M.D. & Larsen, H.D. (1998). The effect of post milking teat dip and suckling on teat skin condition, bacterial colonisation, and udder health. Acta Vet Scand., 39(4):443-52. doi: 10.1186/BF03547770
- Reyes de Fuentes, D. & Da Silva, F. (2014). Actividad antimicrobiana in vitro del extracto foliar de zabila (*Aloe vera L.*) en microorganismos de interés clínico. *Salus*, 18(3), 27-32.
- Ríos, R.; Ramos, N.; Vranix, M.; Farías, M. (2013). Desarrollo de un Sellador Post-Ordeño con Goma Espina Corona. Inf. Tecnol., 24(2), 31-36. doi: 10.4067/S0718-07642013000200005
- Rivero, R.; Rodríguez, E.A.; Menéndez, R.; Fernández, J.A.; del Barrio, G.; González, M.L. (2002). Obtención y caracterización preliminar de un extracto de Aloe vera L. con actividad antiviral. Rev. Cubana Plant. Med 7(1), 32-8.
- Rodríguez, E. R.; Martín, J. D. & Romero, C. D. (2010). Aloe vera as a Functional Ingredient in Foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 50(4), 305–326. doi:10.1080/10408390802544454
- Rodríguez, I.; Santana, D.; Recio, O.; Fuentes, M. (2006). Beneficios del Aloe Vera I. (sábila) en las afecciones de la piel. Revista Cubana de Enfermería, 22(3). ISSN: 1561-2961

- Rossi, R.S.; Amarante, A.F.; Correia, L.B.N.; Guerra, S.T.; Nobrega, D.B.; Latosinski, G.S.;...Pantoja, J.C.F. (2018). Diagnostic accuracy of Somaticell, California Mastitis Test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections. *J Dairy Sci.*, 101(11), 10220-10229. doi:10.3168/jds.2018-14753
- Ruegg, P. L. (2009). Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. *J. Anim. Sci*, 87(13). doi: 10.2527/jas.2008-1217
- Ruegg, P.L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci.*, 100(12), 10381-10397. doi:10.3168/jds.2017-13023
- Ruiz, A.; Ruiz, C.; Brito, E. & Navarro, R. (2012). Aplicaciones terapéuticas del Aloe vera. *Canarias Médica y Quirúrgica*.
- Saddiq, A.A. & Mohamed, A.M. (2019). Susceptibility Assessment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains to *Lepidium sativum* Extract. *Dose Response*, 17(2), 1559325819850425. doi:10.1177/1559325819850425
- Salvador, R.T.; Soliven, R.L.; Balagan, E.J.Y.; Abes, N.S.; Gutierrez, C.A.; Mingala, C.N. (2014). Evaluation of a portable somatic cell counter in the diagnosis of bubaline subclinical mastitis. *Thai Journal of Agricultural Science* 47(4), 205–209. ISSN : 0049-3589
- Sánchez, A.I. (2013). Calidad higiénico-sanitaria de la leche de vaca en los establos de la cuenca lechera de La Libertad. Universidad Nacional de Trujillo.
- Sánchez, M.P.; Gutiérrez, N.P & Posada, I.J. (2018). Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 29(1), 226-239. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14084>.
- Schrick, F. N.; Hockett, M. E.; Saxton, A. M.; Lewis, M. J., Dowlen, H. H.; Oliver, S. P. (2001). Influence of Subclinical Mastitis During Early Lactation on Reproductive Parameters. *Journal of Dairy Science*, 84(6), 1407–1412. doi:10.3168/jds.s0022-0302(01)70172-5
- Seegers, H.; Fourichon, C & Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34(5), 475–491. doi:10.1051/vetres:2003027

