

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Tratamientos Alternativos para Mastitis Bovina Asociada a *Prototheca* spp.

Monografía previa a la obtención del título de Licenciado en Microbiología

Juan José Pérez Torres

Quito, 2026

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía de Microbiología del Sr. Juan José Pérez Torres ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dr. Martín Sebastián Marcial Coba

Quito, 09 de Enero de 2026

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a mi familia, por ser el pilar fundamental que ha sostenido cada etapa de mi formación académica. De manera especial, a mi madre, quien ha sido mi apoyo constante a lo largo de toda mi carrera universitaria, brindándome fortaleza, confianza y acompañamiento incondicional incluso en los momentos más complicados del proceso.

Asimismo, dedico este trabajo a mis docentes, quienes a lo largo de mi formación han sido los responsables de mi conocimiento profesional. Gracias a su enseñanza, exigencia y ejemplo, sembraron en mí la curiosidad científica, el pensamiento crítico y el compromiso con el ejercicio responsable y ético de la profesión.

Finalmente, dedico este trabajo a mi tutor de titulación, Martín Marcial Coba, por su acompañamiento permanente y su apoyo constante no solo durante mi trayectoria universitaria, sino a lo largo de la elaboración de este trabajo. Su dedicación, orientación y disposición para guiarme fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. OBJETIVOS.....	7
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	7
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
5. MARCO TEÓRICO.....	8
5.1 EL GÉNERO <i>PROTOTHECA</i> COMO CAUSANTE DE MASTITIS BOVINA.....	8
5.1.1 BIOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	8
5.1.2 TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN ACTUAL (<i>Prototheca bovis</i>)	10
5.1.3 PATOGÉNESIS Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN MASTITIS BOVINA.....	11
5.2 ESTADO ACTUAL DE LOS TRATAMIENTOS CONVENCIONALES CONTRA LA PROTOTECOSIS	12
5.2.1 ANTIBIÓTICOS Y ANTIMICÓTICOS MÁS EMPLEADOS	12
5.2.2 LIMITACIONES TERAPÉUTICAS	15
5.3 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS FRENTE A LA PROTOTECOSIS	17
5.3.1 PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS.....	17
5.3.2 NANOBIOTECNOLOGÍA	20
5.3.3 ACEITES ESENCIALES	23
6. CONCLUSIONES.....	28
7. RECOMENDACIONES.....	30
8. REFERENCIAS.....	31

1. RESUMEN

La mastitis bovina es una de las enfermedades más relevantes en la industria lechera, tanto por su impacto en la productividad como por las pérdidas económicas que ocasiona. En este contexto, *Prototheca* spp., particularmente *P. bovis*, se ha consolidado como un patógeno emergente capaz de provocar infecciones intramamarias crónicas y resistentes a los tratamientos convencionales. La ausencia de protocolos terapéuticos eficaces frente a esta microalga ha llevado a considerar el sacrificio de los animales infectados como la medida más práctica, situación que genera consecuencias significativas para el sector ganadero. Ante esta problemática, surge la necesidad de explorar estrategias alternativas que permitan mejorar la eficacia terapéutica y reducir la dependencia de antimicrobianos convencionales. Entre estas opciones destacan los aceites esenciales, los péptidos antimicrobianos y la nanobiotecnología, los cuales han demostrado resultados alentadores en estudios experimentales, principalmente *in vitro*. Estas aproximaciones no solo buscan contrarrestar la resistencia microbiana, sino también ofrecer soluciones sostenibles, de bajo costo y con menor riesgo de generar residuos en la leche. La presente monografía analiza de manera integral el papel de *Prototheca* spp. en la mastitis bovina, revisa el estado actual de los tratamientos convencionales y profundiza en el potencial de las terapias alternativas como una vía innovadora y sostenible. Con ello, se pretende aportar una visión crítica y actualizada que contribuya a la búsqueda de soluciones efectivas para esta enfermedad de creciente importancia en la producción lechera.

Palabras clave: Mastitis bovina; *Prototheca* spp.; *Prototheca bovis*; aceites esenciales; péptidos antimicrobianos; nanobiotecnología; terapias alternativas.

2. ABSTRACT

Bovine mastitis is one of the most significant diseases in the dairy industry, due to both its impact on productivity and the economic losses it generates. In this context, *Prototheca* spp., particularly *P. bovis*, has emerged as an important pathogen capable of causing chronic intramammary infections that are resistant to conventional treatments. The lack of effective therapeutic protocols against this microalga has led to culling infected animals as the most practical control measure, a situation that entails considerable consequences for the livestock sector. Given this challenge, there is a growing need to explore alternative strategies aimed at improving therapeutic efficacy and reducing reliance on conventional antimicrobials. Among these alternatives, essential oils, antimicrobial peptides, and nanobiotechnology have shown promising results in, mainly *in vitro*, experimental studies. These approaches aim not only to counteract microbial resistance, but also to provide sustainable, cost-effective solutions with a lower risk of generating residues in milk. This monograph provides a comprehensive analysis of the role of *Prototheca* spp. in bovine mastitis, reviews the current state of conventional treatments, and examines in depth the potential of alternative therapies as an innovative and sustainable pathway. In doing so, it aims to offer a critical and up-to-date perspective that contributes to the search for effective solutions to this disease of increasing relevance in dairy production.

Keywords: Bovine mastitis; *Prototheca* spp.; *Prototheca bovis*; essential oils; antimicrobial peptides; nanobiotechnology; alternative therapies

3. INTRODUCCIÓN

El elevado contenido nutricional de la leche hace que sea considerada como un alimento de primera necesidad y, consecuentemente, es indispensable para garantizar la seguridad alimentaria a nivel global (Neus, 2017). Al mismo tiempo, al ser un alimento ampliamente consumido, su producción representa una actividad económica significativa. En Ecuador, en este sector se desempeñan 298 mil ganaderos y es la actividad agropecuaria que más empleo genera, con un total de 1.5 millones de empleos entre directos e indirectos (Grijalva, 2011). Además, constituye en muchos casos la base de la economía de pequeños campesinos de las zonas altas del país, al ser su única fuente de ingreso (Terán, 2019).

Lamentablemente, la producción lechera puede verse afectada por diversos factores, entre ellos patologías como la mastitis bovina, descrita como una respuesta inflamatoria de la glándula mamaria ante una injuria. Dependiendo del grado de inflamación, esta puede manifestarse de forma clínica o subclínica y se caracteriza por la infiltración de células somáticas, principalmente neutrófilos polimorfonucleares, en la glándula mamaria, así como por un aumento en el contenido de proteasa en la leche (Nardoni & Mancianti, 2023). En consecuencia, impacta negativamente el bienestar del ganado, la producción y la calidad de la leche, ocasionando pérdidas económicas significativas tanto a nivel local como mundial. En este contexto, es considerada la enfermedad infecciosa más costosa en vacas lecheras, provocando una disminución en la producción de leche que varía entre el 4% y el 30% (Bedolla y Ponce, 2008).

Actualmente, se han identificado aproximadamente 140 especies de patógenos causantes de esta condición (Fernández et al., 2012). Entre ellos, se ha reportado que bacterias de los géneros *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. y algunas Gram negativas son responsables de más del 90% de los casos clínicos y subclínicos de mastitis en vacas (Hernández et al., 2015). Por otra parte, géneros fúngicos como *Candida* spp., *Aspergillus* spp. y *Cryptococcus* spp.

pueden causar mastitis micótica, generalmente tras tratamientos antibióticos prolongados (Hernández et al., 2015). Asimismo, se ha descrito a algunas microalgas como *Prototheca* spp. como agentes etiológicos de mastitis bovina. Estos microorganismos unicelulares se encuentran en el entorno de las vacas, particularmente en ambientes con alta humedad y presencia de materia orgánica como cama, agua y estiércol, lo que facilita su ingreso a la ubre a través del canal del pezón (da Rocha, 2021).

De manera específica, *Prototheca bovis*, previamente clasificada como *Prototheca zopfii* genotipo 2, es considerada la especie más patógena, principalmente asociada a mastitis bovina (Fernández et al., 2012). Biológicamente, se trata de un alga unicelular que ha ganado relevancia debido a su resistencia a tratamientos convencionales y a su capacidad de causar infecciones crónicas en el ganado, representando un problema persistente en la industria lechera (Fernández et al., 2012).

Aunque la mastitis clínica es la manifestación más frecuente de esta patología, también ocurren casos de la forma subclínica. En los cuadros agudos, los cuartos mamarios pueden estar aumentados de volumen, endurecidos y presentar una secreción acuosa con presencia de grumos (Kruze, 2015). Se ha observado que los neutrófilos no participan en la patogénesis de esta infección, por lo cual en los animales afectados no se observan mayores recuentos celulares en la leche, aspecto que la diferencia de infecciones por otros patógenos.

