

16  
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**ESTUDIO COMPARATIVO - CUANTITATIVO DEL  
ACEITE ESENCIAL DE PROPOLEO, EL YODO  
POLIVINILPIRROLIDONA Y EL CLORURO DE  
ALKYL DIMETIL BENZIL AMONIO SOBRE LA  
POBLACION BACTERIANA DE LAS TETAS DE  
VACAS LECHERAS**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
**P R E S E N T A :**  
**ANA ELENA ARROYO YLLANES**

**Asesores: Ph. D.M.V.Z. Héctor Sumano López**  
**M.V.Z. Ana E. Auro de Ocampo M.V.Z. Carlos Villagrán Vélez**

**México, D. F.**

**1988**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	11
DISCUSION.....	12
CUADROS.....	15
FIGURAS.....	18
LITERATURA CITADA.....	21

## RESUMEN

ARROYO YLLANES ANA ELENA. ESTUDIO COMPARATIVO-CUANTITATIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE PROPOLEO, EL YOYO POLIVINILPIRROLIDONA Y EL CLORURO DE ALKYL DIMETIL BENZIL AMONIO SOBRE LA POBLACION BACTERIANA DE LAS TETAS DE VACAS LECHERAS. (Bajo la asesoría de Héctor Sumano L., Ana E. Auro de O. y Carlos Villagrán V.).

Con el objeto de evaluar y comparar el efecto del aceite esencial de propóleo sobre la población bacteriana de tetas de vacas lecheras, se utilizarán 50 tetas divididas en 5 grupos de 10 cada una conforme a la siguiente distribución: a) Yodopolivinilpirrolidona, B) Cloruro de kyl dime til benzil amonio, C) Aceite esencial de propóleo, D) Testi go tratado con alcohol al 70% y E) Testigo no tratado. Las tetas fueron recolectadas en el rastro, lavadas y deshidratadas con alcohol antes de ser utilizadas. En ellas se practica la prueba de constatación de la eficacia antiséptica utilizada por The National Mastitis Council (NMC). Los resultados indican que los mejores grupos fueron A y C seguidos de B y D, finalmente el grupo testigo mostró una población bacteriana del orden de  $1 \times 10^6$ , lo que resulta congruente con la metodología aceptada. A pesar, de la eficacia del aceite esencial de propóleo se discute como relativo su uso en la práctica diaria de antiseptia de tetas.

## RESUMEN

ARROYO YLLANES ANA ELENA. ESTUDIO COMPARATIVO-CUANTITATIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE PROPOLEO, EL YODO POLIVINILPIRROLIDONA Y EL CLORURO DE ALKYL DIMETIL BENZIL AMONIO SOBRE LA POBLACION BACTERIANA DE LAS TETAS DE VACAS LECHERAS. (Baja la asesoría de Héctor Sumano L., Ana E. Auro de O. y Carlos Villagrán V.).

Con el objeto de evaluar y comparar el efecto del aceite esencial de propóleo sobre la población bacteriana de tetas de vacas lecheras, se utilizarán 50 tetas divididas en 5 grupos de 10 cada una conforme a la siguiente distribución: a) Yodopolivinilpirrolidona, B) Cloruro de kyl dimetil benzil amonio, C) Aceite esencial de propóleo, D) Testigo tratado con alcohol al 70% y E) Testigo no tratado. Las tetas fueron recolectadas en el rastró, lavadas y deshidratadas con alcohol antes de ser utilizadas. En ellas se práctico la prueba de constatación de la eficacia antiséptica utilizada por The National Mastitis Council (NMC). Los resultados indican que los mejores grupos fueron A y C seguidos de B y D, finalmente el grupo testigo mostró una población bacteriana del orden de  $1 \times 10^6$ , lo que resulta congruente con la metodología aceptada. A pesar, de la eficacia del aceite esencial de propóleo se discute como relativo su uso en la práctica diaria de antisepsia de tetas.