- Serna, L. & Pabón, O. V. (2016). Development of a Teat Bio-sealant and Evaluation of its Technological and Functional Properties. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 8(2), 111–119. doi:10.1007/s12602-016-9210-5
- Sharma, N.; Mukherjee, R. & Kumar Mishra, A. (2014). Comparative Evaluation of Aloe Vera and Glutaraldehyde Teat Antisepsis on Somatic Cell Count in an Organized Dairy Farm. *Indian Vet. J.*, 91(04), 40-41.
- Suárez, J. (2019). Evaluación de la capacidad de aceites esenciales en la prevención y control de la mastitis en bovinos. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Tezera, M. & Aman Ali, E. (2021). Prevalence and associated risk factors of Bovine mastitis in dairy cows in and around Assosa town, Benishangul-Gumuz Regional State, Western Ethiopia. *Vet Med Sci.*, 7(4), 1280-1286. doi: 10.1002/vms3.454
- Thangadurai, R.; Venilla, M.A.; Shanmugam, P.S. (2017). Management of Mastitis in Dairy Cattle using Herbal Combination. *J. Krishi Vigyan*, 5(2), 164-167.
- Velásquez, C. & Vega, J. (2012). Calidad de la leche y mastitis subclínica en establos de la provincia de Huaura, Lima. *Rev. Investig. Vet. Perú* (23). 1609-9117
- Vissio, C.; Agüero, D.A.; Raspanti, C.G.; Odierno, L.M.; Larriestra, A.J. (2015). Pérdidas productivas y económicas diarias ocasionadas por la mastitis y erogaciones derivadas de su control en establecimientos lecheros de Córdoba, Argentina. *Arch Med Vet* 47, 7-14
- Wangari, E. (2020). Effect of mastitis on milk production in dairy cows in Kenya. *Journal of Animal Health*, 2(5), 85-91. ISSN: 2709-5517.
- Wellenberg, G.; Van der Poel, W. H. & Van Oirschot, J. (2002). Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology*, 88(1), 27–45. doi:10.1016/s0378-1135(02)00098-6
- Wolfenson, D.; Leitner, G. & Lavon, Y. (2015). The Disruptive Effects of Mastitis on Reproduction and Fertility in Dairy Cows. *Italian Journal of Animal Science*, 14:4125. doi: 10.4081/ijas.2015.4125
- Yalçın, C. (2000). Cost of mastitis in Scottish Dairy Herds with low and high subclinical mastitis problem. *Tur J Vet Anim Sci*, 24(5), 465-472.



## VIII. ANEXOS

### Anexo 1: Resultados de la prueba CMT

Cuartos						
Código	Nº partos	AD	AI	PD	PI	Condición
1347	5	1	2	1	2	DESCARTADO
1675	3	1	2	1	1	DESCARTADO
1733	3	0	0	1	T	SELECCIONADO
1749	2	1	T	0	2	DESCARTADO
1763	1	2	2	0	0	DESCARTADO
1769	3	0	0	0	0	SELECCIONADO
1801	3	T	T	T	2	DESCARTADO
1803	2	T	0	0	1	SELECCIONADO
1815	2	1	1	1	1	SELECCIONADO
1823	1	1	1	0	0	SELECCIONADO
1859	2	0	1	0	0	SELECCIONADO
1875	2	0	0	0	0	SELECCIONADO
1879	1	1	0	0	0	SELECCIONADO
1887	1	1	0	0	0	SELECCIONADO
1893	2	0	0	0	1	SELECCIONADO
1905	1	0	0	0	0	SELECCIONADO
1915	2	0	T	T	CIEGO	DESCARTADO
1917	1	0	0	0	0	SELECCIONADO
1945	1	0	0	T	T	SELECCIONADO
1949	1	0	0	0	0	SELECCIONADO
1951	1	0	0	0	T	SELECCIONADO
1979	1	T	T	T	T	SELECCIONADO
1983	1	0	0	0	T	SELECCIONADO
2001	1	0	1	T	0	SELECCIONADO