La mastitis bovina provocada por *Prototheca* spp. es un problema creciente en la industria láctea mundial, debido a que el agente etiológico se ha propagado en países de climas tropicales y templados, gracias a su capacidad de adaptación y persistencia, así como a su resistencia a los antimicrobianos convencionales (Huilca-Ibarra et al., 2022). En Ecuador, estudios recientes han detectado una prevalencia considerable de *Prototheca bovis* en ganado lechero con mastitis crónica, identificándola en aproximadamente el 15.1% de las muestras de leche en zonas tropicales del país (Huilca-Ibarra et al., 2022). Este hallazgo, uno de los mayores reportados en infecciones por

Prototheca spp. en situaciones no epidémicas, subraya la necesidad urgente de implementar estrategias de control y diagnóstico más precisas en Ecuador para limitar la propagación de esta infección en establos lecheros.

Los antimicrobianos convencionales han constituido la primera opción en el tratamiento de la prototecosis bovina; sin embargo, su utilización presenta varias desventajas, como tasas de curación bajas, residuos persistentes en la leche y riesgo de generar resistencia (Kruze, 2015). Algunos ensayos *in vitro* han demostrado que ciertos antimicóticos como anfotericina B y nistatina son efectivos contra este agente, pero resultan de alto costo (Huilca-Ibarra et al., 2022). En consecuencia, la medida más práctica y efectiva para controlar esta infección ha sido el sacrificio de los animales infectados, con el fin de evitar la propagación al resto del hato (Kruze, 2015).

Debido a las limitaciones asociadas al uso de antibióticos para tratar la prototecosis, surge una necesidad urgente de explorar alternativas terapéuticas. Por ejemplo, se ha evaluado la actividad antimicrobiana *in vitro* de seis cepas de *Lactobacillus* spp. contra patógenos productores de mastitis bovina (Miranda & Peña, 2016). Asimismo, múltiples investigaciones han estudiado el potencial de los extractos de plantas y de algunos compuestos activos como alternativas prometedoras frente a las limitaciones del uso de antimicrobianos. Entre las ventajas de los productos naturales se destacan: menos efectos adversos, mejor tolerancia, relativamente bajo costo, amplia aceptación debido a su uso tradicional, renovabilidad y mejor biodegradabilidad (Soo Xi Yap et al., 2014). En este contexto, los aceites esenciales, derivados de plantas como el orégano, el tomillo y el clavo de olor, se presentan como una opción con acción antimicrobiana compleja, al actuar sobre diversos sitios de las células bacterianas, reduciendo la posibilidad de resistencia. Además, no dejan residuos tóxicos en la leche, lo que favorece la seguridad alimentaria y la inocuidad de los productos lácteos (Gomes & Henriques, 2016).

Además de su capacidad antimicrobiana, los aceites esenciales poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que podrían ayudar a mitigar la inflamación asociada con enfermedades como la mastitis (Krömker & Leimbach, 2017). Estos beneficios adicionales contribuyen no solo a mejorar la salud de los animales, sino también a promover un enfoque más natural y sostenible en comparación con los antimicrobianos convencionales, cuyo uso excesivo puede tener efectos negativos en el medio ambiente y la salud pública. Aunque los aceites esenciales presentan un gran potencial, su aplicación a gran escala aún requiere más investigación para optimizar su uso y asegurar su eficacia y seguridad en condiciones de campo (Krömker & Leimbach, 2017).

En síntesis, el desarrollo de tratamientos alternativos se presenta como una necesidad imperante, no solo para reducir las pérdidas económicas en el sector ganadero, sino también para ofrecer soluciones más sostenibles en el manejo de esta enfermedad. Hasta la fecha no existen estudios que sustenten un tratamiento eficaz contra la mastitis asociada a *Prototheca* spp., y persiste un vacío de conocimiento respecto a alternativas como los aceites esenciales (Fernández et al., 2012).

Esta monografía propone generar una visión general sobre el estado actual del uso terapéutico de los aceites esenciales en el control de la mastitis bovina causada por *Prototheca* spp., un patógeno emergente que desafía la salud animal debido a su resistencia a tratamientos convencionales. El trabajo se plantea como una herramienta clave para la búsqueda de soluciones innovadoras que contribuyan al bienestar animal y promuevan la producción sostenible, mejorando además las condiciones socioeconómicas de los productores rurales.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Generar una visión general en referencia al estado actual del uso terapéutico y de diferentes aceites esenciales en el control de la mastitis bovina causada por *Prototheca* spp.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar las principales características clínicas y microbiológicas de *Prototheca* spp. como agente causal de la mastitis bovina y su impacto en la producción lechera.
2. Analizar la efectividad de tratamientos alternativos, como extractos vegetales y compuestos antimicrobianos naturales, frente a *Prototheca* spp. mediante pruebas *in vitro*.
3. Proponer estrategias de manejo sostenible que reduzcan el uso de antimicrobianos convencionales y minimicen el impacto ambiental en las explotaciones ganaderas afectadas por *Prototheca* spp.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 EL GÉNERO *PROTOTHECA* COMO CAUSANTE DE MASTITIS BOVINA

5.1.1 BIOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

El género *Prototheca* está compuesto por algas unicelulares aeróbicas que carecen de clorofila, lo que la diferencia de otras microalgas. A nivel microscópico, se observan estructuras esféricas de 1 a 30 μm con endosporas internas (Cruz, 2022). Estas células presentan una pared gruesa compuesta principalmente por polisacáridos como la celulosa, lo que les otorga resistencia frente a condiciones adversas (Libisch et al., 2022) como temperaturas variables y desinfectantes de uso común, lo cual complica su erradicación en ambientes productivos (Libisch et al., 2022).

Debido a la pérdida de su capacidad fotosintética, las microalgas del género *Prototheca* se caracterizan por ser saprófitos ambientales de tipo heterotrófico (Zuñiga & Caro, 2023). Esta condición favorece su supervivencia en ambientes húmedos y ricos en materia orgánica, como suelos, aguas estancadas y sustratos contaminados con residuos animales, lo que explica su detección frecuente en lagunas del tambo, tracto intestinal de animales y áreas ganaderas contaminadas con heces bovinas y porcinas (Grzesiak et al., 2018). Adicionalmente, se ha demostrado que organismos pertenecientes a *Prototheca* spp. también pueden colonizar equipos de ordeño, bebederos y otras superficies húmedas en contacto con animales, actuando como reservorios potenciales de infección (Nardoni & Mancianti, 2023). Además, su capacidad de formar biopelículas contribuye a su persistencia en ambientes lecheros (Jabłońska et al., 2024). Estas biopelículas aumentan la resistencia a los agentes sanitizantes, favoreciendo la transmisión horizontal dentro del rebaño (Jabłońska et al., 2024). La ubicuidad de *Prototheca* spp. en el ambiente sugiere que su eliminación completa es improbable, por lo que las estrategias de control deben centrarse en la prevención y el monitoreo constante (Libisch et al., 2022).

Con base en su metabolismo, el aislamiento de *Prototheca* spp. puede realizarse en medios de cultivo convencionales como agar Sabouraud o PDA (pH 5.6), formando colonias similares a las de

las levaduras, luego de 48 horas a 25-37 °C (Cruz, 2022). Asimismo, se ha descrito que *Prototheca* spp. puede desarrollarse en agar sangre, donde forma colonias de tonalidad blanquecina a grisácea tras 24–36 horas de incubación, manteniendo un crecimiento óptimo en rangos habituales de temperatura utilizados en microbiología clínica (Grzesiak et al., 2018). Las colonias tienen un aspecto pastoso, de superficie granulosa similar al vidrio esmerilado, y su morfología puede asemejarse a la de algunos estafilococos o levaduras (Díaz de Tuesta & Ortiz, 2019). Debido a esto, es imprescindible realizar una tinción para evitar confusiones, especialmente con estafilococos (Díaz de Tuesta & Ortiz, 2019). *Prototheca* spp. también crece en otros medios como agar Sabouraud dextrosa, agar nutritivo y medios selectivos como los de Edward, MacConkey y Cobs (Díaz de Tuesta & Ortiz, 2019). En muestras ambientales o de leche, donde la competencia bacteriana es alta, se recomienda el uso de medios selectivos como *Prototheca* Isolation Medium (PIM), diseñado para promover el crecimiento de *Prototheca* spp. y suprimir las bacterias y levaduras competidoras (Díaz de Tuesta & Ortiz, 2019). Algunas cepas pueden requerir incubaciones de hasta 5 días para que sus colonias puedan alcanzar un tamaño óptimo para su análisis (Libisch et al., 2022). La confirmación del aislamiento se puede realizar mediante tinciones específicas como la de Gram (observándose como estructuras Gram positivas), o utilizando técnicas moleculares como PCR (Nardoni & Mancianti, 2023).

En la mayoría de laboratorios, la identificación molecular se basa en la amplificación de regiones ribosomales conservadas, especialmente del gen 18S rRNA y del espaciador interno transcrito (ITS1–ITS2), que permiten discriminar entre especies de *Prototheca* debido a su variabilidad genética (Nardoni & Mancianti, 2023). Sin embargo, debido a que el ITS puede presentar ambigüedades en ciertos aislamientos, se han incorporado secuencias alternativas como los genes mitocondriales CYTB y COX2, así como la región LSU (28S rRNA), que mejoran la resolución filogenética y permiten superar estas limitaciones (Sperotto et al., 2021). A pesar de la disponibilidad de métodos moleculares, el diagnóstico sigue siendo subestimado en muchas regiones por la falta de protocolos estandarizados en laboratorios veterinarios (Jabłońska et al., 2024).

