

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



AUTORA: GLORIA ELIZABETH CUZCO SOTO

**DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE CMT PARA EL
DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA Y SU RELACIÓN EN
CULTIVO DE LECHE MAS ANTIBIOGRAMA EN LA HACIENDA “EL
BOLICHE”.**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PARA
OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Cevallos-Ecuador

2015

DERECHO DEL AUTOR

Presentar esta tesis como uno de los requisitos previos para la obtención del Título de Tercer Nivel en la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que haga de esta tesis un documento disponible para su lectura, según las normas de la universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de esta tesis dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer de mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de esta tesis o parte de ella.



.....
GLORIA ELIZABETH CUZCO SOTO

CI. 180381613-9

AUTORIA

Los criterios contenidos en el trabajo de investigación: DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE CMT PARA EL DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA Y SU RELACIÓN EN CULTIVO EN LECHE MAS ANTIBIOGRAMA EN LA HACIENDA “EL BOLICHE”. Como también en los contenidos, ideas, criterios, condiciones y propuesta son de exclusiva responsabilidad del autor de este Proyecto de Investigación de Grado.

Ambato, 7 de Abril del 2015

Autora:



GLORIA ELIZABETH CUZCO SOTO

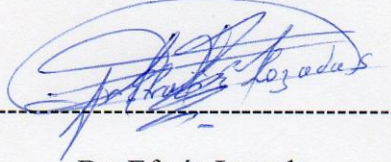
DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE CMT PARA EL DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA Y SU RELACIÓN EN CULTIVO DE LECHE MAS ANTIBIOGRAMA EN LA HACIENDA "EL BOLICHE".

REVISADO POR:



Ing. Mg. Gonzalo Aragadvay

TUTOR



Dr. Efraín Lozada

ASESOR DE BIOMETRÍA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Fecha



Ing. Mg. Patricio Nuñez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

ENCARGADO



Dra. Mayra Montero

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Dr. Roberto Almeida

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

04/06/2015

04/06/2015

04/06/2015

DEDICATORIA

A mis padres mis pilares fundamentales Hermel Cuzco e Martha Soto quienes con esfuerzo, dedicación, amor, paciencia, consejos, apoyo moral y económico, han sido parte fundamental en la culminación de mi carrera universitaria. Este trabajo realizado con todo mi esfuerzo y cariño es de ustedes, gracias Dios le pague.

A mis hermanos Alejandro y Cesar por ser ejemplo de superación y dedicación para seguir adelante, mi cuñada Belén y mi querido sobrino Josué los cuales con su cariño me supieron impulsar para alcanzar mi meta y mi sueño anhelado.

AGRADECIMIENTO

De todo corazón agradezco a DIOS por haberme regalado la vida y permitirme luchar por mis sueños y alcanzar mis objetivos y metas propuestas.

A mis profesores muchas gracias por regalarme sus conocimientos e inculcarnos buenos concejos para la vida diaria, en especial un agradecimiento eterno al Ing. Gonzalo Aragadvay y Dra. Mayra Montero ente fundamental para el desarrollo de la presente investigación.

A la familia Arévalo dueños de la hacienda donde gentilmente me abrieron las puertas para poder realizar mi investigación, en especial señor propietario Sr. Luis Arévalo gracias.

En general a todas las personas que de una u otra manera contribuyeron para que mi meta sea culminada con éxito un agradecimiento infinito de todo corazón mil gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Derechos del autor	III
Autoría	IV
Dedicatoria	V
Agradecimiento	VI
Resumen Ejecutivo	VII

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1.TEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1.1.PROBLEMA DE LA INVESTIGACION	1
1.2.Contextualización	1
1.3.Análisis Crítico del problema y subproblemas	2
1.3.1.JUSTIFICACIÓN	3
1.3.2.OBJETIVOS	4
1.3.3.Objetivo General	4
1.3.4.Objetivo Específicos	4

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO E HIPÓTESIS

2.1.ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	5
2.2.CATEGORIAS FUNDAMENTALES	7
2.2.1. ¿Qué es la mastitis?	7

2.2.2. Etiología	7
2.2.3. Patogenia	7
2.2.4. Mastitis Clínica	9
2.2.5. Mastitis Subclínica	9
2.2.6. Manejo	10
2.2.7. Factores Físicos	11
2.2.7.1. Heridas Físicas	11
2.2.7.2. Desinfectantes	11
2.2.7.3. Personal	11
2.2.7.4. Equipo de Ordeño	12
2.2.7.5. Otros Factores	12
2.2.7.6. Factores Genéticos	13
2.2.7.7. Factores Nutricionales	13
2.2.7.8. Prueba de campo	14
2.2.7.9. California Mastitis Test	14
2.2.8. Ordeño	16
2.2.8.1. Ordeño manual	16
2.2.8.2. Ordeño mecánico	17
2.2.8.3. Medios de cultivo	19
2.2.8.4. Escalas o patrones de McFarland	20
2.2.8.5. Antibiograma	21
2.2.8.6. Procedimiento para el antibiograma	21

2.2.8.7. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana	22
2.2.8.8. Diagnóstico	23
2.2.8.9. Medidas de control	24
2.3. HIPÓTESIS	25
2.3.1. Hipótesis Ho	25
2.4. VARIABLES DE LA HIPÓTESIS	25
2.4.1. Variable Dependientes	25
2.4.2. Variable Independientes	25
2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	25

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. ENFOQUE, MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	28
3.1.1. Enfoque	28
3.1.2. Modalidad	28
3.1.3. Tipo de Investigación.	28
3.2. Ubicación del ensayo	29
3.3. Caracterización del lugar	30
3.4. Factores de estudio	30
3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA	31
3.5.1. Características de Universo	31
3.5.2. Población	31
3.5.3. Muestra	31

3.6. Datos a tomarse	31
3.7. Procesamiento de la información recolectada	31
3.8. Obtención de materiales	32
3.8.1. Proceso para la realización de las pruebas	32
3.8.2. Realización de la prueba de CMT	32
3.8.3. Proceso para la recolección de las muestras para cultivo más antibiograma.	33

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS, ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y DISCUSIÓN	34
4.1.1. Resultado de CMT para diagnóstico de mastitis subclínica	34
4.1.2. La sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica vs cultivo en leche en la hacienda “El Boliche”.	35
4.1.3. Agente causal predominante en el cultivo en leche.	37
4.1.4. Calidad de leche para consumo humano	38
4.2. Análisis Económico	39
4.3. VERIFICACION DE LA HIPOTESIS	41
4.4. DISCUSIÓN	41

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	43
5.1. CONCLUSIONES	43

5.2. RECOMENDACIONES	43
CAPÍTULO VI	
PROPUESTA	
6.1. TÍTULO	44
6.2. FUNDAMENTACIÓN	44
6.3. OBJETIVOS	46
6.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	46
6.5. MANEJO TÉCNICO.	47
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	52
ANEXOS	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de problemas	2
Figura 2. Tres de las principales rutas de transmisión bacteriana durante el ordeño	10
Figura 3. Diferentes tipos de ordeño	16
Figura 4. Ordeño manual con mano llena	17
Figura 5. Sellado del pezón después del ordeño	19
Figura 6. Esquematización de los patrones de McFarland	21
Figura 7. Ubicación georeferencial de la área de estudio	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fuentes más comunes (de mayor a menor prevalencia) y formas de diseminación de las bacterias más comunes productoras de mastitis	8
Tabla 2. Interpretación de los resultados de la prueba de CMT	14
Tabla 3. Escala de Mcfarland, forma de preparación de cada patrón y su correspondencia en turbidez a una población de bacterias expresadas en UFC/ml.	20
Tabla 4. Reacciones de los ingredientes activos según su concentración.	23
Tabla 5. Variables Independientes	26
Tabla 6. Variables Dependientes	27
Tabla 7. Características geográficas y climatológicas de la zona	29
Tabla 8. Resultados de la prueba de CMT	34
Tabla 9. Sensibilidad del CMT VS cultivo para diagnóstico de mastitis subclínica en la hacienda “El Boliche”.	35
Tabla 10. Fórmula para sacar % de sensibilidad, especificidad, exactitud.	36
Tabla 11. Agente causal de mastitis subclínica según los resultados del antibiograma	37
Tabla 12. Calidad de leche mediante cultivo	38
Tabla 13. Promedio de pérdidas económicas	39

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de la investigación.	58
Anexo 2. Exámenes realizados cultivo y antibiograma.	60
Anexo 3. Facturas	67

RESUMEN EJECUTIVO

La investigación se realizó en la Hacienda “El Boliche”, ubicado en el Cantón Guano, Comunidad San José de Sabañag, perteneciente a la provincia de Chimborazo, con una temperatura de 4 a 6 ° C, latitud 1°36'25.16" S, longitud 78°37'53.99" O, altura 4200 msnm, humedad relativa 82 %, nubosidad 7 octas, precipitación media anual 750mm.

El proyecto de investigación se desarrolló como propósito de la tesis titulada: Determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo de leche mas antibiograma en la hacienda “El Boliche”.

Se tomó como muestra 10 hembras bovinas adultas destinadas a producción de leche, con el fin de determinar la sensibilidad del CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica, la cual fue corroborada mediante exámenes de cultivo y antibiograma, se determinó el agente causal, positivos y negativos emitidos por el CMT, sensibilidad del CMT, pérdidas económicas en dólares y porcentaje.

Con el resultado de la prueba CMT se pudo determinar que de los 10 ejemplares 5 eran positivos a mastitis subclínica es decir 50%, en cuanto a la sensibilidad la realizamos con una tabla basada en la detección de positivos y negativos en la cual se tomo como prueba de confirmación el cultivo , obtuvimos que la sensibilidad es del 0% es decir no es sensible para diagnóstico de mastitis subclínica, cabe recalcar que eso depende de la etapa de producción en que tome la muestra, 50% de especificidad (probabilidad de que una prueba identifique correctamente aquellos individuos que no están enfermos) 50% exactitud (proporción de resultados negativos y positivos que son correctos), el agente causal predominante fue *Staphylococcus aureus* con desarrollo y en escaso desarrollo de *Staphylococcus intermedius*.

Análisis económico el porcentaje de las pérdidas económicas que se presenta en la hacienda el Boliche son 322.5 dolares mensuales lo cual representan el 15.43%.

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. TEMA DE LA INVESTIGACIÓN

Determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo de leche mas antibiograma en la hacienda “El Boliche”.

1.2. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. Contextualización

Las pérdidas económicas por mastitis en el ganado bovino son para el productor, por las pérdidas directas, entre las que se pueden mencionar: la eliminación de leche con mastitis, el tratamiento de la enfermedad, la eliminación de leche con antibiótico, tiempo con baja producción hasta que el animal se recupere totalmente, entre otras. Y para la industria debido a la disminución en el suministro de materia prima para su procesamiento y la baja calidad de la misma.

Si se habla de que las pérdidas para los países desarrollados son representativas a su producción; las cifras alcanzadas en los países en desarrollo, como Ecuador, no podrían dejar de ser significativas, aunque existen pocos o ningún dato que exprese dicha pérdida.

La realidad de la producción lechera en el Cantón Guano, Comunidad San José de Sabañag se ve afectada por la incidencia de mastitis no diagnosticada, la falta de preocupación del productor, los tratamientos ineficientes con el uso inadecuado de

fármacos que se eliminan por la leche sin el respeto debido del tiempo de retiro que posteriormente producen resistencias bacterianas y por ende una baja calidad de los productos que no cumplen con las leyes que demanda la seguridad alimentaria.