## INTRODUCCION

Desde hace muchos años se ha reconocido que la mastitis es una de las enfermedades más difíciles de controlar y que mayores pérdidas ocasiona a la ganadería tanto nacional como mundial ( 9, 17, 19, 23 ). De acuerdo con estudios realizados en nuestro país, los hatos lecheros tienen una incidencia de mastitis subclínica de 50-70% y la aparición de nuevos casos en las explotaciones se debe principalmente a sistemas de higiene deficientes durante el proceso de ordeño ( 25 ). Por ejemplo, en 1977 se realizó un muestreo por García y Pérez ( 5 ) en 9,910 vacas pertenecientes a establos de la cuenca lechera del Valle de México e informaron de una pérdida promedio de 1.43 litros diarios de leche por vaca; además de las pérdidas debidas a desechos de malas productoras por padecer mastitis clínica o subclínica.

La presencia de esta enfermedad puede surgir como consecuencia de un trauma o alteración fisiológica y esto ocasiona la infección de la ubre por microorganismos. Dentro de las especies de bacterias más comunes en producir la mastitis bovina podemos mencionar: Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis, Klebsiella pneumoniae, Pseudomona aeruginosa, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Mycoplasma bovis, Corynebacterium pyogenes y Corynebacterium bovis ( 3 ).

Se ha propuesto ( 3 ) que para el desarrollo de una infección intramamaria se requiere que ocurran las siguientes

etapas:

1. Contaminación de la base de la teta con microorganismos patógenos.
2. Penetración del microorganismo al ducto de la teta.
3. Establecimiento del microorganismo en los sinusoides, ductos o tejido alveolar de la glandula.

Por otro lado la eliminación de la infección del hato ocurre cuando:

1. Los mecanismos de defensa de la ubre eliminan al microorganismo patógeno (recuperación espontánea).
2. Terapia antibiótica exitosa en periodo de lactación o periodo seco.
3. Se eliminan los animales infectados.

Las medidas de control de mastitis que se utilizan en la actualidad operan influyendo en una o más de estas etapas ( 3 ). Los métodos posibles para el control de la mastitis bovina son: erradicación, inmunización, terapia antibiótica, cruzamiento con vacas resistentes a la enfermedad o el mejoramiento de los factores de manejo ( 7 ). Por lo tanto,

( 16 ) se ha sugerido que dentro de un programa de control de mastitis bovina se deben contemplar los siguientes aspectos:

1. Verificación y mantenimiento del equipo de ordeño.
2. Higiene y sellado de las tetas.
3. Tratamientos al hato en periodo seco y en producción.
4. Desechos a rastros (mastitis crónicas y rebeldes al tratamiento).

## 5. Registros de producción.

La práctica de antisepsia de los pezones después del ordeño fue primeramente descrita por Moak en 1916 ( 3 ). Varios experimentos han demostrado que la antisepsia de los pezones después del ordeño es una medida higiénica muy eficiente para prevenir nuevas infecciones por los patógenos más comunes ( 3, 7, 18, 25 ). Se ha postulado que la antisepsia de los pezones después del ordeño como única medida de control de mastitis reduce la presencia de nuevas infecciones aproximadamente en un 50% ( 8 ). Aunque los antisépticos utilizados para reducir la población bacteriana de la teta después del ordeño no fueron diseñados para la disolución de residuos, se ha observado que ayudan a remover la leche residual que puede atraer moscas y proveer de nutrientes para la proliferación bacteriana ( 4, 8, 14 ).

Existen una gran variedad de productos que se utilizan como antisépticos de tetas entre los que podemos mencionar la yodopolivinilpirrolidona al 1.5%\*y el cloruro de alkyl dimetil benzil amonio al 0.05%\*\* . Para que estos sean eficaces, se espera que reduzcan el rango de nuevas infecciones intramamarias en un 50% o más para la mayoría de microorganismos Gram positivos ( 8 ). Al parecer, los diferentes tipos de antisépticos de tetas son poco eficientes en el control de bacterias Gram negativas ( 8 ). Cabe señalar que se

\* \*\* Prontuario de Especialidades Veterinarias. 10a ed. México, D.F.



han desarrollado una gran variedad de productos para lograr antisepsia en las tetas después del ordeño. Sin embargo, aún no se ha logrado encontrar un producto ideal ( 8 ).