5.1.2 TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN ACTUAL (*Prototheca bovis*)

Taxonómicamente, *Prototheca* spp. pertenece a la clase Trebouxiophyceae, orden Chlorellales y familia Chlorellaceae. Actualmente, se han reconocido 15 especies dentro del género, entre las cuales *P. bovis* (anteriormente *P. zopfii* genotipo 2), *P. cifferri* (*P. zopfii* genotipo 1), *P. wickerhamii*, *P. cutis* y *P. blaschkeae* se han asociado con infecciones en humanos y animales (Cruz, 2022).

En humanos, *Prototheca wickerhamii* y *P. cutis* se consideran las especies de mayor relevancia clínica, principalmente asociadas a infecciones oportunistas en pacientes inmunocomprometidos, incluyendo cuadros sistémicos y localizados de evolución grave (Zuñiga & Caro, 2023). En años recientes, se han reportado aislamientos inusuales de *P. zopfii* —una especie típicamente vinculada a mastitis bovina y otras infecciones animales— en hemocultivos de individuos inmunodeprimidos, lo que sugiere una posible expansión de su rango de hospedadores y un incremento de su importancia zoonótica (Cruz, 2022). Asimismo, *Prototheca bovis* y *P. wickerhamii* presentan rangos de hospedadores amplios, con reportes en gatos, perros, caballos, cabras y bovinos, lo que evidencia su capacidad de adaptación y persistencia en diferentes sistemas de producción animal (Zuñiga & Caro, 2023). En consecuencia, la identificación taxonómica precisa resulta esencial para comprender los patrones zoonóticos y diseñar medidas de bioseguridad adecuadas en las unidades de producción (Jabłońska et al., 2024).

5.1.3 PATOGÉNESIS Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN MASTITIS BOVINA

En el contexto de la producción animal, *Prototheca* spp., particularmente *P. bovis*, ha sido descrita como un agente etiológico de mastitis bovina, manifestándose tanto de forma clínica como subclínica (da Rocha, 2021). Como ya se mencionó, la presencia de estos microorganismos en ambientes con alta humedad y materia orgánica, como la cama, el agua y el estiércol del ganado, facilitan la infección de la ubre a través del canal del pezón (da Rocha, 2021).

Las infecciones suelen comenzar con una colonización silenciosa del canal del pezón, seguida de una penetración en los conductos mamarios, donde proliferan sin una respuesta inmune evidente en las primeras etapas (Nardoni & Mancianti, 2023). El uso de sistemas de ordeño defectuosos, así como prácticas de higiene inadecuadas, incrementan notablemente el riesgo de transmisión entre vacas (Jabłońska et al., 2024). Se ha observado que los brotes de mastitis prototéctica en hatos lecheros pueden alcanzar tasas de prevalencia superiores al 30%, especialmente en sistemas de producción intensiva (Libisch et al., 2022). Una vez establecida, la infección puede persistir durante largos periodos, y las vacas afectadas a menudo deben ser descartadas debido a la baja respuesta a los tratamientos convencionales (Libisch et al., 2022).

La mastitis causada por *Prototheca* spp. se caracteriza clínicamente por inflamación y endurecimiento de los cuartos mamarios, así como por la ocurrencia de una secreción acuosa con grumos (Kruze, 2015). También puede observarse una disminución progresiva en la producción de leche y cambios en la composición físico-química del fluido mamario (Jabłońska et al., 2024). Una característica distintiva de este tipo de mastitis es la ausencia de un aumento significativo en el recuento celular de la leche, debido a la limitada participación de neutrófilos en la respuesta inmune, lo que la diferencia de otras infecciones mamarias (Kruze, 2015). Esto se debe a la capacidad de *Prototheca* spp. para evadir el reconocimiento del sistema inmune innato, retrasando o suprimiendo la activación de células fagocíticas (Libisch et al., 2022). Además, se ha descrito una escasa respuesta a terapias antimicrobianas y antifúngicas, incluso en tratamientos prolongados, debido a la pared

celular resistente y la baja sensibilidad a agentes químicos (Nardoni & Mancianti, 2023). Por esta razón, el manejo de casos clínicos generalmente incluye medidas de aislamiento y eliminación de animales persistentemente infectados (Jabłońska et al., 2024).

Con base en estos antecedentes, *Prototheca* spp. representa un patógeno emergente en la producción lechera, planteando desafíos significativos en el diagnóstico y tratamiento de la mastitis bovina. La implementación de medidas de higiene y manejo adecuadas es crucial para prevenir la infección y controlar su propagación en los rebaños. Además, se requiere fortalecer la vigilancia epidemiológica y promover la investigación sobre alternativas terapéuticas sostenibles, ya que la resistencia a tratamientos convencionales y la falta de terapias específicas son limitantes actuales en el control efectivo de esta enfermedad (Jabłońska et al., 2024).

5.2 ESTADO ACTUAL DE LOS TRATAMIENTOS CONVENCIONALES CONTRA LA PROTOTECOSIS

5.2.1 ANTIBIÓTICOS Y ANTIMICÓTICOS MÁS EMPLEADOS

Para la mayoría de los ganaderos, el objetivo práctico del tratamiento contra la mastitis bovina es producir rápidamente una reducción en los síntomas clínicos, eventualmente reducir el recuento de células somáticas (RCS), previniendo la recurrencia de nuevos casos clínicos y mantener el rendimiento esperado de leche (Fernández et al., 2012). A pesar de los distintos enfoques terapéuticos, las infecciones intramamarias provocadas por *Prototheca* spp. representan un desafío creciente en medicina veterinaria, debido a su escasa respuesta a los tratamientos convencionales y a las importantes pérdidas económicas que generan en los sistemas productivos (Libisch et al., 2022).

En el tratamiento de la mastitis bacteriana, la eficacia de la terapia antibiótica depende en gran medida de una selección adecuada del agente antimicrobiano, considerando tanto el perfil de sensibilidad del patógeno como los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos del medicamento (Wolter et al., 2002). En casos leves, los signos clínicos suelen resolverse en un periodo de 4 a 6 días, independientemente del tratamiento, aunque la desaparición de los síntomas no

siempre indica la eliminación completa del agente infeccioso (Fernández et al., 2012). Sin embargo, este patrón terapéutico difiere marcadamente en la prototecosis, dado que *Prototheca* spp. no responde de manera efectiva a los antibióticos empleados de forma rutinaria en mastitis bacterianas, lo que se traduce en una baja tasa de curación y en la persistencia de la infección pese al uso de esquemas convencionales (Tomanić et al., 2023).

Generalmente, para la terapia antibacteriana de mastitis se utilizan en primera línea antibióticos de aplicación sistémica o local, entre los que se incluyen β -lactámicos, aminoglicósidos, lincosamidas, macrólidos, tetraciclinas, polipéptidos, trimetoprim-sulfonamidas combinadas y fluoroquinolonas (Wolter et al., 2002). Mientras que algunos casos ocasionalmente experimentan una curación espontánea, la tasa de curación terapéutica para algunos patógenos causantes de mastitis como levaduras, *Pseudomonas* spp., *Mycoplasma* spp., *Prototheca* spp. es prácticamente nula, independientemente del tratamiento (McDougall et al., 2007).

Además del uso de antibióticos, diversos agentes antimicóticos han sido evaluados frente a *Prototheca* spp.; sin embargo, la evidencia disponible indica una eficacia global limitada basada principalmente en estudios *in vitro* y en reportes observacionales, más que en ensayos clínicos controlados (Tomanić et al., 2023). En este contexto, la anfotericina B ha mostrado actividad antifúngica frente a *Prototheca* spp. en ensayos *in vitro*, con concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) reportadas en rangos amplios, generalmente entre 0,5 y 8 $\mu\text{g/mL}$, lo que pone de manifiesto una marcada heterogeneidad en la susceptibilidad entre aislamientos (Grzesiak et al., 2018). No obstante, evaluaciones posteriores a la exposición al fármaco han demostrado que una proporción considerable de cepas mantiene viabilidad celular incluso tras concentraciones inhibitorias, lo que favorece la persistencia del microorganismo y explica la recurrencia clínica observada en condiciones de campo (Nardoni & Mancianti, 2023). De manera concordante, revisiones terapéuticas recientes señalan que los antimicóticos, incluida la anfotericina B, no alcanzan tasas de curación sostenida documentadas en mastitis bovina por *Prototheca*, y que la mayoría de los casos descritos evolucionan

hacia la cronicidad o culminan en el descarte del animal, sin porcentajes reproducibles de éxito terapéutico (Tomanić et al., 2023). Asimismo, se ha documentado que la respuesta al tratamiento varía significativamente entre explotaciones lecheras, en función de diferencias en la susceptibilidad de los aislamientos y de factores ambientales y de manejo propios de cada sistema productivo, lo que dificulta la estandarización de protocolos terapéuticos eficaces a nivel poblacional (de Souza et al., 2024).