1.2.2. Análisis Crítico del Problema y subproblema

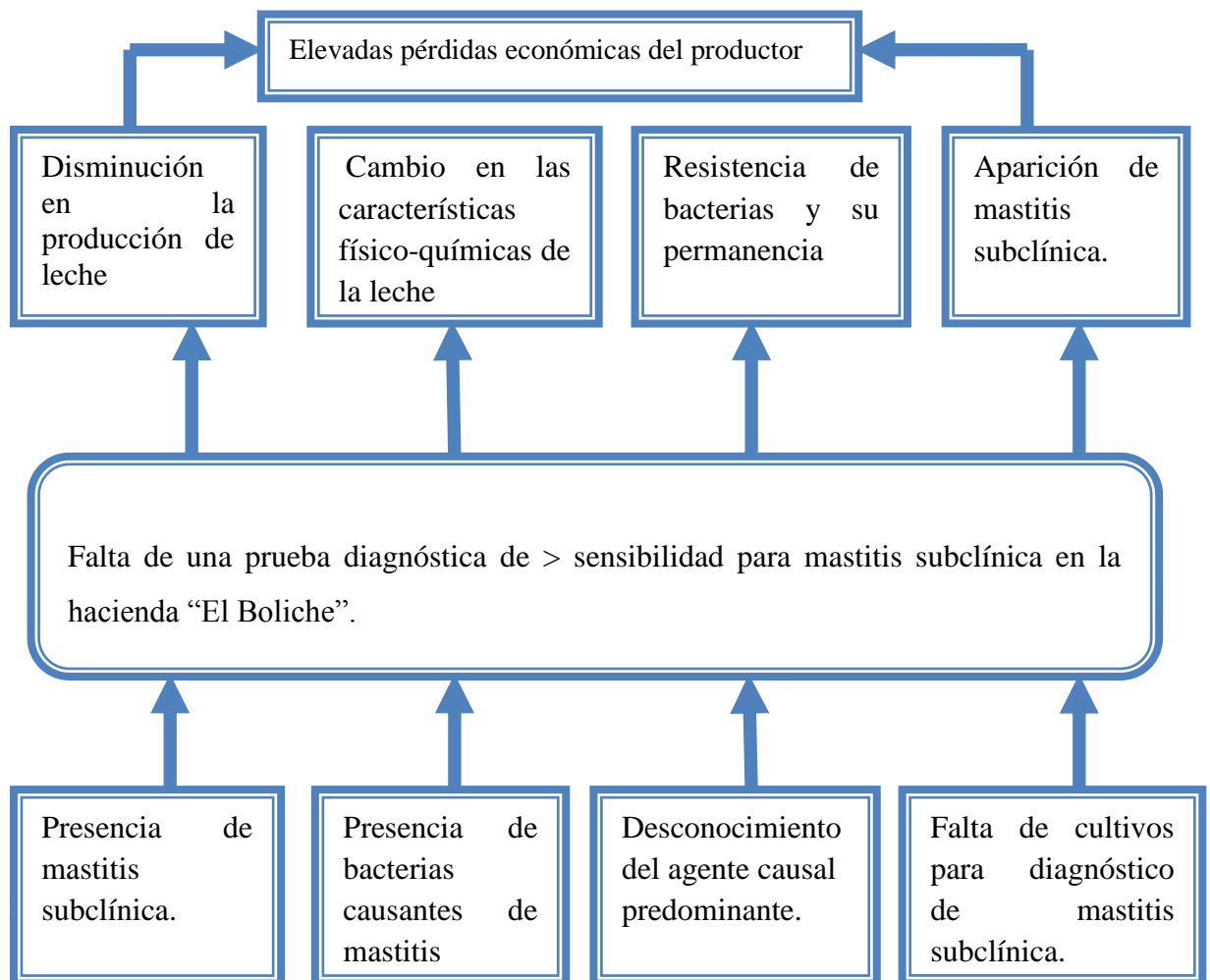


Figura 1. Árbol de problemas

1.3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la mastitis se presenta como un problema de alto riesgo, teniendo este un grado alto de dificultad para el control y prevención de manera efectiva, sumando a esto que la calidad de la leche es relativamente baja y por ende los subproductos ya que los tratamientos dejan trazas de antibióticos en la leche.

Por esta razón se realiza esta investigación para conocer el alto índice de mastitis subclínica que es la enfermedad más común en los bovinos en todo el mundo y la más costosa para el productor por las pérdidas de leche, vacas afectadas y el dinero invertido en Médicos Veterinarios y medicamentos. Además, los cambios en la composición de la leche (reducción de calcio, fósforo, proteína y grasa, e incrementos de cloro y sodio) reducen su calidad (Agro bit Gestión Agropecuaria 2004).

Por ello la necesidad de llevar un control específico de la mastitis en el país, lo que se puede lograr mediante análisis bacteriológicos y pruebas de sensibilidad/resistencia para tener una idea real del estado de la enfermedad y así disminuir los gastos ocasionados en los hatos ganaderos y también podría ser MCT, lo esencial sería ver lo más económico y eficiente para los productores.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

- Determinar la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo de leche mas antibiograma en la Hacienda “EL Boliche”.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Establecer el porcentaje de positivos y negativos emitidos por el CMT
- Determinar el agente causal predominante en el apareamiento de mastitis subclínica en la Hacienda “EL Boliche”.
- Determinar el % de sensibilidad de la prueba de CMT en el diagnóstico de mastitis subclínica.
- Establecer el porcentaje de pérdidas económicas en el productor de leche del Cantón Guano, Comunidad San José de Sabañag Hacienda “EL Boliche”, en relación litros producidos /valor.

CAPITULO II

MARCO TEORICO E HIPOTESIS

2.1. Antecedentes Investigativos

El CMT es la más utilizada para diagnóstico de mastitis subclínica debido a que es simple, económica y rápida; además, puede utilizarse a nivel de campo. Sin embargo, a pesar de todas sus ventajas, el CMT se considera como una prueba subjetiva, ya que su interpretación depende de la apreciación del operador y no proporciona un valor numérico exacto de células somáticas. (Tang et al., 2006; Hernández y Bedolla, 2008).

El CMT es una prueba que tiene una alta sensibilidad pero presenta algunas deficiencias en especificidad, dando falsos positivos durante la primera semana después del parto; y en vacas que tienen más de 7 meses de producción y varios partos. En estos casos el grado de viscosidad es similar en los 4 pezones (Mellenberger 2000).

Torres et al. (1984) realizan una investigación de mastitis subclínica en el Proyecto de Queserías Rurales del Ecuador, cuyo objetivo era mejorar las condiciones socio-económicas de los grupos económicos marginados, estimando que en Ecuador hay un alto porcentaje de infección por cuarto mamario. Así, el 49% de vacas tiene mastitis subclínica y el 1% están afectadas con mastitis clínica. Estos autores concluyen que la etiología de dicho padecimiento está basada en la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermitis* y *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disgalactiae* y *Streptococcus uberis* en

un 90% y el restante 10% por otro tipo de bacterias con predominio de *Escherichia coli*.

S. aureus produce una gran cantidad de factores de virulencia que dependiendo del proceso infeccioso o del estadio de la patogénesis de la infección, algunos de los factores de virulencia tendrán un papel más relevante que otros. De manera que, la producción de los diversos factores de virulencia va a depender del tipo de cepa (no todos los factores son producidos por todas las cepas) (Kalorey y col., 2007).

Un factor de virulencia importante en la patogénesis de la mastitis es la capacidad de producción de biofilm por parte del agente causal. El biofilm se considera responsable de las infecciones crónicas y/o persistentes, debido a que facilita la adherencia y la colonización de *S. aureus* al epitelio de la glándula mamaria, también contribuye a la evasión de las defensas inmunológicas, además ayuda a la bacteria a sobrevivir en condiciones ambientales hostiles dentro del huésped. Adicionalmente, protege a la bacteria de la acción de los agentes antimicrobianos (Dhanawade y col., 2010).

2.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.2.1. ¿Qué es la mastitis?

“La mastitis, o la inflamación de la glándula mamaria, es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero en la mayor parte del mundo. A pesar del estrés y las lesiones físicas se puede causar la inflamación de la glándula, la infección por bacterias invasoras u otros microorganismos (hongos y virus) son las principales causas de mastitis.” (Bavera, 2000).

2.2.2. Etiología

“La enfermedad se presentara normalmente con cualquiera de los microorganismos que son saprofitos en el ambiente de los rumiantes, siendo algunos de ellos más patógenos, dependiendo mucho de la severidad de la presentación, el estado de inmuno estimulación del ganado a través de buenos programas de alimentación, manejo, instalaciones, higiene, así como la suplementario con minerales y vitaminas de alta calidad y absorción. Reyes M, 2010).

Se han reportado más de 100 microorganismos como causantes de infección intramamaria. La mayoría de las infecciones, incluidas las de importancia económica, son ocasionadas por especies de estafilococos, estreptococos y bacterias gram negativas. Las últimas son esencialmente coliformes. Actualmente se reconocen tres grupos de agentes patógenos principales, reportados como flora oportunista. Microorganismos contagiosos, microorganismos ambientales y estafilococos coagulasa negativos.

2.2.3. Patógenos

Según Pinzón 1989, la mastitis es ocasionada por organismos microscópicos que penetran la ubre a través del canal de los pezones. La penetración puede

ocurrir por multiplicación, movimiento mecánico, propulsión durante el ordeño o por una combinación de factores.

Aproximadamente del 90 al 95% de los casos son provocados por cuatro microorganismos.

Los cuales son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*.

Los gérmenes más importantes de la inflamación de la ubre son los estreptococos, los estafilococos, los coliformes, *Corynebacterium pyogenes*, las *pseudomonas* y levaduras.

Los gérmenes menos frecuentes son los micoplasmas, clostridios, klebsiellas, *aerobacter*, bacilo céreo, nocardias, hongos, etc. Según Kirk (1984),

Tabla 1. Fuentes más comunes (de mayor a menor prevalencia) y formas de diseminación de las bacterias más comunes productoras de mastitis.

Tipo de bacteria	Porcentaje de todas las infecciones	Causa primaria	Principales formas de difusión
<i>Streptococcus agalactiae</i>	> 40%	Ubre infectada	De cuarto a cuarto; vaca a vaca durante el ordeño
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 - 40%	Ubre infectada, pezón lesionado	De cuarto a cuarto, vaca a vaca durante el ordeño
<i>Streptococcus ambiental</i> ¹	5 - 10%	Cama, materia fecal	Medio ambiente de la vaca
Coliformes ²	<1%	Materia fecal	Medio ambiente de la vaca

¹*Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*; ²*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*
Fuente: (ARA 2006).

2.2.4. Mastitis Clínica.

La mastitis clínica es en “En la cual se manifiestan signos claros y observables en la ubre del animal o en la leche. (MILLER, 1994)

2.2.5. Mastitis Subclínica.

Emiten una definición de mastitis subclínica y dice que “En la mastitis subclínica no se manifiestan síntomas visibles y solamente se puede confirmar la condición de la ubre mediante pruebas específicas para determinar la presencia de patógenos, productos metabólicos de desecho (toxinas y la concentración de células somáticas). Entorno Ganadero (2006) manifiesta que “Duane, (1999); Rainard and Poultrrel, (1982) Las pérdidas de la producción en una explotación como la leche y de ganancias debido a las mastitis clínicas son obvias, la producción de leche cae en forma abrupta y la leche de las vacas tratadas con antibióticos debe ser descartada durante tres o cuatro días. Además, mucho más leche se pierde debido a mastitis subclínicas por que tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas”.

“La presencia de residuos de antibióticos en la leche interfiere con el proceso de fabricación de muchos productos lácteos (quesos y otros productos fermentados). Los sabores indeseables reducen el valor de los productos lácteos y la presencia de bajos niveles de antibióticos puede causar problemas de salud a los consumidores.” (Agrobit ,2011).

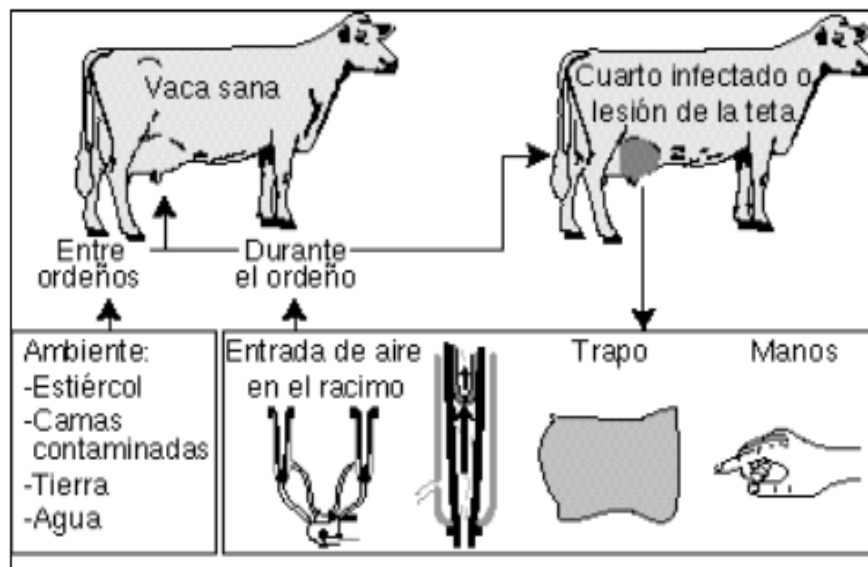
La mastitis altera la composición de la leche. “Cuando un cuarterón viene infectado, la composición de la leche cambia. Si la infección daña a las células de las membranas, hay una mayor transmisión de minerales como el sodio y el

cloruro de la sangre a la leche. Esto tiene un efecto negativo sobre el sabor de la leche: esto es, salado o amargo en vez de dulce” (Hollard, 2007).