En 1974 Mahler\* exhortó a la comunidad médica a estudiar y en su caso validar la medicina tradicional. En el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México se han probado varios recursos de la medicina tradicional ( 1, 11, 12 ) entre ellos destaca el propóleo. La idea de usar propóleo no es reciente, su uso data de 300 años A.C. Era utilizado por sus características adhesivas y medicinales. Sin embargo, no ha sido sino hasta los últimos treinta años que se han realizado estudios sobre su composición, propiedades farmacológicas y usos comerciales ( 10 ).

El propóleo (pegamento de las abejas) es el nombre genérico para una sustancia resinosa recolectada por las abejas de diversos árboles. La palabra propóleo se deriva del griego pro- que quiere decir en defensa de y de polis- que quiere decir ciudad, "en defensa de la ciudad" (colmena) ( 10 ). Las abejas lo obtienen de yemas de diferentes árboles como los abetos, pinos, álamos y sauces ( 15 ). El propóleo es utilizado por las abejas para tapar agujeros, ranuras, reparar los panales y también es utilizado como sustancia embalsamadora para cubrir la carcasa de algún invasor que fue muerto por las abejas pero no lo pueden transportar fuera de

\* Mahler, T. citado por Guerra, F.: Las medicinas Marginales. Alianza Editorial, S. A., Madrid, España, 1976.

la colmena ( 10, 13, 15 ).

El propóleo es una sustancia resinosa, su color varía de amarillo-verde a café oscuro dependiendo de la fuente y la edad. Es dura y brillante cuando está fría, pero se hace suave y pegajosa al estar caliente. El propóleo tiene una gran variedad de propiedades farmacológicas dentro de las que podemos mencionar su actividad antibacteriana, antifungal, astringente, antiinflamatoria, antioxidante y anestésica ( 10 ).

Destaca su actividad antibacteriana ya que abarca bacterias patógenas como: Streptococcus spp, Corynebacterium spp, Escherichia coli, Klebsiella spp, Salmonella spp, Shigella spp, Proteus vulgaris y Mycobacterium spp ( 10 ). El propóleo tiene un amplio rango de acción tanto para microorganismos Gram positivos como para Gram negativos (cuadro 1); lo que pudiera resultar útil como antiséptico de tetas para el control de las mastitis bovinas. Además, tiene propiedades astringentes y antiinflamatorias especialmente si se toma en cuenta que no causa irritación a la piel ( 10 ).

#### HIPOTESIS

El aceite esencial de propóleo utilizado como antiséptico de tetas de vacas lecheras reduce la población bacteriana más eficientemente que el yodopolivinilpirrolidona y el cloruro de alkyl dimetil benzil amonio.

**OBJETIVO**

Comparar los efectos antibacterianos del aceite esencial de propóleo, la yodopolivinilpirrolidona y el cloruro de alkyl dimetil benzil amonio aplicados como antisépticos de tetas, en la población bacteriana de la piel de la teta de vacas lecheras.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizó el método de "tetras aisladas" para la investigación in vitro en el laboratorio; este procedimiento ha sido coordinado y estandarizado por The National Mastitis Council (NMC) ( 2 ).

Las tetras se recolectaron en el rastro de Topilejo, fueron transportadas en refrigeración al laboratorio. La preparación consistió en quitar el exceso de piel y tejido, lavar con detergente suave\*, enjuagar con agua, secar y sumergir en alcohol al 70% durante 72 horas ( 20 ). Las tetras se congelaron a - 20°C hasta el momento del experimento.

La suspensión de desafío consistió en cepas patógenas de Staphylococcus aureus ATCC, con una suspensión de bacterias conocida, la cual fue de  $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colonias (UFC) / ml y preparada según el método de Davis y Dulbeco ( 6 ).