Por su parte, el ketoconazol presenta una actividad antifúngica moderada, aunque su efecto se limita principalmente a reducir la carga celular sin lograr una eliminación completa del microorganismo, especialmente en infecciones crónicas o en cepas con mayor resistencia intrínseca (Zuñiga & Caro, 2023). Esta acción parcial se atribuye en parte a la estructura de la pared celular de *Prototheca* spp., que difiere de la de los hongos verdaderos y disminuye la afinidad del fármaco por sus dianas bioquímicas, lo que explica su eficacia inconsistente entre especies y entre diferentes casos clínicos (Jabłońska et al., 2024).

A pesar de la evaluación de estos agentes antifúngicos, la respuesta clínica continúa siendo pobre en comparación con infecciones estrictamente micóticas, debido a la estructura celular particular de *Prototheca* spp. y a su elevada capacidad de formar biopelículas, lo que limita la acción de las moléculas antimicóticas convencionales (Jabłońska et al., 2024).

Hasta la fecha, ningún protocolo terapéutico ha demostrado ser completamente efectivo para controlar la infección por *Prototheca* spp. en vacas lecheras (Nardoni & Mancianti, 2023). Consecuentemente, la exposición de las vacas a estas microalgas no ha podido ser completamente erradicada, por lo que se requiere una combinación de prevención, diagnóstico temprano y nuevos enfoques terapéuticos (Nardoni & Mancianti, 2023).

5.2.2 LIMITACIONES TERAPÉUTICAS

Diversos factores explican la baja eficacia de los tratamientos antimicrobianos frente a *Prototheca* spp., entre ellos la aparición de procesos inflamatorios crónicos de tipo piogranulomatoso, lo cual dificulta la penetración y la acción de los fármacos en el tejido afectado (Kruze, 2015). Además, estas microalgas presentan una notable capacidad para formar biopelículas, estructura que incrementa su tolerancia a agentes antimicrobianos y favorece su persistencia en el hospedador (Jabłońska et al., 2024). A ello se suma su habilidad para sobrevivir en ambientes diversos y soportar la acción de múltiples desinfectantes utilizados en los sistemas lecheros, lo que contribuye a su permanencia en el entorno y a la posibilidad de reinfecciones (Zuñiga & Caro, 2023). Asimismo, se ha reportado que *P. bovis* puede persistir en la glándula mamaria durante el periodo seco, siendo excretada nuevamente en la lactación siguiente, lo que evidencia su capacidad de mantenerse en el hospedador a largo plazo a pesar de la intervención terapéutica (Libisch et al., 2022).

Prototheca spp. ha demostrado una elevada resistencia frente a numerosos antibióticos comúnmente empleados en el tratamiento de la mastitis bovina, incluidos penicilina, ampicilina, cefalotina, eritromicina, tetraciclina, minociclina, carbenicilina, ácido nalidíxico, colimicina, rifampicina y novobiocina, los cuales no logran inhibir su crecimiento *in vitro* (Morandi et al., 2016). Por otro lado, algunos estudios han identificado que antibióticos como kanamicina, estreptomina, neomicina y gentamicina pueden inhibir el crecimiento de determinadas cepas de *Prototheca* spp.; sin embargo, esta actividad no es consistente entre especies ni entre aislamientos del mismo genotipo (Morandi et al., 2016). Asimismo, ensayos de difusión en disco han evidenciado resistencia generalizada frente a múltiples familias de antimicrobianos, incluidos β -lactámicos, macrólidos, quinolonas y fosfomicina, lo que limita de manera significativa la eficacia de los tratamientos convencionales (Jagielski et al., 2012). En conjunto, este perfil de multirresistencia dificulta tanto el tratamiento empírico como el dirigido, ya que incluso cuando se dispone de resultados de antibiograma, la respuesta terapéutica suele ser desfavorable (Jagielski et al., 2012).

Por otra parte, los péptidos antimicrobianos, como las bacteriocinas, han sido planteados como una alternativa interesante frente al uso convencional de antibióticos en el control de la mastitis bovina, incluida aquella asociada a *Prototheca* spp.; sin embargo, su aplicación práctica no está exenta de limitaciones relevantes (Tomanić et al., 2023). En el entorno intramamario, la eficacia de estos compuestos puede verse disminuida debido a la interacción con componentes propios de la leche, como proteínas y fracciones lipídicas, lo que reduce la cantidad de péptido disponible para ejercer una actividad antimicrobiana efectiva (Tomanić et al., 2023). Además, la complejidad de la matriz láctea constituye un desafío adicional para el desempeño de terapias antimicrobianas alternativas, ya que puede interferir tanto con su biodisponibilidad como con su funcionalidad biológica (de Souza et al., 2024).

En conjunto, estas limitaciones condicionan la estabilidad y la eficacia *in vivo* de los péptidos antimicrobianos, lo que restringe su uso clínico directo y refuerza la necesidad de desarrollar formulaciones o sistemas de liberación que permitan optimizar su acción terapéutica (de Souza et al., 2024). Finalmente, estas biomoléculas presentan una pérdida de actividad en condiciones de alta carga orgánica y sus costos de producción siguen siendo elevados, lo que limita su aplicación rutinaria a nivel de hato (Robles et al., 2024).

5.3 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS FRENTE A LA PROTOTECOSIS

5.3.1 PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

Los péptidos antimicrobianos (AMPs) son moléculas bioactivas producidas por animales, plantas y microorganismos, y constituyen un componente central de la respuesta inmune innata frente a infecciones bacterianas, fúngicas y algales (Tomanić et al., 2023). Estas moléculas suelen presentar bajo peso molecular y carga neta positiva, propiedades que favorecen su interacción temprana con patógenos y explican su síntesis inducida tras la detección de señales microbianas (de Souza et al., 2024). Como consecuencia, los AMPs se localizan en barreras epiteliales, secreciones y fluidos biológicos implicados en la primera línea de defensa del hospedador, incluyendo la glándula mamaria bovina (Robles et al., 2024). Una vez liberados, los AMPs actúan principalmente mediante interacciones electrostáticas con membranas ricas en fosfolípidos aniónicos, lo que conduce a desorganización estructural, formación de poros y muerte celular del microorganismo (Tomanić et al., 2023).

Además de su efecto antimicrobiano directo, diversos AMPs han mostrado propiedades inmunomoduladoras que influyen en la resolución del proceso inflamatorio asociado a la mastitis. En particular, se ha descrito que algunos péptidos modulan la quimiotaxis, activación y supervivencia de neutrófilos y macrófagos en el tejido mamario, contribuyendo a una respuesta inflamatoria más controlada (Robles et al., 2024). Este efecto resulta relevante en infecciones crónicas, donde la inflamación prolongada favorece el daño tisular y la persistencia del patógeno (de Souza et al., 2024). Desde una perspectiva funcional, estas propiedades duales posicionan a los AMPs como herramientas potenciales tanto para el control microbiano como para la modulación del microambiente mamario (Tomanić et al., 2023).

En el contexto específico de la prototecosis bovina, la evidencia experimental directa sobre AMPs es limitada y se ha concentrado principalmente en el estudio de la nisina, una bacteriocina

producida por *Lactococcus lactis*. Por ejemplo, en la investigación de Morandi et al. (2016) se evaluó la concentración mínima inhibitoria y el perfil de susceptibilidad de aislamientos de *Prototheca bovis* frente a este péptido. En dicho estudio, el 73,8 % de las cepas fueron susceptibles a nisina, mientras que el 26,2 % mostró resistencia, evidenciando una respuesta heterogénea entre aislamientos. Asimismo, los autores reportaron que el 100 % de las cepas evaluadas fueron resistentes a lisozima y sorbato de potasio, descartando la utilidad de estos compuestos frente a *Prototheca* spp. En conjunto, estos resultados indican que la nisina presenta un efecto inhibitorio parcial y dependiente del aislamiento, lo que limita su uso como agente único en el control de la prototecosis bovina (Morandi et al., 2016).

La caracterización del microambiente mamario durante la infección por *Prototheca* aporta información relevante para contextualizar la acción de los AMPs. Vanzin et al. (2023) realizaron un análisis peptidómico comparativo de leche proveniente de vacas con mastitis por *Prototheca bovis*, identificando cambios significativos en el perfil de péptidos endógenos respecto a leche sana. En ese estudio, se detectó una mayor abundancia relativa de péptidos derivados de proteínas lácteas con potencial actividad antimicrobiana en muestras infectadas (Vanzin et al., 2023). Los autores señalaron que estas variaciones reflejan una activación de mecanismos defensivos locales, aunque insuficientes para eliminar el patógeno en infecciones establecidas (Vanzin et al., 2023). Esta evidencia sugiere que la glándula mamaria ya genera AMPs endógenos frente a *Prototheca*, lo que respalda biológicamente la exploración de estrategias basadas en la suplementación exógena de péptidos (Jabłońska et al., 2024).