2.2.6. Manejo

Es importante considerar la fuente y formas de transmisión de la enfermedad. Los organismos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes (materia fecal, cama, piel, etc.). La limpieza general de las vacas y su alojamiento, como también buenos procedimientos de manejo (especialmente ordeño) son formas efectivas de controlar la difusión de la mastitis (Ara, 2006).

Figura 2. Tres de las principales rutas de transmisión bacteriana durante el ordeño.



Fuente: Díaz 2006.

2.2.7. Factores Físicos:

2.2.7.1. Heridas Físicas

Las heridas físicas pueden causar daños en la piel del pezón. Si estas heridas involucran apertura de la punta del pezón (canal), por lo general, no se recuperan apropiadamente.

Tales heridas incrementan el riesgo de entrada de bacterias a la glándula a través de la apertura del pezón y causan nuevas infecciones y elevados recuentos de células somáticas (Jaramillo 2007).

2.2.7.2. Desinfectantes

Al adquirir un desinfectante para pezones es aconsejable que se conozca su capacidad de controlar la microflora existente en el medio donde se aplicará. Después de terminado el ordeño del ganado se deberá eliminar los restos del desinfectante y lavar bien los recipientes (Ávila y Gutiérrez 2004).

2.2.7.3. Personal

Explotaciones especializadas en producción el personal utiliza el ordeño mecánico, pero ejecuta las actividades con diferentes grados de eficiencia, ya que carecen de entrenamiento específico. En explotaciones menores el ordeño se hace manualmente, con el empleo de diferentes métodos de ordeño como son: "mano llena", "pellizco" y "pulgar", siendo recomendable el primer método, pero son pocos los ordeñadores que lo emplean ya que la mayoría

aplica una combinación de los tres métodos mencionados (Ávila y Gutiérrez 2004).

El personal que labora en la zona para ordeño, constituye uno de los elementos más importantes en el modelo de producción, sin embargo, es poca la atención que la administración de los establos pone en la selección y supervisión de este personal.

2.2.7.4. Equipo de ordeño

Los sistemas para ordeño han evolucionado buscando reducir el número de trabajadores destinados al manejo de las unidades en ordeño, mejorando la capacidad del equipo y las condiciones sanitarias durante el proceso de ordeño. Cuando el funcionamiento del equipo es ineficiente así como las condiciones sanitarias con que se realizan las actividades de ordeño, la máquina ordeñadora puede tomar parte en la presentación de mastitis al transportar microorganismos, establecer estos y/o lesionar al pezón (Ávila y Gutiérrez 2004).

Los parámetros de operación del equipo de ordeño deben estar ajustados a los estándares apropiados, y las unidades de ordeño deben ser usadas correctamente para prevenir la irritación de la punta del pezón o los daños que puedan conducir a mastitis (Jaramillo 2007).

2.2.7.5. Otros Factores

El uso de selladores de baja calidad (químicos fuertes que pueden ser muy ácidos, muy cáusticos, detergentes muy agresivos), así como productos que tienen tendencia a remover grasas de la piel y dejarla muy seca. Picaduras de insectos y exposición a la humedad o el calor (condiciones de mucho sol),

también pueden provocar problemas en la piel y en la punta del pezón, que llevarán a una inflamación de la glándula mamaria (Jaramillo 2007).

2.2.7.6. Factores Genéticos

Es un hecho que algunas vacas presentan una mayor susceptibilidad a la mastitis que otras.

Los factores estructurales del canal del pezón son importantes en la regulación de la entrada de microorganismos. Algunos autores afirman que si el tono de las estructuras anatómicas de la apertura del pezón es reducido, lo que es un carácter heredable, la resistencia a la entrada de los microorganismos será menor. Se seleccionará genéticamente vacas con diámetro pequeño del canal del pezón, lo que hará que la frecuencia de mastitis disminuya (Mc Donald 1977).

Otros factores inhibidores de crecimiento bacteriano aumentan en la inflamación; uno de ellos es la lactoferrina, proteína que compite con los microorganismos que requieren hierro (Avila y Gutiérrez 2004).

También se encuentran factores inmunológicos como linfocitos T y B, inmunoglobulinas, leucocitos, neutrófilos y polimorfo nucleares, elementos efectivos en algunas infecciones por coliformes (Avila y Gutiérrez 2004).

2.2.7.7. Factores Nutricionales

La alimentación actual de la vaca lechera está destinada a mantener un alto nivel de producción; esto constituye un factor de tensión fisiológico que puede provocar mastitis clínica en vacas con antecedentes de infecciones o mastitis subclínica (Ávila y Gutiérrez 2004).

2.2.7.8. Pruebas de campo

2.2.7.9. California Mastitis Test

Uno de los mejores caminos para detectar el índice de mastitis es el CMT - California Mastitis Test. (Marshall y Edmondson 2005).

La prueba de CMT es una prueba de campo de fácil manejo y buena sensibilidad que se fundamenta en la capacidad que tiene el reactivo Lauril Sulfato de Sodio para reaccionar con el DNA celular produciendo viscosidad directamente proporcional al número de células somáticas presentes en la muestra de leche.

Una vez que la vaca está lista para ser ordeñada con pezones limpios y secos, se escurren los 3 ó 4 primeros chorros de leche de cada pezón en los compartimentos de la bandeja apropiada. Se inclina la bandeja en un ángulo de 60° para igualar la cantidad de leche en cada uno (deben quedar entre 2 y 4ml de leche). Se agrega una cantidad igual de reactivo y se inicia un proceso suave de agitación por rotación durante 15 a 20 segundos. Se lee e interpreta la prueba de inmediato

Tabla 2. Interpretación de los resultados de la prueba de CMT

Grado de CMT	Rango de Células Somáticas	Interpretación
N(Negativo)	0 – 200,000	Cuarto Sano
T (Trazas)	200,000 – 400,000	Mastitis Subclínica
1	400,000 – 1,200,000	Mastitis Subclínica
2	1,200,000 – 5,000,000	Infección Seria
3	Más de 5,000,000	Infección Seria

Fuente: Mellenberger 2000.

La interpretación de la prueba de CMT es analizada de la siguiente forma de acuerdo al grado de mastitis que presenta:

NEGATIVO: No hay precipitado por lo tanto no hay infección.

TRAZAS: Ligera precipitación que desaparece al agitar, en este caso es necesario comparar una mama con la otra; si presentan algo de precipitación no se considera infección. Si solamente una mama presenta infección se considera infectada.

TIPO 1: Existe una ligera agitación con algunos filamentos grumosos, al mover la paleta por unos 20 segundos los grumos tienden a desaparecer. No existe la formación de gel. (Mellenberger 2000).

TIPO 2: Formación de gel apariencia de una clara de huevo.

TIPO 3: Formación de gel rápido, no pierde la forma a pesar de la agitación.

El CMT mide en forma indirecta el número de células somáticas / ml. Normalmente la leche de una glándula mamaria sana tiene menos de 100.000 cel/ml. donde el 80% de las células son macrófagos y el 20% o menos corresponden a Neutrófilos.

Cuando hay inflamación originada en un proceso infeccioso el número de células somáticas aumenta por incremento de los Neutrófilos que acuden a cumplir su acción fagocítica en el sitio de la infección llegando a representar hasta el 90% del recuento de células somáticas. (Mellenberger 2000).

En la literatura no hay coincidencia sobre el número de células a partir del cual se considera que una glándula mamaria está afectada de mastitis, pero en términos generales recuentos superiores a 500.000 cel/ml. con más del 50% de Neutrófilos se deben considerar como cuadros de mastitis. Número que se verá incrementado

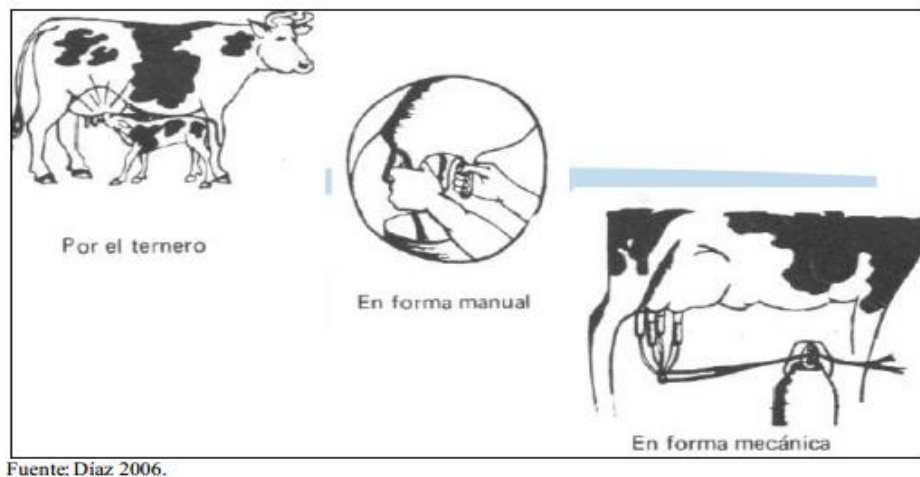
hasta varios millones según la intensidad y extensión de la lesión (Mellenberger 2000).

El CMT es una prueba que tiene una alta sensibilidad pero presenta algunas deficiencias en especificidad, dando falsos positivos durante la primera semana después del parto; y en vacas que tienen más de 7 meses de producción y varios partos. En estos casos el grado de viscosidad es similar en los 4 pezones (Mellenberger 2000).

2.2.8. Ordeño

El ordeño se lo puede realizar de tres maneras: la primera y natural es el ordeño que hace el ternero al momento de lactar, el segundo es el ordeño manual en balde y el tercero es el ordeño mecánico.

Figura 3. Diferentes tipos de ordeño



2.2.8.1. Ordeño manual

Existen dos formas de ordeño manual: Ordeño de mano llena y pellizco. En el primer caso en el ordeño se utilizan los cinco dedos de mano, mientras que en el segundo se utiliza dos o tres dedos de la mano especialmente cuando los pezones son pequeños Según (Díaz 2006)

Figura 4. Ordeño manual con mano llena



Fuente: Díaz 2006.

En el ordeño manual es más probable el contagio de la enfermedad debido a que existe una sola persona encargada del ordeño y generalmente no toma las medidas adecuadas al momento de la extracción de la leche perjudicando su higiene y calidad.

2.2.8.2. Ordeño mecánico

Un ordeño mecánico demanda varias normas estrictas de limpieza y desinfección en sus equipos, de igual manera una adecuada utilización de los implementos, así:

Colocación de pezoneras

La colocación de las pezoneras debe ser inmediatamente después de los pasos anteriores, una vez lavados los pezones, se extraen los primeros chorros en fondo negro y se colocan inmediatamente las pezoneras (Winterhalter 2005).

Colocar primero las posteriores y luego las anteriores. Cuando se colocan las pezoneras hay que observar que éstas queden correctamente colocadas, ya que cualquier problema en su colocación puede traer trastornos de mastitis.

Evitar el deslizamiento hacia abajo con entrada de aire o trepado de las mismas, evita traumatismos en el pezón que terminan en mastitis (Winterhalter 2005).

Retiro de las pezoneras

Para retirar las pezoneras primero se debe cortar el vacío, para evitar fluctuaciones.

Debe realizarse cuando el pasaje de leche deja de pasar por el colector y es en un momento determinado, para que no se produzca sobre ordeño (Winterhalter 2005).