Se utilizaron 50 tetras divididas en 5 grupos de 10 cada una. El grupo A donde se utilizó como antiséptico la yodopolivinilpirrolidona\*\*; el grupo B donde se utilizó como antiséptico el cloruro de alkyl dimetil benzil amonio\*\*\*; el grupo C donde se utilizó el aceite esencial de propóleo diluido 1:10 en alcohol al 50% y preparado como se indica más adelante; el grupo D como testigo tratado con una solución

\* Extran-líquido, Laboratorios Merck, México, S.A.  
\*\* Fórmula Antimastitis del Dr. Perestrella, Lab. Farmacéutico Veterinario Dr. Perestrella, México.  
\*\*\* Atis 60-90, Laboratorios Gortie, México.

alcohólica al 70% y el grupo E como testigo no tratado.

Las tetas se descongelaron en agua tibia y posteriormente se sumergieron en alcohol al 70% por 10 minutos. Se secaron al aire y se suspendieron con ganchos metálicos (fig 1). A cada teta se le hicieron dos marcas con marcador indeleble, una a la altura de 15 mm y la otra a los 30 mm del orificio de la teta. Las tetas posteriormente fueron sumergidas en la suspensión de desafío hasta la altura de 15 mm y se dejaron escurrir por 15 minutos para el grupo testigo no tratado y 5 minutos para los otros cuatro grupos (20). Después, las tetas fueron sumergidas en los antisépticos correspondientes hasta la marca de los 30 mm se dejó escurrir por 10 minutos ( 20 ).

El cultivo de cada teta fue tomado con un hisopo estéril y depositado en 50 ml de una solución amortiguadora de fosfatos cuya fórmula es la siguiente: primeramente, se prepara una solución madre con fosfato monobásico de potasio 34 g y agua destilada 500 ml, está se disuelve en un litro de agua destilada y se ajusta el pH a 7.2 utilizando aproximadamente 175 ml de NaOH 1 N. Se esteriliza a 121°C durante 15 minutos. La solución amortiguadora de fosfatos se prepara añadiendo 1.25 ml de la solución madre a un litro de agua destilada, se ajusta el pH a 7 y se esteriliza a 121°C durante 18 minutos.

De cada frasco se tomaron 10 mililitros y se mezclaron con 90 ml de solución amortiguadora de fosfatos, posteriormente de esta mezcla se tomó 0.1 ml y se sembraron por duplicado y por vaciado con 20 ml del medio "estandar de aguas" ela-

burado a base de peptonacaseína 5 g, extracto de carne 3 g, dextrosa 1 g, agar 15 g y agua destilada 1000 g. Las muestras fueron incubadas durante 24 horas a 35 C; pasado este tiempo se procedió a realizar la cuenta de colonias por ml utilizando un contador de colonias y con el factor de dilución de 1:2000 se contaron 4 espacios de cada caja de 1 cm<sup>2</sup> cada uno y la media de colonias se multiplicó por el factor 56 que equivale al número total de espacios que tiene cada caja, para obtener el total de UFC por ml de muestra de solución amortiguadora de fosfatos. Los valores controles en otros diseños similares establecen que el mínimo de UFC necesarias para considerar el desafío de los antisépticos como real debe superar o igualar un equivalente de  $1 \times 10^6$  UFC/ml ( 2, 20 ).

Los resultados de las muestras fueron sometidos al flujoograma estadístico esquematizado en la fig 2.

La extracción del prodlleo se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento seguido en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México\* y que se presenta en la secuencia de la fig 3.

\* Sumano, L. H. y Ocampo, C.L.: "De la medicina tradicional se obtiene una nueva alternativa para el tratamiento de las heridas abiertas e infectadas la mezcla prodlleo-sábila" Propuesta pra un medicamento cicatrizante CANIFARMA 1987.