Desde el punto de vista mecanístico, estudios recientes han aportado información clave sobre la respuesta celular de *Prototheca bovis* frente al estrés antimicrobiano. Zhao et al. (2022) demostraron que esta microalga activa rutas de autofagia como mecanismo de supervivencia ante condiciones adversas, incluyendo la exposición a agentes antimicrobianos. En un estudio posterior, los mismos autores evidenciaron que la activación de la autofagia contribuye a la tolerancia celular y

a la persistencia de *P. bovis* frente a tratamientos que no alcanzan concentraciones letales sostenidas (Wang et al., 2025). Estos hallazgos ayudan a explicar la eficacia parcial observada para AMPs como la nisina y refuerzan la necesidad de estrategias que mantengan concentraciones efectivas durante periodos prolongados (Jabłońska et al., 2024).

Las limitaciones asociadas a la eficacia de los AMPs han impulsado la evaluación de estrategias combinadas orientadas a potenciar su actividad antimicrobiana. Se ha propuesto que la combinación de AMPs con agentes coadyuvantes permite reducir la concentración efectiva requerida y mejorar su desempeño en matrices biológicas complejas, como el ambiente intramamario (Tomanić et al., 2023). Estas asociaciones se basan en el uso de compuestos capaces de alterar la integridad de la superficie celular microbiana, facilitando la penetración y acción de los péptidos (de Souza et al., 2024). En concordancia con este enfoque, se ha documentado que desinfectantes empleados en el post-ordeño, como formulaciones yodadas o compuestos a base de clorhexidina, incrementan la permeabilidad de la superficie celular y generan condiciones favorables para interacciones sinérgicas con AMPs (Robles et al., 2024).

Para mitigar la rápida degradación y la baja retención local de los AMPs, se han propuesto diversos sistemas de liberación controlada. Hidrogeles, liposomas y nano- o microcápsulas han demostrado aumentar la permanencia intramamaria de los péptidos y protegerlos frente a la proteólisis presente en la leche (Robles et al., 2024). Asimismo, se ha descrito que estas plataformas permiten una liberación sostenida durante horas o días, manteniendo concentraciones por encima de la concentración mínima inhibitoria en el lumen glandular (Algharib et al., 2022). Desde una perspectiva funcional, estas tecnologías se consideran un requisito clave para superar los mecanismos de tolerancia celular descritos en *Prototheca* spp. (Wang et al., 2025).

Desde un enfoque One Health, la incorporación de AMPs en esquemas de control de mastitis bovina podría contribuir a reducir el uso de antibióticos de amplio espectro y la presión de selección

de resistencias antimicrobianas (de Souza et al., 2024). No obstante, la literatura coincide en que su implementación debe estar respaldada por estudios de eficacia y seguridad *in vivo*, así como por evaluaciones de impacto sobre residuos y calidad de la leche (Robles et al., 2024). En conjunto, los AMPs se perfilan actualmente como coadyuvantes en estrategias combinadas y como candidatos para selladores post-ordeño o desinfección de equipos, mientras se generan evidencias controladas que definan con mayor precisión su papel específico frente a *Prototheca* spp. en condiciones de campo (Jabłońska et al., 2024).

5.3.2 NANOBIOOTECNOLOGÍA

La nanobiotecnología se basa en el diseño de materiales y sistemas de liberación con tamaños comprendidos en la escala nanométrica, cuyas propiedades físico-químicas permiten modificar la biodisponibilidad, estabilidad y distribución tisular de agentes antimicrobianos (Algharib et al., 2022). En el contexto de la mastitis bovina, estos sistemas han sido propuestos para incrementar la concentración local efectiva de los compuestos activos en el parénquima mamario y reducir la dosis total y la frecuencia de administración necesarias para alcanzar un efecto terapéutico (Algharib et al., 2022). La aplicación de plataformas nanoestructuradas resulta particularmente relevante debido a que la rápida eliminación de fármacos y la limitada penetración tisular constituyen limitaciones reconocidas de las terapias intramamarias convencionales (Martínez & Mera, 2024).

Entre los sistemas nanoestructurados evaluados, las nanopartículas metálicas, especialmente las nanopartículas de plata y de óxido de zinc, han demostrado actividad antimicrobiana mediante mecanismos que incluyen la generación de especies reactivas de oxígeno, la interacción electrostática con membranas celulares y el daño directo al material genético (Algharib et al., 2022). Estos mecanismos físico-químicos no dependen de rutas metabólicas específicas del microorganismo, lo que ha sido señalado como una ventaja frente a patógenos con resistencia intrínseca o elevada tolerancia a tratamientos convencionales (Castro-Valenzuela et al., 2025). Revisiones recientes indican que este

tipo de acción resulta potencialmente útil frente a microorganismos persistentes asociados a mastitis bovina, especialmente en escenarios donde la formación de biopelículas dificulta la eficacia terapéutica (Castro-Valenzuela et al., 2025).

Desde una perspectiva cuantitativa, Martínez & Mera (2024) reportaron que las nanopartículas de plata presentan actividad antimicrobiana efectiva frente a patógenos asociados a mastitis bovina en concentraciones comprendidas entre 10 y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Resultados concordantes han sido recogidos en revisiones recientes, donde se indica que las AgNPs muestran inhibición significativa del crecimiento microbiano dentro de rangos similares de concentración en modelos *in vitro* de mastitis (Castro-Valenzuela et al., 2025). En relación con la administración intramamaria, Martínez & Mera (2024) indicaron que los sistemas basados en nanopartículas pueden requerir dosis aproximadas de 1 a 10 mg por cuarto mamario afectado, dependiendo del tipo de nanopartícula y de la formulación empleada. Estos rangos de concentración y dosis han sido propuestos como valores de referencia iniciales para el diseño de formulaciones nanoestructuradas destinadas al tratamiento intramamario (Algharib et al., 2022).

La evidencia experimental directa frente al género *Prototheca* ha sido abordada en estudios *in vitro* que evaluaron la actividad alguicida de nanopartículas metálicas. Sperotto et al. (2021) demostraron que las nanopartículas de plata inducen una reducción significativa de la viabilidad celular en distintas especies de *Prototheca*, observándose un efecto dependiente de la concentración y del tiempo de exposición. En ese estudio, las células algales expuestas a AgNPs presentaron alteraciones estructurales evidentes, incluyendo daño en la pared celular y colapso de la integridad celular (Sperotto et al., 2021). Estos hallazgos constituyen una de las pocas evidencias experimentales directas que respaldan el uso potencial de nanopartículas frente a *Prototheca* spp. (Jabłońska et al., 2024).

Además de las nanopartículas metálicas, los sistemas poliméricos nanoestructurados han sido ampliamente evaluados en el contexto de mastitis bovina. Castro-Valenzuela et al. (2025) recopilaron estudios en los que nanopartículas de quitosano con tamaños promedio cercanos a 100–150 nm presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a patógenos mamarios, con valores de concentración mínima inhibitoria en el rango de cientos de $\mu\text{g}/\text{mL}$. De manera complementaria, Algharib et al. (2022) señalaron que la nanoestructuración de polímeros bioadhesivos se asocia con una mejora de la actividad antimicrobiana y de la interacción con superficies biológicas en comparación con el polímero no nanoformulado. Estas características han sido consideradas especialmente relevantes para el control de patógenos persistentes y formadores de biopelículas, entre ellos *Prototheca* spp., en el contexto de mastitis crónica (Jabłońska et al., 2024).

La capacidad antibiofilm de las nanopartículas constituye un aspecto crítico en el control de la mastitis crónica. Sperotto et al. (2021) observaron que las nanopartículas de plata interfieren con la organización estructural de comunidades algales, lo que sugiere un impacto potencial sobre biopelículas formadas por *Prototheca* spp. De forma concordante, estudios sobre la biología y fisiología del género *Prototheca* han demostrado que su elevada capacidad para formar biopelículas contribuye a la persistencia ambiental del patógeno y a la limitada eficacia de los tratamientos convencionales (Jagielski et al., 2019). En este contexto, se ha propuesto el uso de nanomateriales como herramientas capaces de interferir con estructuras biofilm-dependientes mediante mecanismos fisicoquímicos que no dependen exclusivamente de la difusión pasiva de agentes antimicrobianos (Lange et al., 2021).

Los sistemas lipídicos nanoestructurados, como liposomas, nanopartículas lipídicas sólidas y *nanostructured lipid carriers*, han sido descritos como vehículos eficaces para la encapsulación de aceites esenciales y péptidos antimicrobianos (Algharib et al., 2022). Estos sistemas permiten proteger los compuestos bioactivos frente a la degradación y prolongar su permanencia en el lumen mamario, favoreciendo una liberación sostenida (Martínez & Mera, 2024). La liberación controlada

proporcionada por estas plataformas ha sido señalada como un factor clave para mejorar la eficacia frente a patógenos persistentes en mastitis bovina (Castro-Valenzuela et al., 2025).