2007	1	0	T	0	0	SELECCIONADO
2013	1	T	0	2	0	DESCARTADO
2017	1	0	0	0	0	SELECCIONADO
2021	5	0	0	0	0	SELECCIONADO

**Anexo 2: Determinación *in vitro* de la capacidad inhibitoria del *Aloe vera***



Anexos

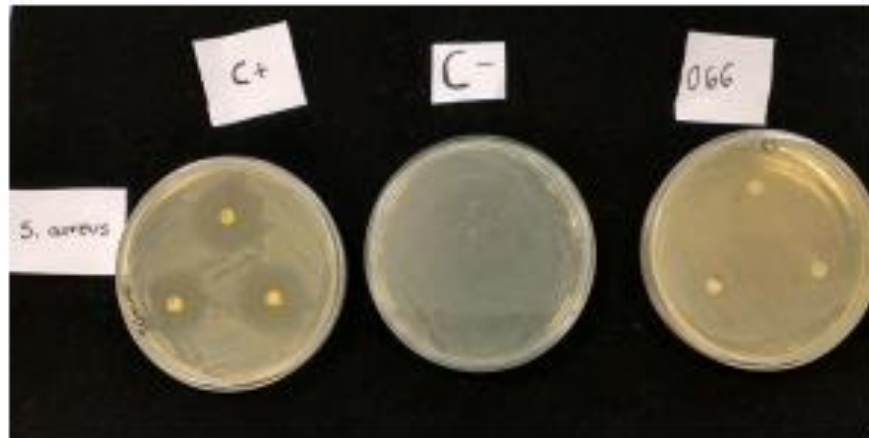


Fig 1. Extracto etanólico de gel frente a *Staphylococcus aureus*

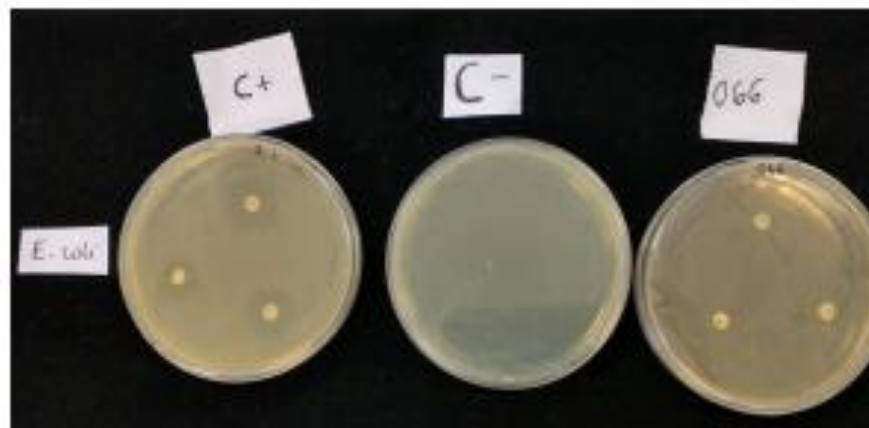


Fig 2. Extracto etanólico de gel frente a *Escherichia coli*

**Anexo 3: Resultados de la evaluación de la condición de la piel del pezón frente a dos concentraciones de desinfectante**

La evaluación de la condición de la piel del pezón, basada en la escala de evaluación descrita por Rasmussen & Larsen (1998), tuvo los siguientes resultados:

Concentración	100 mg/mL		200 mg/mL	
	Anterior Derecho	Posterior Derecho	Anterior Izquierdo	Posterior Izquierdo
1879	2	2	2	2
1713	2	2	2	2
1547	2	3	2	2
1705	2	2	2	2

Donde:

1 = Muy suave; 2 = Suave; 3 = Ligeramente reseca; 4 = Reseca; 5 = Agrietada; 6 = Presencia de llagas