## RESULTADOS

Se llevaron a cabo un total de 10 desafíos para cada uno de los grupos en dos sesiones. En el cuadro 2 se presentan de manera resumida los datos de las UFC encontradas después de los tratamientos así como en los grupos testigos (tratado con alcohol y no tratado; D y E) y los rangos utilizados para la prueba del análisis de varianza por rangos de Kruskal-Wallis ( 24 ). El análisis estadístico de resultados indicó reducción de las UFC en los grupos del aceite esencial de propóleo ( c ) y de la yodopolivinilpirrolidona ( A ) fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ). El cloruro de alky dimetil benzil amonio fue superior a los dos grupos testigos pero inferior a los grupos del aceite esencial de propóleo y la yodopolivinilpirrolidona.

## DISCUSION

Uno de los problemas a los que se tuvo que enfrentar el presente diseño se refiere a la notable variación que existe entre los diferentes métodos para determinar la eficacia antiséptica de un compuesto de los conocidos como antisépticos de tetas ( 2, 18, 22 ). Quizá los resultados que se obtengan de una técnica de laboratorio como la que aquí se describe, tengan un valor parcial únicamente ya que en este ensayo no se evalúa la capacidad irritante de los antisépticos utilizados así como no se detectan algunas otras variables como el grado de contaminación del establo, presencia de otras enfermedades concurrentes y etapa de lactación que podrían arrojar resultados más aplicables. Sin embargo, como paso inicial de la evaluación de un antiséptico después del ordeño los resultados que se obtuvieron permiten la continuación de un estudio a nivel de ensayo clínico (2,22).

Una demostración evidente de que el ensayo en el laboratorio ofrece una visión parcial del problema, es el hecho de que algunas pruebas llevadas a cabo fuera del diseño indican que la aplicación del propóleo a las tetas in vivo hace que aumente la cantidad de polvo que se adhiere a estas, resultando en una contaminación quizá mayor a pesar de la presencia del aceite esencial de propóleo. Este mismo efecto resultó particularmente útil en los ensayos in situ y probablemente la eficacia del aceite esencial del propóleo debe sus propiedades a dicha característica adherente (10).



La capacidad adherente de diversos antisépticos de tetas fue evaluada por Philpot y Pankey (21) quienes concluyeron que aunque los compuestos teóricamente podían ofrecer el efecto residual los antisépticos en bases hidrosolubles tuvieron un mejor efecto antibacteriano. Es bien probable que parte de esté se debe a una dilución de los residuos de leche mencionada por algunos autores ( 4, 8, 14 ).

El hecho de que el aceite esencial de propóleo utilizado en este diseño haya sido pegajoso no anula su uso a nivel de establos ya que existen diluyentes en el mercado como son el polietilenglicol\*, el eter poliglicólico de alcohol esteárilico\*\* y el glicerido etoxilado\*\*\* que pueden disminuir la mencionada adherencia del compuesto. Como se mencionó en el marco de referencia, la idea de utilizar el propóleo como antiséptico de tetas después del ordeño se basa, no solamente en su amplia actividad antibacteriana sino que también, proviene de su actividad antiinflamatoria e incluso anestésica local ( 10). Empero, este último punto requiere de una evaluación que permita determinar si dichos efectos son o no de utilidad.

Este ensayo, no es el único que ha utilizado aceite esenciales como antisépticos postordeño, Philpot y Pankey (21) utilizaron aceite de pino con resultados poco alentadores. En ese respecto este ensayo tuvo una actividad antibacteriana comparativamente mayor.

En la actualidad, el mercado de propóleo está acaparado

\* \*\* \*\*\* Química Henkel, S.A. de C.V.

por empresas que se dedican a la industrialización de productos naturistas por lo que, es difícil adquirirlo o se consigue a un precio elevado. Sin embargo, existen muchos pequeños productores de miel que no utilizan el propóleo y es probable su obtención a través de ellos a un costo menor. Aún así, el costo de un litro de propóleo para ser utilizado como antiséptico de tetas no es comparable a los productos que existen en el mercado, ya que estos se adquieren a un bajo costo siendo por lo tanto accesibles a todo tipo de productos grandes y pequeños.