En cuanto a seguridad, la citotoxicidad de los nanomateriales depende de su composición, tamaño y concentración. Castro-Valenzuela et al. (2025) indicaron que nanopartículas poliméricas como el quitosano no mostraron efectos citotóxicos significativos en modelos celulares bovinos a concentraciones antimicrobianas efectivas. No obstante, revisiones recientes advierten que nanopartículas metálicas pueden inducir efectos adversos a concentraciones elevadas, lo que subraya la necesidad de definir ventanas terapéuticas precisas antes de su aplicación clínica (Jabłońska et al., 2024).

En conjunto, la evidencia disponible indica que la nanobiotecnología ofrece herramientas cuantitativamente prometedoras para mejorar el control de patógenos asociados a mastitis bovina, incluyendo *Prototheca* spp., mediante el incremento de la eficacia local y el abordaje de biopelículas persistentes (Castro-Valenzuela et al., 2025). Sin embargo, los autores coinciden en que persisten vacíos de evidencia relacionados con la eficacia *in vivo*, la tolerancia local en tejido mamario y la estandarización de formulaciones nanoestructuradas, por lo que su implementación debe avanzar de manera progresiva y basada en evidencia experimental sólida (Jabłońska et al., 2024).

5.3.3 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles de origen vegetal, formadas principalmente por metabolitos secundarios como terpenos y terpenoides, cuya síntesis se asocia a mecanismos de defensa y adaptación de las plantas frente a factores bióticos y abióticos (Liang et al., 2023). Estos compuestos se localizan en diferentes órganos vegetales, como hojas, flores, frutos o cortezas, y se obtienen principalmente mediante destilación por arrastre de vapor, un proceso físico que permite conservar su composición química y actividad biológica (Liang et al., 2023). En el ámbito de la sanidad animal, esta diversidad química ha motivado su evaluación como alternativa

terapéutica frente a patógenos no convencionales, entre ellos *Prototheca* spp., frente a la cual se ha demostrado actividad inhibitoria *in vitro* de determinados aceites esenciales en aislamientos asociados a mastitis bovina (Grzesiak et al., 2018). Estudios posteriores han confirmado que dicha actividad *in vitro* puede cuantificarse mediante halos de inhibición y valores de concentración mínima inhibitoria, con variabilidad dependiente tanto de la especie como del aislamiento evaluado (Vinueza, 2024).

Desde una perspectiva mecanística, los aceites esenciales aportan mezclas complejas de monoterpenos y fenilpropanoides con acción multimodal sobre membranas, pared celular y rutas enzimáticas, lo que reduce la probabilidad de resistencia y los posiciona como candidatos relevantes frente a *Prototheca* spp. en escenarios crónicos o refractarios (Caneschi et al., 2023). Esta acción multimodal ha sido asociada con una mayor dificultad para el desarrollo de resistencia adaptativa en comparación con agentes de diana única, especialmente en microorganismos con elevada capacidad de persistencia ambiental como *Prototheca* spp. (Nardoni & Mancianti, 2023). Asimismo, la lipofilia de muchos de sus componentes facilita la inserción en bicapas lipídicas, incrementa la permeabilidad de la membrana y altera la homeostasis iónica, generando efectos algicidas reproducibles en condiciones experimentales que simulan la matriz láctea (Caneschi et al., 2023). De forma concordante, diversos estudios han señalado que la composición química de los aceites esenciales condiciona de manera significativa su actividad frente a *Prototheca* spp. Se ha demostrado mayor efectividad cuando predominan compuestos fenólicos como timol, carvacrol o eugenol, debido a su mayor interacción con membranas y sistemas enzimáticos celulares (Nardoni & Mancianti, 2023). Por el contrario, aceites dominados por monoterpenos menos reactivos, como limoneno o α -pineno, suelen mostrar una actividad algicida más limitada, lo que refuerza la necesidad de considerar la composición química como criterio clave en su selección racional (Nardoni & Mancianti, 2023).

La evidencia local reportada por Vinueza (2024) evaluó la actividad inhibitoria *in vitro* de distintos aceites esenciales frente a aislamientos de *Prototheca bovis*, evidenciando diferencias

cuantitativas claras entre los aceites analizados. En los ensayos de difusión en agar, el aceite esencial de guaviduca (*Piper carpubya*) generó el mayor diámetro de halo de inhibición, con un valor de $5,27 \pm 0,23$ cm, mientras que los aceites de árbol de té (*Melaleuca alternifolia*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) también mostraron halos relevantes, aunque de menor magnitud (Vinueza, 2024). En contraste, los aceites de lavanda (*Lavandula* sp.) y romero (*Rosmarinus officinalis*) presentaron halos reducidos, siendo el menor valor registrado de $1,00 \pm 0,10$ cm para lavanda (Vinueza, 2024). El análisis estadístico indicó que la diferencia en la capacidad inhibitoria entre guaviduca y árbol de té no fue significativa, lo que sugiere una eficacia comparable bajo las condiciones evaluadas (Vinueza, 2024). Resultados similares de variabilidad inter-aceite han sido descritos en estudios internacionales, reforzando que la potencia inhibitoria depende del perfil químico del aceite más que de su origen botánico per se (Grzesiak et al., 2018).

De manera complementaria, los ensayos de concentración mínima inhibitoria permitieron establecer un orden cuantitativo de potencia entre los aceites evaluados. En dichos ensayos, el aceite de árbol de té presentó la CMI más baja, con un valor de 40 mg/mL, seguido por los aceites de guaviduca y albahaca, ambos con una CMI de 80 mg/mL (Vinueza, 2024). Para los aceites de lavanda y romero no fue posible determinar una CMI debido al crecimiento de *P. bovis* en todas las concentraciones ensayadas, lo que constituye un resultado negativo relevante desde el punto de vista terapéutico (Vinueza, 2024). Este comportamiento concuerda con observaciones previas en *Prototheca zopfii*, donde se ha documentado que no todos los aceites presentan actividad inhibitoria medible incluso bajo condiciones *in vitro* controladas (Grzesiak et al., 2018).

A nivel internacional, estudios *in vitro* de referencia han documentado de manera cuantitativa la actividad de aceites esenciales ricos en fenoles monoterpénicos frente a *Prototheca* spp. Grzesiak et al. (2018) evaluaron aceites de orégano y tomillo frente a aislamientos *Prototheca bovis*, reportando que el 73,8 % de los aislamientos fueron susceptibles, mientras que el 26,2 % mostró resistencia, lo que evidencia una respuesta heterogénea incluso dentro de un mismo grupo taxonómico. En ese

estudio, las concentraciones mínimas inhibitorias oscilaron entre 0,5 y 2,0 mg/mL, dependiendo del aislamiento y del aceite ensayado (Grzesiak et al., 2018). Investigaciones más recientes han confirmado estos patrones mediante el análisis de fitocomponentes individuales, reportando valores de CMI expresados en porcentaje (v/v) para compuestos fenólicos como carvacrol y timol frente a distintas especies del género *Prototheca* (Nojo et al., 2024).

En particular, Nojo et al. (2024) reportaron valores de CMI en el rango de 0,03–0,125 % (v/v) para carvacrol y de 0,06–0,25 % (v/v) para timol frente a *P. bovis* y *P. zopfii*, lo que evidencia una elevada potencia inhibitoria *in vitro*. En el mismo estudio, compuestos como eugenol y linalol mostraron actividad frente a cepas con sensibilidad reducida a antimicóticos convencionales, lo que sugiere que el uso de fitocomponentes purificados podría contribuir a estandarizar respuestas y reducir la variabilidad asociada a la composición de aceites completos (Nojo et al., 2024). Estos resultados refuerzan la idea de que la elevada actividad observada en aceites esenciales derivados de *Origanum* spp. y *Thymus* spp. se asocia principalmente a su alto contenido de compuestos fenólicos como carvacrol y timol, reconocidos por su marcada actividad inhibitoria frente a *Prototheca* spp. (Grzesiak et al., 2018).

No obstante, la aplicación práctica de los aceites esenciales requiere considerar de manera crítica aspectos relacionados con la citotoxicidad y el margen terapéutico. Evaluaciones experimentales han subrayado que las concentraciones inhibitorias efectivas frente a *Prototheca* spp. deben ponderarse frente a la seguridad celular del hospedador para definir rangos compatibles con formulaciones intramamarias o tópicas (Kuczyńska et al., 2025). Este equilibrio resulta especialmente relevante en el caso de compuestos fenólicos altamente activos, donde una elevada potencia *in vitro* no garantiza necesariamente una aplicación segura *in vivo* (Kuczyńska et al., 2025).

Más allá del aceite evaluado de forma individual, la interacción entre componentes puede generar efectos sinérgicos o antagonistas, lo que condiciona la actividad final del aceite esencial

(Caneschi et al., 2023). Por esta razón, la optimización de mezclas requiere pruebas sistemáticas de combinación y un control riguroso de quimiotipos para evitar pérdidas de actividad por incompatibilidades químicas (Vinueza, 2024). Desde una perspectiva aplicada, los aceites esenciales pueden integrarse como coadyuvantes en selladores postordeño, desinfectantes de equipos y superficies o formulaciones intramamarias de soporte, aprovechando su efecto sobre biopelículas y su bajo riesgo de residuos en leche cuando se formulan adecuadamente (Nardoni & Mancianti, 2023).