El sobre ordeño se produce por el accionar de la máquina sobre un pezón sin leche. La lesión se puede producir en el esfínter del pezón o sobre la mucosa de la cisterna, pero en definitiva es una agresión que da origen a la mastitis (Winterhalter 2005).

El apoyo sobre el colector es una práctica muy frecuente que se realiza entendiendo que en los últimos chorros de leche se encuentra mayor porcentaje de grasa, pero esos últimos chorros corresponden a la leche residual, que no debe ser extraída de la ubre hasta el próximo ordeño (Winterhalter 2005).

Sellado de pezones

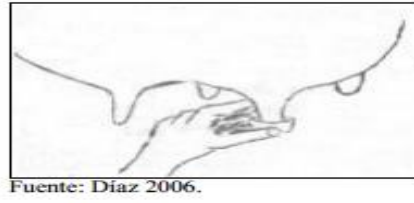
Después de cada ordeño deben desinfectarse los pezones con un sellador en base a yodo.

La desinfección cumple dos funciones: Acción desinfectante matando las bacterias que pudieran quedar en la piel del pezón o en el esfínter y Acción humectante para la piel que la deja elástica sin formación de grietas.

El sellador es utilizado debido a que el esfínter del pezón permanece abierto durante unos 20 minutos después del ordeño y de esta forma sellamos tanto la cisterna como el mismo.

En el sellado hay que mojar todo el pezón para desinfectar bien la piel.

Figura 5. Sellado del pezón después del ordeño



Fuente: Díaz 2006.

2.2.8.3. Medios de cultivo

El cultivo se hace en el medio adecuado y con la temperatura idónea, por lo que los gérmenes presentes en la leche se multiplican a las pocas horas en una proporción que llega a las 100.000. Las diversas bacterias muestran un crecimiento distinto por lo que pueden diferenciarse entre sí por su forma y color (Kleinschroth *et al.* 1991).

Existen medios tanto generales como específicos utilizados para el crecimiento e identificación de los microorganismos, en este caso en particular las bacterias. Si bien es cierto cada fabricante presenta en el producto sus recomendaciones que hay que tomarlas en cuenta, hay que considerar una preparación de medios de referencia que sigue cada laboratorio (Val 2007).

De acuerdo a Mateos (2004) los medios se clasifican en:

Básicos: Diseñados para el crecimiento de bacterias y el mantenimiento de poblaciones; los más comunes son: Agar tripticasa soya, Agar nutritivo, Agar Mueller-Hinton.

Enriquecidos: Contienen el medio básico al cual se le ha agregado algún suplemento nutritivo, por ejemplo sangre o hemoglobina; la adición de estas sustancias los hace altamente nutritivos.

Selectivos: Seleccionan las bacterias que solo se desarrollan en presencia de compuestos agregados al medio de cultivo. Se usan para cultivar microorganismos especiales como mycobacterias, hongos etc.

Selectivos diferenciales: A este tipo de medios se adicionan reactivos o sustancias químicas a los medios de cultivo permitiendo la diferenciación de los distintos tipos de bacterias y la selección de determinados géneros o especies.

Medios diferenciales: (Pruebas Bioquímicas) Nos ayudan a clasificar las bacterias en géneros y especies según su comportamiento frente a los azúcares, urea, utilización de carbono, movilidad y otras reacciones bioquímicas específicas de cada microorganismo.

2.2.8.4. Escalas o patrones de McFarland.

Técnica basada en turbidimetría; La escala se basa en la capacidad de precipitación del Cloruro de Bario en presencia de Ácido Sulfúrico y su utilidad, es la poder elaborar suspensiones bacterianas ajustadas a un patrón y valorando su concentración; para esto, se toma una alícuota de la muestra de bacterias y se inocula en un tubo conteniendo solución salina fisiológica (0,85%). El objetivo es lograr ajustar una concentración de bacterias a uno de los patrones señalados en la Tabla 1 ó determinar la concentración de una muestra.

Tabla 3. Escala de Mcfarland, forma de preparación de cada patrón y su correspondencia en turbidez a una población de bacterias expresadas en UFC/ml.

Tubo	Escala de McFarland	BaCl ₂ 1% (mL)	H ₂ SO ₄ 1% (mL)	UFC/mL
1	4,0	0,1	9,9	3,0x10 ⁸
2	3,7	0,2	9,8	6,0x10 ⁸
3	3,5	0,3	9,7	9,0x10 ⁸
4	3,4	0,4	9,6	1,2x10 ⁹
5	3,3	0,5	9,5	1,5x10 ⁹
6	3,2	0,6	9,4	1,8x10 ⁹
7	3,15	0,7	9,3	2,1x10 ⁹
8	3,10	0,8	9,2	2,4x10 ⁹
9	3,04	0,9	9,1	2,7x10 ⁹
10	3,00	1,0	9,0	3,0x10 ⁹

Los patrones de McFarland, permiten establecer una relación entre una precipitación química y una suspensión de bacterias (Figura 2). Se elaboran 10 estándares (Tabla 1), y por espectrofotometría se crea una recta patrón con la cual se va a poder determinar la concentración de las diluciones bacterianas elaboradas. La información arrojada es aproximada, ya que la lectura depende de factores como el tamaño de la bacteria y la formación de agrupaciones.



Figura 6. Esquematización de los patrones de McFarland, donde se observa la turbidez ocasionada por la precipitación del Cloruro de Bario en presencia de Ácido Sulfúrico en diferentes proporciones, así como, su correspondencia a una población bacteriana expresada en UFC/mL (Fuente: Rojas, A.)

2.2.8.5. Antibiograma

El antibiograma consiste en medir la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos. Además por medio del antibiograma se determina la evolución de las resistencias bacterianas. Según Val (s.f.). Usualmente se utiliza el agar de Mueller-Hinton en las pruebas de sensibilidad de microorganismos aeróbicos de rápido crecimiento. Cuando se trata de estreptococos u otros microorganismos exigentes, se le añade al Mueller-Hinton, 5% de sangre desfibrinada. (Pedrique 2002).

2.2.8.6. Procedimiento para el antibiograma

Es necesario seguir las siguientes recomendaciones: Autoclavar el medio de cultivo y dejar enfriar a 45-50°C. Verter asépticamente suficiente cantidad de medio de cultivo en una placa de Petri, para obtener una capa de 4 mm. de espesor aproximadamente. Para una placa de 10 cm. de diámetro se requieren 30 ml de medio y para una de 15 cm. se requieren 70 ml. Dejar solidificar el medio de cultivo y luego secar las placas durante 30 minutos antes de usarlas para la inoculación. Inocular la placa con 1 ml de la suspensión del germen de 18 a 24 horas de incubación con una turbidez equivalente a $1,5 \times 10^6$ bacterias (Equivale al tubo No. 5 de la escala de Mc Farland). La suspensión debe cubrir la superficie de placa de Petri y es necesario eliminar el sobrante. Según (Pedrique 2002). Colocar la tapa a la placa y dejar secar el inóculo por 3 a 5 minutos. Colocar los discos con los antibióticos sobre el agar mediante pinzas estériles o usando un aplicador de discos.

Oprimir los discos suavemente con una pinza para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo. Los discos deben estar espaciados de manera que su distancia a la pared de la placa sea de 15 mm. y entre ellos de 30 mm. Incubar a 35 – 37°C hasta el siguiente día (aproximadamente 18-19 horas). Si se requieren los resultados con rapidez se pueden leer las zonas de inhibición después de 6-8 horas de incubación, pero estos resultados deben ser confirmados mediante una nueva lectura después de la incubación por las 18 -19 horas. La medida del diámetro de la zona de inhibición se hace preferentemente desde el exterior de la placa, sin quitar la tapa, esto puede hacerse con una regla milimetrada, un vernier o cualquier otro Instrumento similar.

Los resultados deben ser analizados de acuerdo al aro que presenta cada uno de los sensi discos utilizados, si no existe la presencia del aro indica que hay crecimiento bacteriano en las zonas, por lo cual el microorganismo es resistente a

este antibiótico. El sensi disco que contenga el aro con mayor diámetro es el más efectivo, es decir el microorganismo analizado es sensible a este antibiótico.

2.2.8.7. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Por facilidad de manejo y disponibilidad de reactivos la prueba de sensibilidad antimicrobiana más usada es el método de difusión con discos sobre Agar Mueller Hinton.

La selección de principios activos a probar dependerá de: la disponibilidad de productos comerciales en el mercado local, la legislación del país sobre uso de antibióticos, el tipo de microorganismo aislado, si es para vaca en lactancia o en el periodo seco y si se va a usar vía parenteral o vía intramamaria. En una caja de Agar de 100 mm. De diámetro se pueden colocar ocho sensidiscos como máximo.

Tabla 4. Reacciones de los ingredientes activos según su Concentración.

Ingredientes Activo	Concentración	Interpretación		
		Mínimo	Intermedio	Máximo
Enrofloxacina	5mcg	19	-	20
Amoxicilina+Ac. Clavulónico	10 mcg	19	-	20
Penicilina	10 u	20	21-28	29
Cloxacilina	1mcg	19	-	20
Streptomina	10 mcg	11	12-14	15
Cephalexina	30 mcg	14	15-17	18
Neomicina	30 mcg	12	13-16	17
Tetraciclina	30 mcg	14	15-18	19
Sulfatrimetoprin	23,75 ug	10	11 15	16

Fuente: Laboratorios Vet Uy 2004.

2.2.8.8. Diagnóstico

El diagnóstico de Mastitis Bovina debe estar orientado al conocimiento de la prevalencia de la enfermedad en el hato, tipo epidemiológico de la enfermedad

y la resistencia bacteriana de los agentes involucrados (Marshall y Edmondson 2005).

Las pérdidas económicas en un hato se llegan a determinar por la disminución de la producción, para lo cual es necesario identificar y corregir a tiempo los puntos críticos que favorecen a la difusión de la enfermedad (Marshall y Edmondson 2005).

Es importante establecer un esquema de monitoreo que permita controlar la enfermedad, es decir llevar a cabo un manejo adecuado de los animales, especialmente durante el ordeño, condiciones ambientales apropiadas, funcionamiento adecuado del equipo de ordeño, nivel de preparación de las personas encargadas del ordeño (Marshall y Edmondson 2005).

2.2.8.9. Medidas de control

Entre las medidas de control se puede mencionar: adecuada rutina de ordeño, diagnóstico precoz con la prueba del fondo negro, sellado de pezón, tratamiento de los casos clínicos, funcionamiento de la máquina de ordeño, chequeo diario por el ordeñador, un chequeo sistemático una vez al año, tratamiento de vacas secas, el tratamiento con antibiótico tiene un doble efecto, cura las posibles mastitis subclínicas con que la vaca se pudiera haber secado, protege a la glándula de posibles mastitis durante el período seco, venta de vacas con mastitis crónica, evita contagio cuando se trata de *Staphylococcus aureus*, control periódico de la evolución de las subclínicas CMT, registrar las vacas que están enfermas, que cuarto y si repiten mastitis, toda vaca que en una lactancia tenga más de 3 mastitis debe ser rechazada para evitar la difusión en el rodeo.

2.3. HIPÓTESIS

2.3.1. Hipótesis Ho

- ❖ El CMT no es una prueba altamente sensible para diagnóstico de mastitis subclínica.

2.4. VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

2.4.1. Variable Dependientes

- ✓ Sensibilidad de CMT
- ✓ Calidad de la leche

2.4.2. Variable Independientes

- CMT (California Mastitis Test)
- Cultivo en leche mas antibiograma

2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 5. Variables Independientes

CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES (DATOS A TOMARSE)	INDICE
CMT(California Mastitis Test)	Características físicas y químicas de la leche	<p>Positivos (x trazas) N (Negativo). No hay precipitación por lo tanto no hay infección.</p> <p>T (Trazas).Ligera precipitación que desaparece al agitar, en este caso comparar una mama con la otra.</p> <p>T1:* Existe una ligera agitación con algunos filamentos grumosos, al mover la paleta por unos 20 segundos los grumos tienden a desaparecer. No existe la formación de gel.</p> <p>T2:* Formación de gel apariencia de una clara de huevo.</p> <p>T3:* Formación de gel rápido, no pierde</p>	Contaje de células somáticas

		la forma a pesar de la agitación.	
Cultivo en leche	Carga bacteriana	Colonias Ufc/ml	Números
Antibiograma	Agente causal predominante	Identificación del agente bacteriano	Especie Género

Tabla 6. Variables Dependientes

CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES (DATOS A TOMARSE)	INDICE
Sensibilidad de CMT	Formula de positivos y negativos	%	Número
Calidad de la leche	Límite permitido	E.coli Staphylococcus aureus	Número

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. ENFOQUE, MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Enfoque.