Existe además, la necesidad de mejorar la técnica de extracción del propóleo ya que el propóleo que se obtuvo en este ensayo contenía un alto porcentaje de cera. No obstante y como lo señala Ghisalberti (10) en su revisión sobre el propóleo, el producto de las extracciones y la identificación o caracterización de nuevos grupos activos como antisépticos pueden ofrecer nuevas perspectivas en el área cuando se le obtenga de manera sintética.

Cuadro 1.  
Actividad antibacteriana de diferentes extractos de propoleo

Adaptado de Ghisalberti ( 10 ).

Microorganismo	Origen del propoleo	Tipo de extracto	Actividad
<b>Streptococcus</b>			
faecalis	URSS	1:10 Alcoholico	+
	Rumania		+
	Polonia	Alcoholico	-
<b>Especies de Staphylococcus y Streptococcus.</b>			
	URSS		+
<b>Corynebacterium</b>			
	Polonia	Alcoholico	+
<b>Escherichia</b>			
coli 026, 0111	URSS	1:10 Alcoholico	+
coli	URSS	Alcoholico	-
coli	Francia	Alcoholico	-
<b>Salmonella</b>			
cholerasuis	URSS	1:10 Alcoholico	+
enteritidis	URSS	1:10 Alcoholico	+
typhosa	URSS	1:10 Alcoholico	+
dublin	Francia		+

Cuadro 1.  
Actividad antibacteriana de diferentes extractos de propoleo

Adaptado de Ghisalberti ( 10 ).

Microorganismo	Origen del propoleo	Tipo de extracto	Actividad
<b>Salmonella</b>			
gallinarum	Francia		+
pullorum	Francia		+
<b>Shigella</b>			
dysenteriae	URSS	1:10 Alcohólico	+
sonnei	Rumania	1:10 Alcohólico	+
	URSS	1:10 Alcohólico	+
<b>Proteus</b>			
vulgaris	Francia		+
<b>Mycobacterium</b>			
	Polonia	Alcohólico	+
<b>Bacillus</b>			
alvei	Francia		+
larvae	EUA	1:20 Alcohólico	+
mesentericus	URSS	1:10 Alcohólico	-
subtilis	Francia		+

Cuadro 2. Resultados de los análisis bacteriológicos derivados de 10 tetas/grupo contaminadas con *Staphylococcus aureus* ( $1 \times 10^8$ ) y tratadas de diferente forma. El primer valor representa el número promedio de unidades formadoras de colonias (UFC)/ml y el segundo valor representa el rango asignado para la prueba de varianza por rangos de Kruskal-Wallis.

GRUPO	TETA	Prueba 1 UFC/ ml					Prueba 2 UFC / ml				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Grupo A Yodopovidinil- pirrolidona.	90/5	120/12.5	140/16.5	110/10.5	90/5	160/19.5	130/14.5	120/12.5	80/2.5	100/8	
Grupo B Cloruro de akyl dimetil benzil amonio	1150/24	1280/29	1010/21	1200/26	1125/23	1302/30	1271/28	1112/22	1170/25	1257/27	
Grupo C Aceite esencial de propóleo	80/2.5	110/10.5	160/19.5	70/1	100/8	100/8	90/5	150/18	130/14.5	140/16.5	
Grupo D Testigo tratado con alcohol.	$1380 \times 10^2 / 35$	$1113 \times 10^2 / 33$	$2180 \times 10^2 / 39$	$987 \times 10^2 / 31$	$1560 \times 10^2 / 36.5$	$1703 \times 10^2 / 38$	$1021 \times 10^2 / 32$	$963 \times 10^2 / 40$	$1351 \times 10^2 / 34$	$1560 \times 10^2 / 36.5$	
Grupo E Testigo no tratado	$3505 \times 10^3 / 49$	$2650 \times 10^3 / 44$	$3780 \times 10^3 / 50$	$2981 \times 10^3 / 46$	$1950 \times 10^3 / 42$	$2004 \times 10^3 / 43$	$3184 \times 10^3 / 41$	$1853 \times 10^3 / 41$	$2950 \times 10^3 / 45$	$3260 \times 10^3 / 48$	