**Anexo 4: Resultados de prueba PortaSCC®**

Conteo de Células Somáticas (x1000 CS/mL)												
Cuarto	Anterior Izquierdo (AI)			Posterior Izquierdo (PI)			Anterior Derecho (AD)			Posterior Derecho (PD)		
	CI	CM	CF	CI	CM	CF	CI	CM	CF	CI	CM	CF
Control												
Vaca												
1733	60	2480	390	50	400	100	50	50	330	2580	2150	960
1769	50	120	310	150	50	30	20	30	10	190	170	20
1803	160	200	210	670	520	560	130	630	1120	50	690	1520
1815	850	480	640	430	380	230	450	400	560	80	110	220
1823	520	250	530	40	10	140	450	490	280	30	490	250
1859	50	90	80	20	10	140	30	260	90	60	340	20
1875	50	240	50	50	160	40	50	200	50	50	10	50
1879	50	250	210	50	380	340	50	180	110	50	270	350
1887	150	750	150	110	90	320	1510	1760	1730	300	450	110
1893	340	610	540	2780	260	470	240	500	560	20	370	590
1905	10	10	50	490	490	1190	220	30	30	150	200	10
1917	340	340	50	50	50	50	50	50	10	40	80	150
1945	170	400	740	30	80	140	60	150	30	160	90	50
1949	50	50	90	80	50	50	50	630	520	60	50	10
1951	100	160	50	10	50	50	30	50	10	40	50	30
1979	50	230	140	50	170	150	50	240	20	50	50	1310
1983	50	50	50	30	120	270	50	200	10	90	270	50
2001	240	1270	1720	580	190	1840	1460	1070	1850	360	230	470
2007	80	50	500	10	150	370	30	40	20	20	50	50
2017	240	160	80	280	120	130	280	210	50	80	110	50
2021	30	120	70	50	290	50	50	130	100	80	110	30

**Anexo 5: Análisis de varianza del efecto de los tratamientos al día 0 en el conteo de células somáticas – Control Inicial**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Media</i>	<i>N</i>	<i>Desv. típ</i>
T1: testigo	229761.905	42	450330.437
T2: alternativo	234523.81	42	487508.361
Total	232142.86	84	466458.256

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Inter- grupos	476190476	1	476190476	0.00216223	0.96302495	3.95738832
Intra- grupos	18059E+13	82	22023E+11			
Total	1,8059E+13	83				

MEDIDAS DE ASOCIACIÓN

	<i>Eta</i>	<i>Eta cuadrado</i>
CCS*tratamiento	0.005	0.000

PRUEBA DE HIPÓTESIS

1)  $H_0: CCS_{T1} = CCS_{T2}$

$H_a: CCS_{T1} \neq CCS_{T2}$

2)  $\alpha = 0.05$

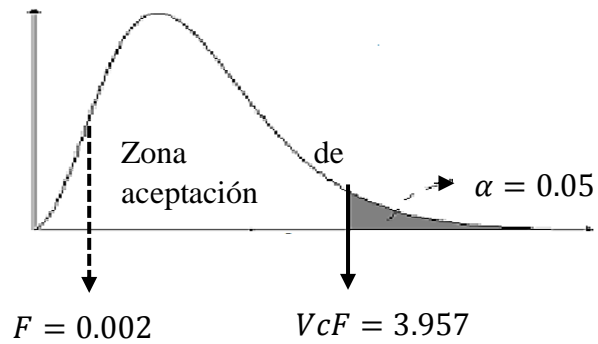
3)  $F = 0.00216223$

*Valor crítico para F (VcF) = 3.95738832*

4) Criterios de decisión

*Si:  $F \leq VcF$  , se acepta  $H_0$*

*Si:  $F > VcF$  , se rechaza  $H_0$*



5) Conclusión

$F \leq VcF$  Se acepta la hipótesis propuesta. No existe evidencia estadística que existe diferencia significativa entre el efecto sobre el conteo de células somáticas de los tratamientos.



**Anexo 6: Análisis de varianza del efecto de los tratamientos al día 30 en el conteo de células somáticas – Control Medio**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Media</i>	<i>N</i>	<i>Desv. típ</i>
T1: testigo	293571.43	42	420016.384
T2: alternativo	324761.90	42	433669.752
Total	309166.67	84	424608.135

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Inter- grupos	2,043E+10	1	2,043E+10	0.11210262	0.73861787	3.95738832
Intra- grupos	1,4944E+13	82	1,8224E+11			
Total	1,4964E+13	83				