A pesar de los resultados favorables obtenidos en estudios experimentales, persisten vacíos de evidencia relacionados con la eficacia *in vivo*, la tolerancia local en el tejido mamario y la estandarización de dosis para el uso de aceites esenciales en mastitis bovina (Caneschi et al., 2023). Estas limitaciones implican que la transición desde estudios *in vitro* hacia aplicaciones a campo debe realizarse de manera gradual y cuidadosamente controlada, evitando extrapolaciones directas que no consideren la complejidad del sistema productivo (Caneschi et al., 2023). En este contexto, la literatura destaca que la implementación de alternativas terapéuticas debe integrarse dentro de estrategias de manejo sanitario que incluyan buenas prácticas de higiene, segregación de animales positivos y monitoreo microbiológico continuo (Caneschi et al., 2023). Al mismo tiempo, revisiones recientes señalan que los aceites esenciales presentan un modo de acción múltiple y resultados *in vitro* consistentes frente a *Prototheca* spp., lo que los posiciona como la alternativa no convencional con mayor respaldo experimental disponible hasta la fecha (Nardoni & Mancianti, 2023). En este sentido, el estudio desarrollado por Vinueza (2024) aporta evidencia científica que facilita una selección más racional de aceites esenciales, considerando las condiciones locales y los aislamientos circulantes de *Prototheca bovis*.

6. CONCLUSIONES

Estudios recientes ponen en evidencia que la mastitis bovina causada por *Prototheca* spp. es un problema sanitario emergente y poco reconocido en la producción lechera, pese a su impacto sostenido en los hatos. Las características biológicas de este microorganismo, su capacidad para persistir en el ambiente y su tendencia a generar infecciones crónicas en la glándula mamaria explican la razón por la cual las medidas de control habituales no logran resultados duraderos y por qué la enfermedad tiende a mantenerse y propagarse dentro del rebaño.

La evidencia revisada demuestra de manera consistente que los tratamientos convencionales, tanto antibióticos como antimicóticos, no ofrecen un resultado eficiente frente a la prototecosis bovina. En este sentido, el descarte de animales infectados emerge no como una solución deseable, sino como la consecuencia directa de la ausencia de alternativas terapéuticas efectivas validadas en condiciones de campo.

Los datos experimentales recopilados en este trabajo sustentan que las terapias alternativas representan una línea de investigación científicamente justificada y necesaria. En particular, los aceites esenciales y los péptidos antimicrobianos han demostrado actividad inhibitoria significativa frente a *Prototheca* spp. en estudios *in vitro*, lo que valida su consideración como candidatos terapéuticos. Sin embargo, la heterogeneidad de respuestas entre aislamientos, la carencia de estudios *in vivo*, y la complejidad del ambiente intramamario evidencian que su aplicación directa, sin estrategias de optimización, resulta limitada aún.

Adicionalmente, tratamientos alternativos como la nanobiotecnología se posiciona como un elemento clave para superar las barreras que han condicionado históricamente el fracaso terapéutico en la prototecosis bovina. Los sistemas nanoestructurados no solo potencian la actividad antimicrobiana, sino que permiten abordar problemas complejos de tratar como la

estabilidad, la biodisponibilidad y la acción sobre biopelículas, aspectos directamente relacionados con la persistencia de *Prototheca* spp. Los resultados cuantitativos disponibles respaldan su potencial como plataforma de integración para terapias alternativas más eficaces.

De manera particular, la evidencia generada a nivel local sobre aceites esenciales frente a aislamientos de *Prototheca bovis* aporta un valor significativo a la comunidad científica, al demostrar que la eficacia no depende únicamente del origen botánico, sino del perfil químico y del contexto epidemiológico específico. Este enfoque contribuye a una selección más racional de compuestos bioactivos y refuerza la importancia de generar datos regionales que complementen la literatura disponible en la actualidad con el fin de buscar una alternativa eficaz.

En conjunto, esta monografía aporta una visión crítica y actualizada que desplaza el enfoque exclusivamente terapéutico hacia un modelo integral de control, en el que la prevención, el diagnóstico oportuno, el manejo sanitario y el desarrollo de terapias alternativas basadas en evidencia actúan de forma complementaria. La mastitis por *Prototheca* spp. no puede abordarse eficazmente desde soluciones aisladas, sino mediante estrategias multidimensionales sustentadas en investigación aplicada.

Finalmente, esta investigación permite visibilizar la necesidad de profundizar en estudios *in vivo*, estandarización de formulaciones y evaluación de seguridad, sentando bases conceptuales y técnicas para futuras investigaciones. Al integrar resultados experimentales, enfoques emergentes y una perspectiva One Health, fortalece el marco científico para el desarrollo de soluciones sostenibles frente a una enfermedad de creciente impacto en la producción lechera.

7. RECOMENDACIONES

A partir de la revisión bibliográfica realizada, y considerando la necesidad de avanzar hacia un tratamiento eficaz frente a la mastitis bovina causada por *Prototheca* spp., se recomienda orientar futuras investigaciones hacia el desarrollo de estudios *in vivo* controlados que permitan validar y complementar los resultados obtenidos en investigaciones *in vitro*. En este marco, la evaluación de terapias alternativas, particularmente aquellas basadas en aceites esenciales y en sistemas nanoestructurados, permitiría analizar de manera simultánea su eficacia terapéutica, tolerancia local y persistencia del principio activo en el tejido mamario. Este enfoque contribuiría a reducir el vacío científico existente entre la evidencia experimental disponible y su aplicación práctica, facilitando una transición responsable hacia tratamientos funcionales con impacto productivo y sanitario.

Se recomienda de igual manera promover investigaciones que prioricen la caracterización integral de aislamientos locales de *Prototheca bovis*, combinando análisis fenotípicos, perfiles de susceptibilidad y estudios moleculares, para comprender la variabilidad biológica que condiciona la respuesta a terapias alternativas.

8. REFERENCIAS

- Algharib, S., Dawood, A., & Xie, S. (2022). Nanotechnology in bovine mastitis: Novel approaches for prevention and treatment. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, *10*(1), 1–12. vetsci.org/pdf/1caio0.4142/jvs.23147
- Bedolla, J., & Ponce, P. (2008). Impacto económico de la mastitis en la producción lechera. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *46*(2), 115–123.
<https://www.redalyc.org/pdf/636/63611952010.pdf>
- Castro-Valenzuela, B. E., Franco-Molina, M. A., & Rodríguez-Padilla, C. (2025). Nanoparticles as an alternative treatment for bovine mastitis-A review. *Animal Bioscience*, *38*(7), 1291–1304.
<https://doi.org/10.5713/ab.24.0590>
- Caneschi, A. Bardhi, A. Barbossa, A. Zaguini. (2023). Essential oils in the management of bovine mastitis: Mechanisms and applications. *Frontiers in Veterinary Medicine*, *10*, 110275.
<https://www.mdpi.com/1420-3049/28/8/3425>
- Cruz-Choappa, R. (2022). El género *Prototheca*. *Revista chilena de infectología*, *39*(2), 193-194. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182022000200193>
- Da Rocha, L. (2021). Mastitis bovina causada por *Prototheca* spp.: Prevalencia y factores de riesgo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, *41*(12), 1–8.
https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/24291/TES_PPGFARMACOLOGIA_2021_SPE ROTTO_VITOR.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- De Souza, M. M. S., Dubenczuk, F. C., Melo, D. A., Holmström, T. C. N., Mendes, M. B., Reinoso, E. B., Coelho, S. M. O., & Coelho, I. S. (2024). *Antimicrobial therapy approaches in the mastitis control driven by one health insights*. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, *46*, e002624.
<https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm002624>

- Díaz de Tuesta, J., & Ortiz, A. (2019). Diagnóstico diferencial entre *Prototheca* spp. y levaduras: Retos en la microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(6), 397–402. cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/2020302219220203022192>
- Fernández, A., Morales, A., & Paredes, M. (2012). Mastitis bovina: Patogenia, diagnóstico y terapéutica. *Revista de Medicina Veterinaria*, 23(1), 45–59. https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf
- Gomes, F., & Henriques, M. (2016). Control of bovine mastitis through plant-derived compounds: Essential oils as an alternative. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), 1039–1052. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-015-0958-8>
- Grzesiak, B., Kołodziej, B., Głowacka, A., & Krukowski, H. (2018). The Effect of Some Natural Essential Oils Against Bovine Mastitis Caused by *Prototheca zopfii* Isolates In Vitro. *Mycopathologia*, 183(3), 541–550. <https://doi.org/10.1007/s11046-018-0246-9>
- Grijalva, M. (2011). Producción lechera en Ecuador: Impacto económico y social. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 5(2), 33–42. <https://www.redalyc.org/pdf/5045/504550951009.pdf>
- Hernández, J., Ríos, J., & Pérez, J. (2015). Patógenos involucrados en mastitis bovina: Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 28(4), 289–299. <https://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/135/131>
- Huilca-Ibarra, D., Mera, E., & Torres, P. (2022). *Prototheca* bovis en ganado lechero ecuatoriano: Prevalencia y resistencia a tratamientos. *Revista Ecuatoriana de Medicina Veterinaria*, 10(1), 55–66. <https://www.mdpi.com/2306-7381/9/12/659>