18

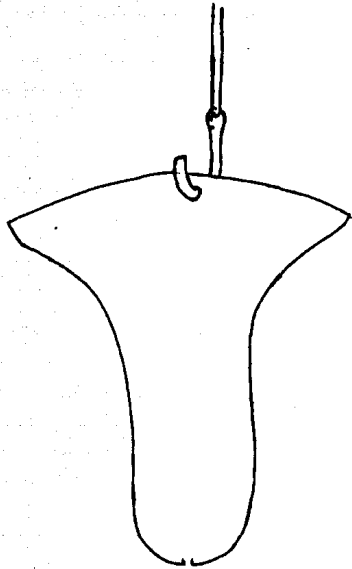


Fig 1. Representación gráfica de la sujeción de las tetas por medio de ganchos metálicos.

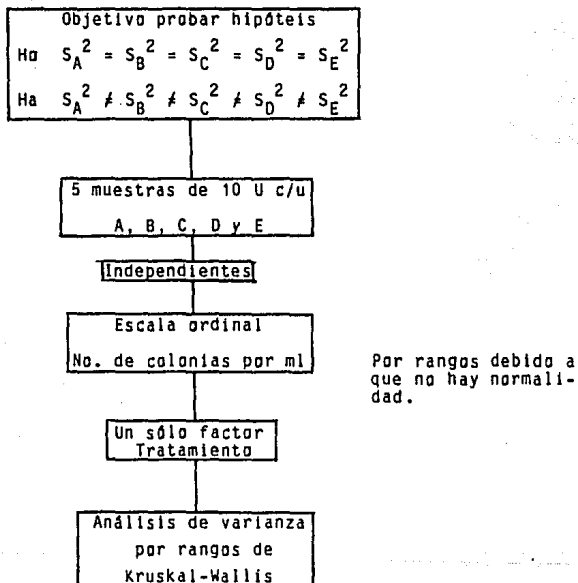
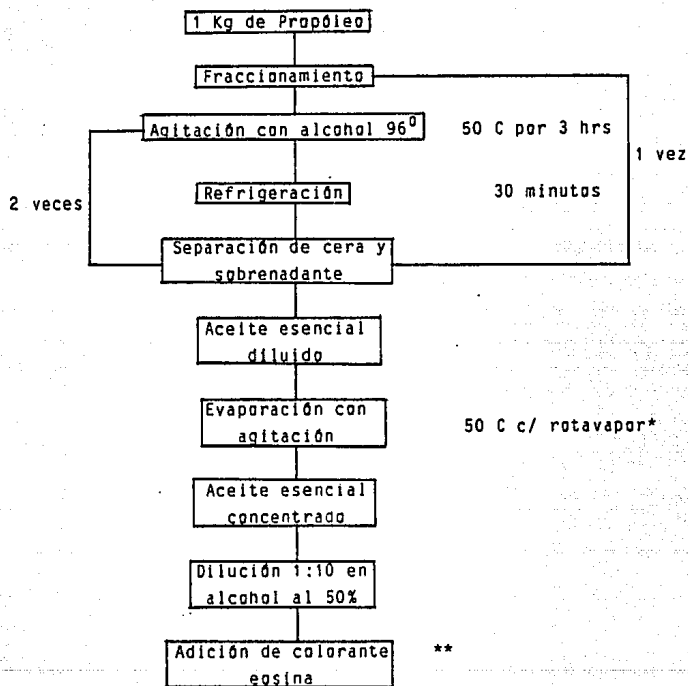


Fig 2. Secuencia estadística para el manejo de los datos.



\* Rotavapor=EL, Marca Büchi.

\*\* Sólo para fines de identificación.

Fig 3. Esquematzación de la secuencia para la obtención del aceite esencial de propóleo.