El enfoque de la investigación es cualitativo debido a que se determina la sensibilidad del CMT y cuantitativo por los resultados de cultivo mas antibiograma.

3.1.1.2. Modalidad.

La modalidad de la investigación es descriptiva y de campo, ya que trata de determinar la sensibilidad del CMT para diagnóstico de mastitis subclínica

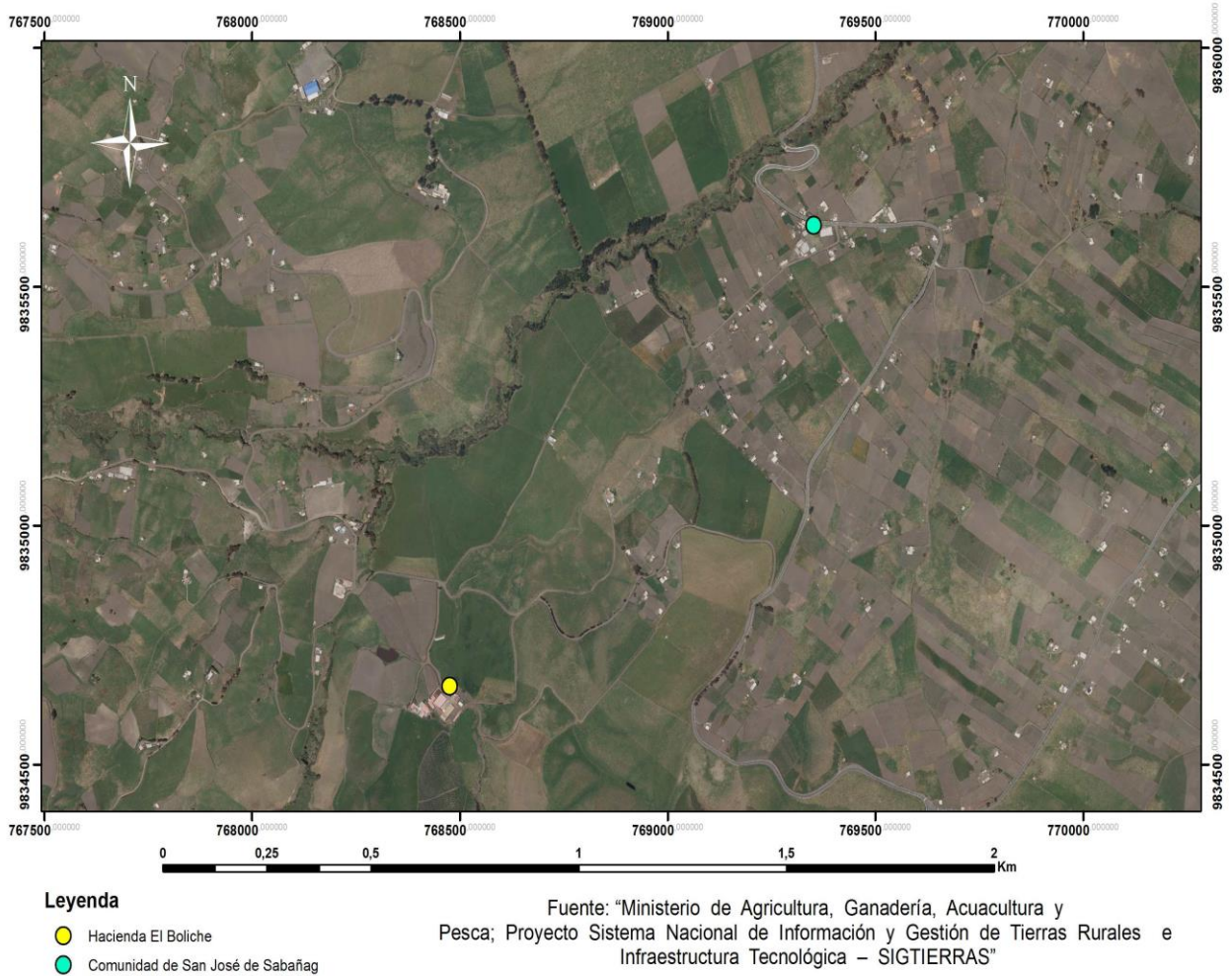
3.1.1.3. Tipo de Investigación.

Esta investigación es aplicada y de campo, que a su vez tendrá sustentos de la investigación Bibliográfica – documental.

3.2. UBICACIÓN DEL ENSAYO

Este proyecto se va a realizar en la Provincia de Chimborazo Cantón Guano, Comunidad San José de Sabañag.

Ubicación Georeferencial del Área de Estudio - San José de Sabañag del Cantón Guano, Provincia de Chimborazo.



3.3. CARACTERIZACIÓN DEL LUGAR

Tabla 7. Características geográficas y climatológicas de la zona.

CARACTERISTICAS	LUGAR (San José de Sabañag)
Latitud	1°36'25.16" S
Longitud	78°37'53.99" O
Temperatura	4 a 6 ° C.
Altura	4200 msnm
Humedad relativa	82 %
Nubosidad	7 octas
Precipitación	Media anual 750mm
Fuente: Sistema Nacional de Información - Catastro Municipal del cantón Guano	

3.4. FACTORES DE ESTUDIO

- Determinar la sensibilidad de CMT para diagnóstico de mastitis subclínica.
- Cultivo en leche más antibiograma para corroborar los resultados de CMT.

3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.5.1. Características de Universo.

En la hacienda hay un universo total de 50 animales los cuales tenemos 1 toro reproductor, 15 vaconas, 10 vacas productoras, 14 vacas secas.

3.5.2. Población

La población está constituida por las 10 vacas productoras de leche

3.6. DATOS A TOMARSE.

3.6.1. Determinar la sensibilidad de CMT para diagnóstico de mastitis subclínica.

3.6.2. Cultivo en leche más antibiograma para corroborar los resultados de CMT.

3.7. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN RECOLECTADA

Los datos obtenidos se sistematizaran en una matriz de excel.

La investigación se llevó a cabo de la siguiente manera:

3.8. Obtención de materiales

Para iniciar la investigación se utilizó los siguientes materiales:

Overol, botas, guantes, CMT, tubos de ensayo de tapa roja, toallas desechables, jeringuillas, paleta para CMT, agua caliente, baldes, ganchue, cámara fotográfica, hoja de campo, esferos.

3.8.1. Proceso para la realización de las pruebas.

La hora del ordeño inició a las 4:00 am las vacas ingresaban a la sala de ordeño y eran estabuladas y amañadas.

3.8.2. Realización de la prueba de CMT.

Para realizar la prueba de CMT, se lavó la ubre de la vaca con agua caliente y se seca con toallas desechables, descartamos el primer chorro de leche en la paleta de prueba tomamos 2 o 3ml de leche de cada cuarto, agregamos igual cantidad de reactivo C.M.T, agitamos la paleta en forma circular hasta mezclar muy bien la leche y el C.M.T, no mezclar por mas de 10 segundos la reacción visible desaparece en unos 20 segundos.

Se realizó la lectura según el siguiente cuadro.

- Negativo: El estado de la solución permanece inalterado. La mezcla sigue en estado líquido.
- Trazas: Se toma un precipitado en el piso de la paleta que desaparece pronto.
- 1(+): Hay mayor precipitación pero no se forma gel.
- 2(++): El precipitado se toma denso y se concentra en el centro.
- 3(+++): Se forma un gel muy denso que se adhiere a la paleta.

3.8.3. Proceso para la recolección de las muestras para cultivo más antibiograma.

Se realizó la recolección de las muestras, se lavó la ubre de la vaca con agua caliente y se secó con toallas desechables, descartamos el primer chorro de leche, tomamos 5ml de leche de cada cuarto, en un tubo de ensayo de tapa roja con su respectiva información, lo colocamos en un culer y de inmediato fue dejado en el laboratorio LIVEXLAB en la ciudad de Quito, y para cultivo en el laboratorio de la Facultad de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS, ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y DISCUSIÓN.

4.1.1. Resultado de CMT para diagnóstico de mastitis subclínica

Tabla 8. Resultados de la prueba de CMT.

		California Mastitis Test			
N.- Vacas	Nombre	Grado de CMT	Rango de CS	Interpretación	
1	Inés	N(Negativo)	0-200,000	Cuarto sano	No hay precipitación por lo tanto no hay infección
2	Brava	T(Trazas)	200,000-400,000	Mastitis subclínica	Ligera precipitación que desaparece al agitar
3	Brown Suis	N(Negativo)	0-200,000	Cuarto sano	No hay precipitación por lo tanto no hay infección
4	Cacho blanco	T(Trazas)	200,000-400,000	Mastitis subclínica	Ligera precipitación que desaparece al agitar
5	Fátima	N(Negativo)	0-200,000	Cuarto sano	No hay precipitación por lo tanto no hay infección
6	Lomo rojo	N(Negativo)	0-200,000	Cuarto sano	No hay precipitación por lo tanto no hay infección
7	Chilikigua	T 1	400,00-1,200,000	Mastitis subclínica	Existe una ligera agitación con algunos filamentos grumosos
8	Gabriela	T 1	400,00-1,200,000	Mastitis subclínica	Existe una ligera agitación con algunos filamentos grumosos
9	Papito	N(Negativo)	0-200,000	Cuarto sano	No hay precipitación por lo tanto no hay infección
10	Blanca	T 1	400,00-1,200,000	Mastitis subclínica	Existe una ligera agitación con algunos filamentos grumosos

Interpretación:

En la tabla 7 podemos observar los resultados obtenidos, tenemos 10 vacas en producción a las cuales se les realizó la prueba del CMT en el cual 5 vacas me dieron positivo a mastitis subclínica mediante las trazas T, T1 según los rangos de células somáticas y su interpretación, sacamos el porcentaje de positivos que fue 5 es decir 50% y 5 negativos 50%.

4.1.2. La sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo de leche mas antibiograma en la hacienda “El Boliche”.

Tabla 9. Sensibilidad del CMT VS cultivo en leche.

CMT			Cultivo	UFC/ML
Ind.	P /N	Ind.	P /N	
1	Negativo	1	Negativo	5 UFC/ml
2	Positivo	2	Negativo	< 1 UFC/ml
3	Negativo	3	Negativo	5 UFC/ml
4	Positivo	4	Negativo	4UFC/ml
5	Negativo	5	Negativo	< 1 UFC/ml
6	Negativo	6	Negativo	< 1 UFC/ml
7	Positivo	7	Negativo	< 1 UFC/ml
8	Positivo	8	Negativo	< 1 UFC/ml
9	Negativo	9	Negativo	< 1 UFC/ml
10	Positivo	10	Negativo	< 1 UFC/ml

Interpretación:

En la tabla 8 podemos observar a lado izquierdo los resultados del CMT tanto positivos como negativos, al lado derecho están los resultados del cultivo, los

cuales van hacer utilizados para realizar la fórmula para saber el % de sensibilidad, especificidad, exactitud.

Tabla 10. Fórmula para sacar % de sensibilidad, especificidad, exactitud.

					Fórmula	
VP (a)	FP (b)	FN (c)	VN (d)	TOTAL	a=	VP
		b=	FP
0	5	0	5	10	c=	FN
					d=	VN

Sensibilidad	$a/a+c$	Especificidad	$d/b+d$	Exactitud	
=		=		=	$a+d/N$
Se=	$0/0+0$	Es=	0,5	Ex=	0,5
Se=	0	Es=	50%	Ex=	50%
Se=	0%				

Interpretación:

Aplicamos la formula de VP (verdaderos positivos, FP (falsos positivos), FN (falsos negativos), VN (verdaderos negativos), el cual nos da como resultado 5 FP Y 5 VN y aplicamos la fórmula para saber el % de sensibilidad, especificidad y exactitud, el resultado es 0% de sensibilidad y 50% de especificidad y exactitud.