- Jabłońska, W., Gołębiowski, M., Kot, M., Mardan, H., Pawliński, B., & Kalińska, A. (2024). Perspectives and Possibilities for New Antimicrobial Agents in the Treatment and Control of Mastitis Induced by Algae of the Genus *Prototheca* spp.: A Review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Issue 15). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25158219>
- Jagielski, T., Bakula, Z., Gawor, J., Maciszewski, K., Kusber, W. H., Dyląg, M., Nowakowska, J., Gromadka, R., & Karnkowska, A. (2019). The genus *Prototheca* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) revisited: Implications from molecular taxonomic studies. *Algal Research*, 43. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101639>
- Jagielski, T., Buzzini, P., Lassa, H., Malinowski, E., Branda, E., Turchetti, B., Polleichtner, A., Roesler, U., Lagneau, P. E., Marques, S., et al. (2012). Multicentre Etest evaluation of in vitro activity of conventional antifungal drugs against European bovine mastitis *Prototheca* spp. isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(8), 1945–1947. <https://academic.oup.com/jac/article-abstract/67/8/1945/746033?redirectedFrom=fulltext>
- Krömker, V., & Leimbach, S. (2017). Antimicrobial and anti-inflammatory properties of plant-derived compounds in bovine mastitis. *Veterinary Research*, 48(1), 1–12. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.13032>
- Kruze, J. (2015). Características clínicas y terapéuticas de la mastitis bovina por *Prototheca* spp. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 47(3), 245–254.
- Kuczyńska, M., Kot, M., Stocki, M., Zapora, E., Jagielski, T., Perlińska-Teresiak, M., & Kalińska, A. (2025). In Vitro Determination of Cytotoxic Effects of Ten Essential Oils on *Prototheca bovis*,

- Which Causes Mastitis in Dairy Cows. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(12).
<https://doi.org/10.3390/ijms26125451>
- Lange, A., Grzenia, A., Wierzbicki, M., Strojny-Cieslak, B., Kalińska, A., Gołębiowski, M., Radzikowski, D., Sawosz, E., & Jaworski, S. (2021). Silver and copper nanoparticles inhibit biofilm formation by mastitis pathogens. *Animals*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/ani11071884>
- Libisch, B., Horváth, A., & Rácz, Z. (2022). *Prototheca bovis* in dairy herds: Epidemiology, resistance and control measures. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 102317.
<https://www.mdpi.com/2076-2607/10/5/938>
- Liang, J., Zhang, Y., Chi, P., Liu, H., Jing, Z., Cao, H., Du, Y., Zhao, Y., Qin, X., Zhang, W., & Kong, D. (2023). *Essential oils: Chemical constituents, potential neuropharmacological effects and aromatherapy – A review*. *Pharmacological Research – Modern Chinese Medicine*, 6, 100210.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667142522001695>
- Martínez, D., & Mera, J. (2024). Nanotechnology and natural products in the treatment of bovine mastitis: Current perspectives. *Veterinary Sciences*, 11(3), 189–200.
<https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/11964>
- McDougall, S., Parker, K., & Heuer, C. (2007). Antibiotic therapy of bovine mastitis: Clinical outcomes and challenges. *New Zealand Veterinary Journal*, 55(3), 112–120.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203020771562X>
- Miranda, M., & Peña, R. (2016). Actividad antimicrobiana de *Lactobacillus* spp. frente a patógenos causantes de mastitis bovina. *Revista de Biotecnología Agropecuaria*, 14(2), 89–98.
<https://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/761/691>
- Morandi, S., Cremonesi, P., Capra, E., Silvetti, T., Decimo, M., Bianchini, V., Alves, A. C., Vargas, A. C., Costa, G. M., Ribeiro, M. G., & Brasca, M. (2016). Molecular typing and differences in biofilm

- formation and antibiotic susceptibilities among *Prototheca* strains isolated in Italy and Brazil. *Journal of Dairy Science*, *99*(8), 6436–6445. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10900>
- Nardoni, S., & Mancianti, F. (2023). *Prototheca* infections in veterinary medicine: Diagnosis and therapeutic approaches. *Journal of Fungi*, *9*(4), 355–370. <https://www.mdpi.com/2306-7381/5/2/45>
- Neus, C. (2017). Producción y consumo de leche: Una revisión global. *Revista Española de Nutrición Animal*, *22*(1), 15–22. <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2024.1339285/full>
- Nojo, H., Ishijima, S. A., Morikawa, M., Ito, T., & Kano, R. (2024). In vitro susceptibility testing of phytochemicals from essential oils against *Prototheca* species. *Journal of Veterinary Medical Science*, *86*(8), 847–849. <https://doi.org/10.1292/jvms.24-0032>
- Robles, M., Sánchez, P., & López, R. (2024). Péptidos antimicrobianos en medicina veterinaria: Una visión One Health. *Revista Latinoamericana de Ciencias Veterinarias*, *12*(1), 77–90. <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2024.1339285/full>
- Rehman, A. R. (2024). *Nanoencapsulation of volatile plant essential oils*. *Frontiers in Industrial Applications / MaxaPress*. <https://www.maxapress.com/article/doi/10.48130/fia-0024-0028>
- Soo Xi Yap, P., Lim, S., & Teo, W. (2014). Natural compounds as alternative therapeutics for bovine mastitis. *Journal of Applied Microbiology*, *117*(4), 1103–1112. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3950955/>
- Sperotto, V. R., Denardi, L. B., Weiblen, C., de Jesus, F. P. K., Dorneles, M. R., Ianiski, L. B., & Santurio, J. M. (2021). Short communication: Algicide activity of antimicrobial peptides compounds

against *Prototheca bovis*. *Journal of Dairy Science*, 104(3), 3554–3558.

<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18171>

Terán, J. (2019). *Análisis del mercado de la leche en Ecuador: factores determinantes y desafíos*.

[https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/124490/Ter%c3%a1n%20-](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/124490/Ter%c3%a1n%20-%20An%c3%a1lisis%20del%20mercado%20de%20la%20leche%20en%20Ecuador%3a%20factores%20determinantes%20y%20desaf%c3%ados.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[%20An%c3%a1lisis%20del%20mercado%20de%20la%20leche%20en%20Ecuador%3a%20factores%20determinantes%20y%20desaf%c3%ados.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/124490/Ter%c3%a1n%20-%20An%c3%a1lisis%20del%20mercado%20de%20la%20leche%20en%20Ecuador%3a%20factores%20determinantes%20y%20desaf%c3%ados.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Tomanić, D., Samardžija, M., & Kovačević, Z. (2023). *Alternatives to antimicrobial treatment in bovine mastitis therapy: A review*. *Antibiotics*, 12(4), 683.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics12040683>

Vanzin, A., Franchin, C., Arrigoni, G., Battisti, I., Masi, A., Squartini, A., Bisutti, V., Giannuzzi, D., Gallo, L., Cecchinato, A., & Pegolo, S. (2023). Subclinical Mastitis from *Streptococcus agalactiae* and *Prototheca* spp. Induces Changes in Milk Peptidome in Holstein Cattle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(44), 16827–16839. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c03065>

Vinueza, D. (2024). Evaluación *in vitro* de aceites esenciales frente a *Prototheca bovis*. *Revista Ecuatoriana de Ciencias Agropecuarias*, 12(1), 55–67.

<https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/SIEMBRA/article/view/7793>

Wang, X. D., Bai, J. L., Fan, X., Liu, Z. Q., & Zhang, J. (2025). Anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial activity of tea saponin-based *Zanthoxylum bungeanum* essential oil nanoemulsions against bovine mastitis pathogens. *Industrial Crops and Products*, 237.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.122241>

Wolter, W., Dietz, O., & Weiland, F. (2002). Antibacterial therapy in bovine mastitis:

Pharmacokinetics and clinical relevance. *Tierärztliche Umschau*, 57(8), 431–439. <https://d-nb.info/1049663322/34>

Zhao, W., Xu, M., Barkema, H. W., Xie, X., Lin, Y., Khan, S., Kastelic, J. P., Wang, D., Deng, Z., & Han, B.

(2022). *Prototheca bovis* induces autophagy in bovine mammary epithelial cells via the HIF-1 α and AMPK α /ULK1 pathway. *Frontiers in Immunology*, 13.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.934819>

Zuñiga, R., & Caro, J. (2023). Caracterización microbiológica y resistencia antimicrobiana de

Prototheca spp. en sistemas lecheros. *Revista Iberoamericana de Microbiología*, 40(2), 89–

101. <https://www.medigraphic.com/pdfs/infectologia/lip-2023/lip231b.pdf>