## LITERATURA CITADA

1. Almada, J. R.: Evaluación del efecto cicatrizante de los propóleos mediante la técnica de tensión de herida. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1986.
2. Amin, M. M., Smith, A. R., Anderson, K. L., Hahn, E. C. and Gustafsson, B. K.: Evaluation of a surfactant mixture C31G as a teat dip by a modified excised teat model. J. Dairy Sci., 67: 421-426 (1982).
3. Bramley, A. J. and Dodd, F. H.: Reviews of the progress of dairy science: Mastitis control-progress and prospects. J. Dairy Res., 51: 481-512 (1984).
4. Brander, G. C., Pugh, D. M. and Bywater, R. J.: Veterinary applied pharmacology and therapeutics. 4<sup>th</sup> ed. Baillière Tindall, London, 1982.
5. Cabo, A. R.: Pérdidas económicas causadas por mastitis. Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. México, D. F. 1978. 13-26 Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D. F. (1978).
6. Davis B. C. y Dulbeco, R.: Tratado de microbiología, 5a. ed. Salvat Editores, S. A., Mayorca, España, 1975.

7. Dodd, F. H.: Symposium: Advances in understanding mastitis. J. Dairy Sci., 66: 1773-1780 (1983).
8. Farnsworth, R.J.: Role of teat dips in mastitis control. J. Am. Vet. Med. Ass., 176: 1116-1118 (1980).
9. Folev, C. R., Bath, L. D., Dickinson, N. F. and Tucker, A. H.: Dairy cattle: principles, practices, problems, profits. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973.
10. Ghisalberti, E. L.: Propolis: a review. Bee World., 60: 59-84 (1979).
11. Godoy, M. H.: Evaluación del efecto cicatrizante de la escobilla (*Desmodium plicatum*). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1987.
12. Gutiérrez, R. J.: Evaluación del efecto cicatrizante de la sábila estudio comparativo. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1986.
13. Hayes, B.: Propolis and the Balm-of-Gilead. Amer. Bee J., 117: 148-149 (1977).
14. Huber, W. G.: Antiseptics and disinfectans. En Veterinary pharmacology and therapeutics. 5<sup>th</sup> ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1982.
15. Iannuzzi, J.: Propolis: the most mysterious hive element. Amer. Bee J., 123: 573-575 (1983).

16. Jara, G. B. y Aguado, S. J.: Programa de control de mastitis bovina en Celaya, Gto. Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. México, D.F. 1978. 224-235 Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1978).
17. Mattila, T.: Diagnostic problems in bovine mastitis. College of Veterinary Medicine, Helsinki, Finland, 1985.
18. Pankey, J. W. and Philpot, W. N.: Hygiene in the prevention of udder infections. I. Comparative efficacy of four teat dips. J. Dairy Sci., 58: 202-204 (1974).
19. Pérez, D. M.: Manual sobre el gando lechero. Editado por Pérez, D.M. Patronato para el Apoyo de la Investigación Pecuaria, México, D. F. 1978.
20. Philpot, W. N., Boddie, R. L. and Pankey, J. W.: Hygiene in the prevention of udder infections. IV. Evaluation of teat dips with excised cows' teats. J. Dairy Sci., 61: 950-955 (1977).
21. Philpot, W. N. and Pankey, J. W.: Hygiene in the prevention of udder infections. II. Evaluation of oil-based teat dips. J. Dairy Sci., 58: 205-208 (1974)
22. Philpot, W. N. and Pankey, J. W.: Hygiene in the prevention of udder infections. III. Effectiveness of 59 teat dips for reducing bacterial populations on teat skin. J. Dairy Sci., 58: 209-216.

23. Schalm, O. W., Carrol, E. J. and Jain, N. C.: Bovine mastitis. Lea & Febiger, Philadelphia, 1971.
24. Siegel, S.: Estadística no paramétrica. Editorial Trillas, México, D.F., 1978.
25. Smith, K.L.: Mastitis control: A discussion. J. dairy Sci., 66: 1790-1794 (1983).