4.1.3. Agente causal predominante en el cultivo en leche.

Tabla 11. Agente causal de mastitis subclinica según los resultados del cultivo.

Cultivo		
N.- Vacas	Nombre	Agente causal
1	Inés	Desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i>
2	Brava	Desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococos spp.</i>
3	Brown Suis	Escaso desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus viradas sub especie mitas</i>
4	Cacho blanco	Escaso desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i>
5	Fátima	Escaso desarrollo de <i>Staphylococcus intermedius</i>
6	Lomo rojo	Escaso desarrollo de <i>Staphylococcus intermedius</i>
7	Chilikigua	Escaso desarrollo de <i>Staphylococcus intermedius</i>
8	Gabriela	Desarrollo de <i>Staphylococcus intermedius</i>
9	Papito	Escaso desarrollo de <i>Staphylococcus intermedius</i>
10	Blanca	Escaso desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i>

Interpretación:

Mediante los resultados del cultivo se puede observar en la tabla 10, que el agente causal predominante de mastitis subclinica es el *Staphylococcus aureus*, el cual presento desarrollo en los ejemplares 1, 2,8 y los de más con escaso desarrollo de *Staphylococcus intermedius* en los ejemplares restantes.

4.1.4. Calidad de leche para consumo humano

Tabla 12. Calidad de leche mediante cultivo.

<i>Staphylococcus</i>						
	Cultivo	<i>aureus</i>		E.coli		
Ind.	P /N	UFC/ML	Límite permitido	UFC/ML	Límite permitido	Métodos/Normas
1	Negativo	5 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	Alimentos Decreto N° 977/96. Publicado en el Diario Oficial de 13.05.97. Santiago de Chile, Chile
2	Negativo	< 1 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2012
3	Negativo	5 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2013
4	Negativo	4 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2014
5	Negativo	< 1 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2015
6	Negativo	< 1 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2016
7	Negativo	< 1 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2017
8	Negativo	< 1 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2018
9	Negativo	< 1 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2019
10	Negativo	< 1 Ufc/ml	>10ufc/ml o g	< 1	< 3NMP/mL	AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2020

Interpretación:

En la tabla 12 se puede observar al lado izquierdo los resultados del cultivo para *Staphylococcus aureus*, en el cual tenemos como resultado < 1 Ufc/ml, en los ejemplares 1,3,4 en los restantes es superior a 5ufc/ml pero no sobrepasa el límite permitido que es > 10ufc/ml o g, según la norma AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed 19.2012. Al lado derecho están los resultados de E.coli que fueron de <1ufc/ml y el límite permitido es de < 3NMP/ml según la norma Alimentos Decreto N° 977/96 . Publicado en el Diario Oficial de 13.05.97. Santiago de Chile, que nos dice que esta leche esta apta para consumo humano y procesos de fabricación de productos lácteos.

4.2. Análisis Económico.

Tabla 13. Promedio de pérdidas económicas

N.- Vaca	Litros/día	Disminución	Valor/litro/ctvs.
1	18	5	0.43
2	15	5	0.43
3	14		0.43
4	14		0.43
5	18		0.43
6	20		0.43
7	15	5	0.43
8	18	5	0.43
9	15		0.43

10	15	5	0.43
Total	162 litros	25 litros	69.66 dólares

Interpretación:

En la tabla 13 se puede observar a las diez vacas con los litros que produce diariamente cada una, el cual nos da un total de 162 litros, al igual que las vacas que presentaron disminución que fue de 25 litros, valor del litro 0.43 centavos, nos da un total de 69.66 dólares.

T.Litros diarios/mensuales	T.Litros disminuidos.	Costo \bar{x} Litros.	Costo Total Litros./dólares	Total Pérdidas Económicas/dólares
162 (diarios)	25	0.43 ctvs.	69.66	10.75
4860 (mensual)	750		2089.8	322.5

T=Total

\bar{x} = Promedio

Interpretación:

De acuerdo con la tabla 13, que muestra el analisis económico que se presenta en la hacienda el Boliche las perdidas mensuales son 322.5 dolares , lo cual representan el 15.43%

4.3. VERIFICACION DE LA HIPOTESIS

Los resultados obtenidos en la determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo de leche mas antibiograma en la Hacienda “El Boliche”, permite aceptar la hipótesis (H₀), porque no existe sensibilidad en dicha prueba para mastitis subclínica, ya que como resultado obtuve 0% de sensibilidad, pero si posee especificidad 50% y exactitud 50%, esto se debe a que en la investigación no se planteó la etapa de producción de las vacas.

4.4. DISCUSIÓN

Una vez concluida la investigación para la determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo de leche mas antibiograma en la hacienda “El Boliche”, de los resultados obtenidos se señala lo siguiente:

El CMT es la más utilizada para diagnóstico de mastitis subclínica debido a que es fácil, económica y de resultados rápidos; además, puede utilizarse a nivel de campo. Sin embargo, a pesar de todas sus ventajas, la CMT se considera como una prueba subjetiva, ya que su interpretación depende de la apreciación del operador y no proporciona un valor numérico exacto de células somáticas. (Tang et al., 2006; Hernández y Bedolla, 2008).

El CMT es una prueba que tiene una alta sensibilidad pero presenta algunas deficiencias en especificidad, dando falsos positivos durante la primera semana después del parto; y en vacas que tienen más de 7 meses de producción y varios partos. En estos casos el grado de viscosidad es similar en los 4 pezones (Mellenberger 2000).

En el caso de mi investigación mis resultados fueron 0% de sensibilidad y 50% de exactitud y especificidad, esto se debe a que las vacas que utilice no estaba en los

períodos que menciona dicho autor por tal motivo no concordamos con los resultados.

Torres et al. (1984) realizan una investigación de mastitis subclínica en el Proyecto de Queserías Rurales del Ecuador, cuyo objetivo era mejorar las condiciones socio-económicas de los grupos económicos marginados, estimando que en Ecuador hay un alto porcentaje de infección por cuarto mamario. Así, el 49% de vacas tiene mastitis subclínica y el 1% están afectadas con mastitis clínica. Estos autores concluyen que la etiología de dicho padecimiento está basada en la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermitis* y *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disgalactiae* y *Streptococcus uberis* en un 90% y el restante 10% por otro tipo de bacterias con predominio de *Escherichia coli*.

Los agentes causales de mastitis son comunes en la mayoría de investigaciones, en la Hacienda El Boliche, el grupo de *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus viridans sub especie mitis*, *staphylococcus intermedius*.

En cuanto a la calidad de leche para consumo humano se dice que es apta según la norma AOAC 2001.05/2003.07-2003.08/2003.11 Ed. 19.2012, límite permitido >10ufc/ml.

En cuanto al análisis económico el productor de la hacienda pierde 322.5 dólares mensuales lo cual representan el 15.43%.

Las pérdidas económicas por mastitis en el ganado bovino son para el productor, por las pérdidas directas, entre las que se pueden mencionar: la eliminación de leche con mastitis, el tratamiento de la enfermedad, la eliminación de leche con antibiótico, tiempo con baja producción hasta que el animal se recupere totalmente, entre otras. Y para la industria debido a la disminución en el suministro de materia prima para su procesamiento y la baja calidad de la misma (Cano, C. 2006).

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Mediante la prueba de CMT realizada a las diez vacas en producción los resultados fueron 5 vacas positivas (vaca 2,4 T(trazas)y vaca 7,8,10 T1) a mastitis subclínica y 5 N(Negativas) vacas 1,3,5,6,9, el porcentaje de positivos seria 50% y negativos 50%.
- El agente causal predominante es *Staphylococcus aureus* presentes en las vacas 1, 2,8 con desarrollo y en escaso desarrollo de *Staphylococcus intermedius* en las vacas 3, 4, 5, 6, 7, 9,10.
- Determinamos el % de sensibilidad de la prueba de CMT en el diagnóstico de la mastitis subclínica, el cual nos dio 0% de sensibilidad y 50% de especificidad y exactitud, por lo que considero que no es una prueba diagnóstica confiable, porque en la investigación no se considero la etapa productiva de las vacas.
- Establecimos el porcentaje de pérdidas económicas de la hacienda , la presencia de mastitis subclínica ocasiona grandes pérdidas al productor, al mes se obtiene una perdida promedia de 322.5 dólares que corresponde al 15.43%

5.2. RECOMENDACIONES

- Continuar el estudio tomando en cuenta la etapa reproductiva de los animales para corroborar la hipótesis planteada.
- Considerar los resultados obtenidos en la hacienda solo para uso en ella.
- Realizar analisis para aerobios gram positivos

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. TÍTULO

La utilización de CMT como diagnóstico sistemático para mastitis subclínica y el establecimiento terapéutico respectivo en la hacienda “EL boliche”.

6.2. FUNDAMENTACIÓN.

6.2.1. ¿Qu es la mastitis?

“La mastitis, o la inflamación de la glándula mamaria, es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero en la mayor parte del mundo. A pesar del estrés y las lesiones físicas se puede causar la inflamación de la glándula, la infección por bacterias invasoras u otros microorganismos (hongos y virus) son las principales causas de mastitis.” (Bavera 2000).

6.2.2. Mastitis Subclínica.

Emiten una definición de mastitis subclínica y dice que “En la mastitis subclínica no se manifiestan síntomas visibles y solamente se puede confirmar la condición de la ubre mediante pruebas específicas para determinar la presencia de patógenos, productos metabólicos de desecho (toxinas y la concentración de células somáticas). Entorno ganadero (2006) manifiesta que “Duane, (1999); Rainard and Poultrrel, (1982) Las pérdidas de la producción

en una explotación como la leche y de ganancias debido a las mastitis clínicas son obvias, la producción de leche cae en forma abrupta y la leche de las vacas tratadas con antibióticos debe ser descartada durante tres o cuatro días. Además, mucho más leche se pierde debido a mastitis subclínicas por que tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas”.

6.2.3. Patógenos.

Según (Pinzón 1989), la mastitis es ocasionada por organismos microscópicos que penetran la ubre a través del canal de los pezones. La penetración puede ocurrir por multiplicación, movimiento mecánico, propulsión durante el ordeño o por una combinación de factores.

Aproximadamente del 90 al 95% de los casos son provocados por cuatro microorganismos.

Los cuales son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*.

Los gérmenes más importantes de la inflamación de la ubre son los estreptococos, los estafilococos, los coliformes, *Corynebacterium pyogenes*, las *pseudomonas* y levaduras. Los gérmenes menos frecuentes son los micoplasmas, clostridios, klebsiellas, *aerobacter*, bacilo céreo, nocardias, hongos, etc. Según (Kirk 1984).

6.2.4. California Mastitis Test

Uno de los mejores caminos para detectar el índice de mastitis es el CMT - California Mastitis Test. (Marshall y Edmondson 2005).

La prueba de CMT es una prueba de campo de fácil manejo y buena sensibilidad que se fundamenta en la capacidad que tiene el reactivo Lauril Sulfato de Sodio

para reaccionar con el DNA celular produciendo viscosidad directamente proporcional al número de células somáticas presentes en la muestra de leche.

6.3. OBJETIVOS

- Aplicar la prueba de CMT para diagnóstico de mastitis subclínica en la hacienda “El Boliche”.
- Implementar medidas terapéuticas para control y prevención de mastitis subclínica mediante los resultados de antibiograma.

6.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La mastitis es una de las enfermedades de gran costo para los productores por lo cual es necesario un control específico de la mastitis , lo que se puede lograr mediante la utilización del CMT como prueba diagnóstica sistemática para mastitis subclínica ,pero tomando en cuenta las etapas de producción de las vacas, la cual se podría corroborar con análisis de cultivo o antibiograma para determinar el agente causal predominante , realizar el tratamiento de acuerdo al resultado, para que el antibiótico no cree resistencia al agente patógeno, observar cuales poseen mayor sensibilidad y que posean tiempo de retiro para que la leche sea apta para consumo humano y fabricación de productos lácteos , para tener una idea real del estado de la enfermedad y así disminuir los gastos ocasionados en los hatos ganaderos.