MEDIDAS DE ASOCIACIÓN

	<i>Eta</i>	<i>Eta cuadrado</i>
CCS*tratamiento	0.037	0.001

PRUEBA DE HIPÓTESIS

- 1)  $H_0: CCS_{T1} = CCS_{T2}$   
 $H_a: CCS_{T1} \neq CCS_{T2}$

- 2)  $\alpha = 0.05$

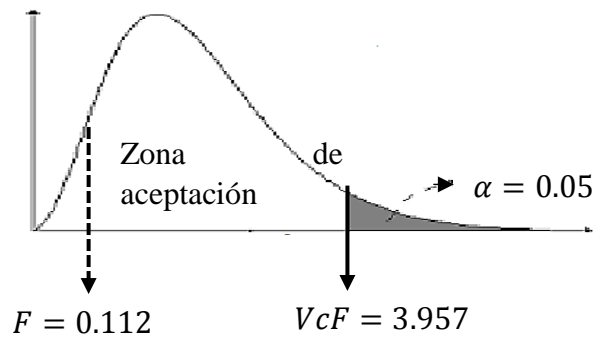
- 3)  $F = 0.11210262$

*Valor crítico para F (VcF) = 3.95738832*

4) Criterios de decisión

*Si:  $F \leq VcF$  , se acepta  $H_0$*

*Si:  $F > VcF$  , se rechaza  $H_0$*



5) Conclusión

$F \leq VcF$  Se acepta la hipótesis propuesta. No existe evidencia estadística que existe diferencia significativa entre el efecto sobre el conteo de células somáticas de los tratamientos.

**Anexo 7: Análisis de varianza del efecto de los tratamientos al día 60 en el conteo de células somáticas – Control Final**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Media</i>	<i>N</i>	<i>Desv. típ</i>
T1: testigo	316904.76	42	409476.097
T2: alternativo	328333.33	42	495481.617
Total	322619.05	84	451807.932

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Inter- grupos	2742857143	1	2742857143	0.01327705	0.90854763	3.95738832
Intra- grupos	1,694E+13	82	2,0659E+11			
Total	1,6943E+13	83				

MEDIDAS DE ASOCIACIÓN

	<i>Eta</i>	<i>Eta cuadrado</i>
CCS*tratamiento	0.013	0.000

PRUEBA DE HIPÓTESIS

1)  $H_0: CCS_{T1} = CCS_{T2}$

$H_a: CCS_{T1} \neq CCS_{T2}$

2)  $\alpha = 0.05$

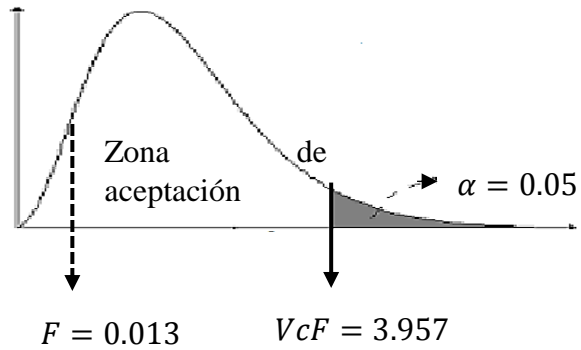
3)  $F = 0.01327705$

*Valor crítico para F (VcF) = 3.95738832*

4) Criterios de decisión

*Si:  $F \leq VcF$  , se acepta  $H_0$*

*Si:  $F > VcF$  , se rechaza  $H_0$*



5) Conclusión

$F \leq VcF$  Se acepta la hipótesis propuesta. No existe evidencia estadística que existe diferencia significativa entre el efecto sobre el conteo de células somáticas de los tratamientos.

## Anexo 8: Efecto preventivo de los tratamientos

### VALORES OBSERVADOS

<i>Tratamientos</i>	<i>Cuartos</i>		
	<i>Totales</i>	<i>No afectados</i>	<i>Afectados</i>
T1: testigo	126	80	46
T2: alternativo	126	81	45
	252	161	91

$$X^2 = \frac{(o - e)^2}{e}; P1 = \frac{126 \times 161}{252} = 80.5$$

### VALORES ESTIMADOS

<i>Tratamientos</i>	<i>Cuartos</i>		
	<i>Totales</i>	<i>No afectados</i>	<i>Afectados</i>
T1: testigo	126	80.5	45.5
T2: alternativo	126	80.5	45.5
	252	161	91

### PRUEBA DE CHI-CUADRADA

	<i>Chi-cuadrada</i>	<i>GL</i>	<i>Valor p</i>
Pearson	0.017	1	0.896
Relación de verosimilitud	0.017	1	0.896

### PRUEBA DE HIPÓTESIS

1)  $H_0: P_{T1} = P_{T2}$

$H_a: P_{T1} \neq P_{T2}$

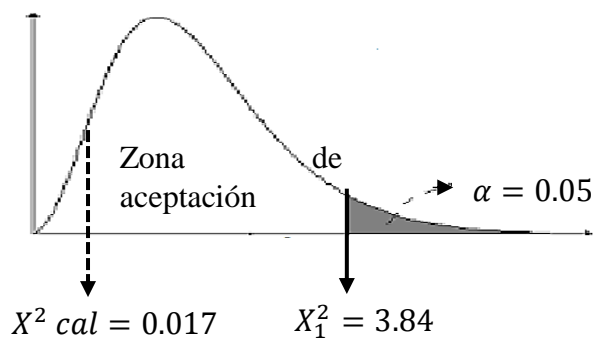
2)  $\alpha = 0.05$

$gl = 1$

3)  $X^2_{cal} = 0.017$

$X^2_1 = 3.84$

4) Regiones críticas



Criterios de decisión

Si  $X^2 \leq X^2_1$ , se acepta  $H_0$  ; Valor  $p > 0.05$ , se acepta  $H_0$

Si  $X^2 > X^2_1$ , se rechaza  $H_0$  ; Valor  $p < 0.05$ , se rechaza  $H_0$

5) Conclusión

$X^2 < X^2_1$  ;  $p > 0.05$

Se acepta la hipótesis propuesta. No existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis de igualdad de la efectividad entre los tratamientos.

## Anexo 9: Efectividad de los tratamientos

### VALORES OBSERVADOS

<i>Tratamientos</i>	<i>Cuartos</i>		
	<i>Cuartos libres</i>	<i>No afectados</i>	<i>Afectados</i>
T1: testigo	38	23	15
T2: alternativo	40	27	13
	78	50	28

$$X^2 = \frac{(o - e)^2}{e}; P1 = \frac{38 \times 50}{78} = 24.359$$

### VALORES ESTIMADOS

<i>Tratamientos</i>	<i>Cuartos</i>		
	<i>Cuartos libres</i>	<i>No afectados</i>	<i>Afectados</i>
T1: testigo	38	24,359	13,641
T2: alternativo	40	25,641	14,359
	78	50.000	28.000

### PRUEBA DE CHI-CUADRADA

	<i>Chi-cuadrada</i>	<i>GL</i>	<i>Valor p</i>
Pearson	0.412	1	0.521
Relación de verosimilitud	0.412	1	0.521

### PRUEBA DE HIPÓTESIS

1)  $H_0: E_{T1} = E_{T2}$

$H_a: E_{T1} \neq E_{T2}$

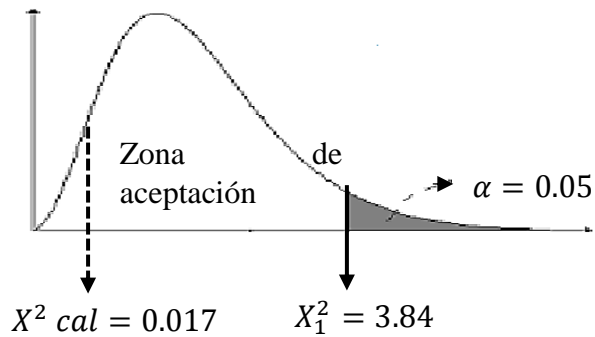
2)  $\alpha = 0.05$

$gl = 1$

3)  $X^2_{cal} = 0.412$

$X^2_1 = 3.84$

4) Regiones críticas



Criterios de decisión

Si :  $X^2 \leq X^2_1$  , se acepta  $H_0$  ; Valor  $p > 0.05$ , se acepta  $H_0$

Si :  $X^2 > X^2_1$  , se rechaza  $H_0$  ; Valor  $p < 0.05$ , se rechaza  $H_0$

5) Conclusión

$X^2 < X^2_1$  ;  $p > 0.05$

Se acepta la hipótesis propuesta. No existe evidencia estadística que existe diferencia significativa entre el efecto preventivo de los tratamientos.