6.5. MANEJO TÉCNICO.

6.5.1. Pruebas de campo

6.5.1.1. California Mastitis Test

Hoja de Información de la Prueba de Mastitis California (CMT)

Equipo



Se toma una muestra de leche de cada cuarto en una raqueta de CMT limpia. La raqueta tiene cuatro pequeños compartimientos marcados como A, B, C, y D para identificar los cuartos de los que proviene cada muestra. La solución CMT debe ser reconstituida de acuerdo a las instrucciones del producto.

Procedimiento



Paso 1: Tome aproximadamente 1 cucharadita (2 cc) de leche de cada cuarto



Esto corresponde a la cantidad de leche que quedaría en los compartimientos al colocar la raqueta en posición casi vertical



Paso 2: Agregue igual cantidad de solución CMT a cada compartimiento.



Paso 3: Rote la raqueta con movimientos circulares hasta mezclar totalmente el contenido. No lo mezcle por más de 10 segundos.

Paso 4: “Lea” rápidamente la prueba. La reacción visible desaparece en unos 20 segundos. La reacción recibe una calificación visual. Entre más gel se forme, mayor es la calificación.

Lectura del CMT



N = Negativo (*No Infectado*). No hay espesamiento de la mezcla.



T= Trazas (*Posible Infección*). Ligero espesamiento de la mezcla. La reacción “Trazas” parece desvanecerse con la rotación continua de la raqueta.

Ejemplo: Si en los 4 cuartos se leen “trazas”, no hay infección. Si en uno-dos cuartos se leen “trazas”, hay posible infección.



1= Positivo Débil (*Infectado*). Definido espesamiento de la mezcla, pero sin tendencia a formar gel. Si la raqueta se rota por más de 20 segundos, el espesamiento puede desaparecer.

2= Positivo Evidente (*Infectado*). Inmediato espesamiento de la mezcla con ligera formación de gel. Mientras la mezcla se agita, esta se mueve hacia el centro de la copa, exponiendo el fondo del



borde externo. Cuando el movimiento se detiene, la mezcla se nivela y cubre todo el fondo de la copa.



3= Positivo Fuerte (*Infectado*). Hay formación de gel y la superficie de la mezcla se eleva (como un huevo frito). Esta elevación central permanece aún después de detener el movimiento de rotación de la raqueta de CMT.

La raqueta debe lavarse después de cada prueba.

6.5.1.2. Interpretación de los grados del CMT

El grado de CMT está directamente relacionado con el promedio del conteo de células somáticas. En esta tabla se muestra como están relacionados.

Una reacción de T (trazas) o más indica que hay mastitis subclínica en el cuarto.

Grado de CMT	Rango de Células Somáticas	Interpretación
N (Negativo)	0 – 200,000	Cuarto Sano
T (Trazas)	200,000 – 400,000	Mastitis Subclínica
1	400,000 – 1,200,000	Mastitis Subclínica
2	1,200,000 – 5,000,000	Infección Seria
3	Más de 5,000,000	Infección Seria

Protocolo de control de mastitis subclínica					
1.- Ordeño mecánico	→ Tiempo de retiro de las pezoneras	→ 5 minutos(Oxitocina alcanza un nivel máximo en sangre de 1 minuto)	→ Se recomienda colocar las pezoneras en el momento en que la Oxitocina está en su nivel máximo o justo antes.	→ Transcurrido los 5 minutos apagar y dejar que suelte los pezones no jalar porque originaria que entre aire a los pezones y ocasione la entrada de bacterias causantes de mastitis.	
2.- Sellado	Diluir yodo en un recipiente con agua (en 1 litro de agua colocar 30ml de yodo)	Colocar el pezón dentro del recipiente hasta que se sumerja en el desinfectante completamente	Realizar el sellado después de cada ordeño (así sea 2 veces al día)		
3.-Control Mastitis Test. California	Normalmente cada 30 días individualmente	Con problema de mastitis cada 15 días.	Si es necesario realizar cultivo mas antibiograma		
4.- Aplicación de prueba de California Mastitis Test	Lactancia temprana	En los dos últimos tercios de la lactancia Semanas antes del parto	Momento del secado	2 semanas posteriores al secado y las 2 semanas antes del parto	No realizar durante la primera semana después del parto, en vacas con más de 7 meses de producción, vacas con varios partos, porque dan falsos positivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ Cano, C. 2006. Nuevas alternativas en el diagnóstico clínico de campo y en el tratamiento de mastitis. Boletín Técnico Virtual. (en línea). México. Consultado 9 mares, 2007. Disponible en www.fmzv.unam.mx/bovinotecnia/BtRgCliC004.htm.
- ❖ Agrobit Gestión Agropecuaria. 2004. Mastitis: Enfermedad y Transmisión. (en línea). Córdoba - Argentina. Consultado 9 mar. 2007. Disponible en http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.hm
- ❖ Pedraza, C. 1991. Efecto de la mastitis clínica sobre la producción de leche. Agricultura técnica. Chile. Tomo 51, p. 298-305.
- ❖ San Martín, B.; Kruze, J.; Morales, M.A.; Agüero, H.; León, B.; Espinoza, S.; Iragüen, D.; Puga, J.; Borie, C. 2002. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región, Chile. Universidad Austral de Chile. (en línea). Chile. Consultado 10 sep 2007. Disponible en <http://www.scielo.cl>.
- ❖ BAVERA G. A. Mastitis [En línea].-2000.-Recuperado 30 de 10 de 2011.- www.agrobit.com
- ❖ REYES Marengo Mastitis Bovina [En línea].-Nefermare, 21 de 08 de 2010 Recuperada 12 e 01 de 2012.-<http://www.slideshare.net/nefermare/mastitis-bovina>.
- ❖ BEDOLLA CEDEÑO José Luis Veterinaria Mastitis 2008 [En línea]. Recuperado 31 de 10 de 2011.- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101008/101004.pdf> Buen Dato

[En línea]. - Profiles, 15 de 03 de 2008. - 12 de 01 de 2012. -

<http://www.buendato.com/profiles/blogs/mastitis-en-ganado-bovino>.

- ❖ AGROBIT. Enfermedades Ganaderas 2010 [En línea].- Recuperado 30 de 10 de 2011 -
http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.htm
- ❖ ROJAS Seanq Mastitis En Ganado Bovino 2009 [En línea].- Recuperado 12 de 01 de 2012.- <http://www.buendato.com/profiles/blogs/mastitis-en-ganado-bovino>
- ❖ Universidad Agronomica de Chile [En línea]. - 30 de 10 de 2011. - www.agronomia.uchile.cl/extension/circular_extensio_panimal.
- ❖ DUANE Reinard Entorno Ganadero 1999 [En línea].-Recuperado31 de 10 de 2011.-
<http://mvz.unipaz.edu.co/textos/preproduccion/articulos/eg21art1.pdf>
- ❖ HOLLARD Fabricio Producción Ganadera 2007 [En línea]. – Recuperado 30 de 10 de 2011.-
<http://mvz.unipaz.edu.co/textos/preproduccion/articulos/eg21art1.pdf>.
- ❖ Díaz, R. 2006. Especialista de la Dirección Especialista de la Dirección de Crianzas (en línea). Perú. Consultado 2 jun 2007. Disponible en: <http://www.portalagrario.gob.pe/dgpa1/ARCHIVOS/BPOrdeno.pdf>
- ❖ Jaramillo, M. 2007 .CODEGAR LTDA. Patógenos de la mastitis. (en línea). Consultado 12 jul 2007. Disponible en: http://www.codegar.com/index.php?option=com_content&task=view&id=38&Itemid=9

- ❖ Ávila T., S.; Gutiérrez C., A. Mastitis. 2004. Universidad Nacional Autónoma. (en línea).México. Consultado 8 sep. 2007. Disponible en: <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Mastitis%20en%20Ganado%20Bovino.doc>

- ❖ Varela, B., 2002. Clasificación de la mastitis. (en línea). Consultado 2 oct 2007.
Disponible en http://www.mastitis.com.ar/view_nota.php?id_nota=773&id_etapa=6&id_tem86

- ❖ Kirk, J.; Barletta, P. 1984. Mastitis in a Hariana cow- A case report. Indian. p. 58-76.

- ❖ Marshall, R.; Edmondson, J. 2005. Department of Food Science and Nutrition. Venezuela. p. 103-184.

- ❖ Mellenberger, R; Roth, C. 2000. Dpto. de Ciencia Animal, Universidad del Estado de Michigan y Universidad de Wisconsin-Mádison. (en línea). Consultado 19 ago. 2007. Disponible en <http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/CMT%20spanish.pdf>.

- ❖ Winterhalter, E. 2005. Rutina de Ordeño. (en línea). Uruguay. Consultado 2 abr 2007. Disponible en <http://www.nuestroagro.com.ar/info/tematicas/tematicas.asp?id=409>

- ❖ Kleinschroth *et al.* 1991. La Mastitis. Laboratory Handbook on bovine mastitis. Estados Unidos. p. 72 – 104.

- ❖ Val, D., 2005. Presentación de la coloración Gram (en línea). Consultado 21 sep. 2007. Disponible en <http://www.qb.fcen.uba.ar/microinmuno/SeminarioTinciones.htm>

- ❖ Mateos, P. 2004. Bacteriología y Virología Veterinaria. 5ª ed. España. p. 958

- ❖ Pedrique, M. 2002. Determinación De La Sensibilidad De Las Bacterias A Los Antibióticos –Antibiograma. (en línea). Consultado 19 ago. 2007. Disponible en [www.ucv.ve/Farmacia/Micro_web/Catedras02/antibiog.pdf+procedimientobio](http://www.ucv.ve/Farmacia/Micro_web/Catedras02/antibiog.pdf+procedimientobio%20gramah%20es&ct=clnk&cd=1&gl=ec&lr=lang_es)
[grama&hl=es&ct=clnk&cd=1&gl=ec&lr=lang_es](http://www.ucv.ve/Farmacia/Micro_web/Catedras02/antibiog.pdf+procedimientobio%20gramah%20es&ct=clnk&cd=1&gl=ec&lr=lang_es)

- ❖ Vet-Uy laboratorio. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 2004. Obtención de muestras para laboratorios de bacteriología. (en línea). Consultado 21 sep. 2007. Disponible en <http://www.vet-uy.com/laboratorio/articulos/001/001.htm>

- ❖ Smith V.R. Physiology of lactation. 5a. ed. Iowa: Iowa State University

- ❖ Bath D.L, Dickinson F.N, Tucker H.A, Appleman R.D. Dairy Cattle. 2a ed. <http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/CMT%20spanish.pdf>

- ❖ MVZ Eduardo Puente Casillas*. 2009. Producir XXI, BsAs., 18(218):51-56. *Gerente técnico para Argentina Pfizer Salud Animal. Publicado en Síntesis de las Jornadas ExpoSuipacha 2009. eduardapuate@pfizer.com
<http://www.produccion-animal.com.ar/>

- ❖ Roger Mellenberger, Depto. de Ciencia Animal, Universidad del Estado de Michigan y Carol J. Roth, Depto. de Ciencia Lechera, Universidad de Wisconsin-Mádison Abril, 2000 Traducido por Humberto Rivera, Depto. de Ciencia Lechera, Universidad de Wisconsin-Mádison, 2004.

- ❖ Reglamento Sanitario de los Alimentos Decreto N° 977/96. Publicado en el Diario Oficial de 13.05.97. Santiago de Chile, Chile

- ❖ Calvet, E. Monitorización del manejo en la sala de ordeño. Índices técnicos. 2008. Disponible en:
<http://www.exopol.com/general/circulares/111circ.html>. 2008.

- ❖ R.j Eberhart, Conceptos Actuales de Mastitis Bovina Tercera Edición Octubre 1990 pag 53

ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de la investigación.



Sala de ordeño



Lavar bien los pezones de la vaca y secar



Dejamos ir el primer chorro de leche



Recolectamos de 3 a 4 chorros de leche de cada cuarto en la paleta



Colocamos igual cantidad de solución de CMT a cada compartimiento de la paleta

Rotamos la paleta con movimientos circulares hasta mezclar totalmente el contenido de 10 a 15 segundos.



Luego procedemos a la lectura del CMT

Recogemos la muestra para enviar al laboratorio en un tubo de ensayo estéril 5ml de leche para realizar el antibiograma y cultivo

Anexo 2. Exámenes realizados cultivo y antibiograma.



Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
 Telf: 2411-637 / 095003160 Fax: 2412-494
 e-mail: resultados@livex.com.ec Quito-Ecuador

INFORME DE RESULTADOS

CASO:	O-1477	MUESTRAS:	Leches (10)
CLIENTE:	Hcda. El Boliche	ESPECIE:	Bovino
DIRECCION DEL CLIENTE:	Quero	RAZA:	Varias
HACIENDA:	El Boliche	SEXO:	Hembra
DIRECCION DEL PREDIO:	Tungurahua- Ambato	EDAD:	Adultas
TELEFONO:	93 9425 437		
MEDICO REMITENTE:	Gloria Cuzco	RESPONSABLE:	C. Montalvo
FECHA DE RECEPCION:	2014-07-31		
FECHA DE ANALISIS:	2014-07-31	CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO:	18 ° C – 25 ° C
FECHA DE EMISION DEL INFORME:	2014-08-07		

Pruebas Solicitadas: Cultivo - antibiograma	Tratamientos antes de la toma de muestra: NR
--	---

ANAMNESIS: NR

Prueba: CULTIVO - ANTIBIOGRAMA	Método: CULTIVO (LVX / MAL / 105-00)
---------------------------------------	---

1. IDENTIFICACIÓN: O-1477-01-INÉS

RESULTADO

Desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Oxacilina	
Estreptomicina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Tetraciclina	



Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
 Telf: 2411-637 / 095003160 Fax: 2412-494
 e-mail: resultados@livex.com.ec Quito-Ecuador

2. IDENTIFICACIÓN: O-1477-02-S/N

Desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Oxacilina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	
Tetraciclina	
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	

3. IDENTIFICACIÓN: O-1477-03-BROWN SUIS MALTONA

Escaso desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Oxacilina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	

4. IDENTIFICACIÓN: O-1477-04-CACHO BLANCO

Escaso desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Oxacilina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	



Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
 Telf: 2411-637 / 095003160 Fax: 2412-494
 e-mail: resultados@livex.com.ec Quito-Ecuador
 Escaso desarrollo de *Staphylococcus intermedius*.

5. IDENTIFICACIÓN: O-1477-05-FATIMA

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	

6. IDENTIFICACIÓN: O-1477-06-LOMO ROJO

Escaso desarrollo de *Staphylococcus intermedius*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	

7. IDENTIFICACIÓN: O-1477-07-CHILIKIGUA

1. Escaso desarrollo de *Staphylococcus intermedius*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	

2. Desarrollo de *Micrococcus* spp.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Ampicilina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	
Tetraciclina	

3. Escaso desarrollo de *Streptococcus viridans* sub especie *mitis*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Penicilina	

8. IDENTIFICACIÓN: O-1477-08-GABRIELA

Desarrollo de *Staphylococcus intermedius*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	



Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
 Telf: 2411-637 / 095003160 Fax: 2412-494
 e-mail: resultados@livex.com.ec Quito-Ecuador

9. IDENTIFICACIÓN: O-1477-09-PAPITO

Escaso desarrollo de *Staphylococcus intermedius*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	

2. Desarrollo de *Micrococcus spp.*

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ampicilina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	

10. IDENTIFICACIÓN: O-1477-10-BLANCA

Escaso desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

ANTIBIOGRAMA

SENSIBLE	RESISTENTE
Ciprofloxacina	Ampicilina
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	
Oxacilina	
Sulfatrimetoprim	
Gentamicina	
Tetraciclina	
Cefalexina	
Ceftriaxona	
Estreptomina	



Carlos Alvarado N50-09 y Los Álamos
Telf: 2411-637 / 095003160 Fax: 2412-494
e-mail: resultados@livex.com.ec Quito-Ecuador

COMENTARIO:

INFORMACION MISCELANEA:

Mastitis Ambiental

Los principales patógenos ambientales incluyen dos tipos de bacterias: las bacterias coniformes (Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca y Enterobacter aerogenes) y varias especies de estreptococos diferentes a Strep. agalactiae. A estas otras especies de estreptococos se les llama "estreptococos ambientales".

La principal fuente de patógenos ambientales es el medio ambiente en donde viven las vacas.

NMC

Tomado en parte de: Una Práctica Mirada a las mastitis ambientales. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. Volume 9, no. 10. 1987. p. F342

Mastitis contagiosa

La glándula mamaria de las vacas infectadas es la principal fuente de patógenos contagiosos en un hato lechero. La transmisión de patógenos contagiosos a cuartos y vacas no infectadas se produce principalmente durante el ordeño. La leche de cuartos infectados puede contaminar las máquinas de ordeño, las manos de los ordeñadores y toallas, que actúan como reservorios de la infección.

Los principales patógenos contagiosos son Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae. Estas bacterias pueden ser controlados eficazmente por los procedimientos que impidan la propagación de las bacterias en el ordeño vez incluyendo una buena higiene de la ubre, los procedimientos adecuados de ordeño, y desinfección post ordeño de pezones.

NMC PUBLICATION

A Global Organization for Mastitis Control and milk Quality.

*Este informe no podrá ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación de la Gerencia.

*NOTA: ESTE RESULTADO ES UNICAMENTE VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

ATENTAMENTE,

Micrb. Cristina Montalvo
Directora LIVEXLAB





UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
 FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS
 UNIDAD DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
LABORATORIO DE CONTROL Y ANALISIS DE ALIMENTOS



Dir: Av. Los Chasquis y Rio Payamino, Huachi, Ambato Ecuador Telefonos: 2400998 Correo: laconal@hotmail.com

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

Certificado No:14-269

R01-5.10 06

Solicitud N°: 14-269	Pág.: 1 de 2
Fecha recepción: 29 agosto 2014	Fecha de ejecución de ensayos: 29 agosto 2014
Información del cliente:	
Empresa: n/a	C.I./RUC: 1803816139
Representante: Gloria Elizabeth Cuzco Soto	TIF: 032746605
Dirección: Quero	Celular: 0939425437
Ciudad: Quero	E mail: elysglocar_josue@hotmail.com
Descripción de las muestras:	
Producto: Leche cruda	Peso: 30ml c/u
Marca comercial: n/a	Tipo de envase: Esteril
Lote: n/a	No de muestras: Diez
F. Elb.: n/a	F. Exp.: n/a
Conservación: Ambiente: X Refrigeración: Congelación:	Almac. en Lab: 30 días
Cierres seguridad: Ninguno: X Intactos: Rotos:	Muestreo por el cliente: 29 agosto 2014

RESULTADOS OBTENIDOS

Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Leche cruda	26914672	Bovina Vaca 1 Ines	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	5
Leche cruda	26914673	Bovina Vaca 2 Brava	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
Leche cruda	26914674	Bovina Vaca 3 Browsuis Maltona	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	5
Leche cruda	26914675	Bovina Vaca 4 Cacho Blanco	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	4
Leche cruda	26914676	Bovina Vaca 5 Fatima	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
Leche cruda	26914677	Bovina Vaca 6 Lomo Rojo	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
Leche cruda	26914678	Bovina Vaca 7 Chilikigua	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
Leche cruda	26914679	Bovina Vaca 8 Gabriela	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
Leche cruda	26914680	Bovina Vaca 9 Papito	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
Leche cruda	26914681	Bovina Vaca 10 Blanca	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/ml	<1
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19, 2012	UFC/ml	<1

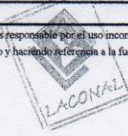
Conds. Ambientales: 19.8° C; 52% HR

Ing. Gladys Risueño
 Directora Técnica

DIRECTOR CALIDAD

Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si

Nota: Los resultados consignados se refieren exclusivamente a la muestra recibida. El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado. No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.



Anexo 3. Facturas.



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS
 UNIDAD DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
LABORATORIO DE CONTROL Y ANALISIS DE ALIMENTOS, LACONAL



Av. Los Chasquis y Rio Payamino, Huachi, Telf.: 2 400987, Fax: 2 400998. Email: laconal@hotmail.com Ambato-Ecuador

SOLICITUD DE ANÁLISIS

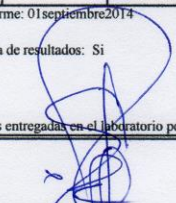
Solicitud N°: 14-269	R01-4.4 05
Fecha recepción: 29 agosto 2014	Pág 1 de 1
Señor Director de Calidad del Laboratorio LACONAL Sirvase tramitar los análisis de la(s) muestra(s) con las siguientes características:	
Información del cliente:	
Empresa: n/a	C.I./RUC: 1803816139
Representante: Gloria Elizabeth Cuzco Soto	Tlf: 032746605
Dirección: Quero	Celular: 0939425437
Ciudad: Quero	E mail: elysglocar_josue@hotmail.com
Descripción de las muestras:	
Producto: Leche cruda	Peso: 30ml c/u
Marca comercial: n/a	Tipo de envase: Esteril
Lote: n/a	No de muestras: Diez
F. Elb.: n/a	F. Exp.: n/a
Conservación: Ambiente: X Refrigeración: Congelación:	Almac. en Lab: 30 días
Cierres seguridad: Ninguno: X Intactos: Rotos:	Muestreo por el cliente: 29 agosto 2014


ENSAYOS SOLICITADOS

Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos empleados	Valor Unitario	Valor Total
Leche cruda	26914672	Bovina Vaca 1 Ines	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914673	Bovina Vaca 2 Brava	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914674	Bovina Vaca 3 Brownsis Maltona	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914675	Bovina Vaca 4 Cacho Blanco	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914676	Bovina Vaca 5 Fatima	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914677	Bovina Vaca 6 Lomo Rojo	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914678	Bovina Vaca 7 Chilikigua	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914679	Bovina Vaca 8 Gabriela	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914680	Bovina Vaca 9 Papito	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18
Leche cruda	26914681	Bovina Vaca 10 Blanca	*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19. 2012	13.39	13.39
			*Staphilococcus aureus	AOAC 2001.05/2003.07 - 2003.08/2003.11 Ed 19. 2012	15.18	15.18

Fecha de entrega de informe: 01septiembre2014	Subtotal	285.70
Transferencia electrónica de resultados: Si	12 % IVA	34.28
	TOTAL	319.98

Revisión:
 Modificaciones:
 Observaciones: Muestras entregadas en el laboratorio por el cliente. Enviar resultados parciales fisicoquímicos


 Ing. Gladys Risueño
 Directora Técnica


 C.I./RUC: 1803816139
 Representante: Gloria Elizabeth Cuzco Soto

Original: Cliente 1ra Copia: Archivo GF



Instruequipos Cía. Ltda.
MOBILIARIO SISTEMAS
 www.instruequipos.com.ec

MATRIZ Y ESTABLECIMIENTO:
 Av. Las Américas 01-59 y González Suárez Telefax: (03) 2826052
 CUZCO GLORIA

N. Control.FC007985

FACTURA 001-002

Nº 0007985

Aut. S.R.I. 1114805781
 R.U.C. 1890074320001
 23 de Julio del 2014

SR: QUERO
 DIRECCION: 1803816139
 R.U.C.:

FECHA:
 TELF:
 CONTADO EFECTIVO

GUIA DE REMISION:

Nº	COD.	DETALLE	CANT.	V. UNITARIO	DESC.	V. TOTAL
1	T-783	TUBO VACUTAINER T/ROJA 10ML X 50 UN	1	13.39	0.00	13.39

ENTREGADO

CANCELADO
 FECHA:

GRÁFICAS ESCOBAR - CARLOS HOMERO ESCOBAR ESCORZA - RUC 1801099704001 - AUT. 13379
 F. AUTORIZACION: 05/05/2014 - CADUCA: 05/05/2015 - IMPRESO DEL 007401 AL 008000
 ORIGINAL: Adquiriente • COPIA 1: Emisor • COPIA 2: Archivo

SALIDA LA MERCADERIA NO SE ADMITE DEVOLUCION

[Signature]

[Signature]

Elaborado por:

Firma cliente

SUB TOTAL \$	13.39
DESCUENTO	0.00
BASE 12 %	13.39
BASE 0 %	0.00
IVA %	1.61
TOTAL \$	15.00

OBLIGADO A LLEVAR CONTABILIDAD