

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

TEMA:

**“Evaluación del uso de flameado de ubres en la población de mesófilos aerobios,
E. coli, Coliformes y Mastitis Subclínica en leche cruda de bovino”**

AUTORA

Karla Elizabeth Rodríguez Arroyo

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Edwin Pino

Latacunga – Cotopaxi – Ecuador 2013

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, quien ha venido a ser mi Padre en el cielo y en la tierra. Aquel ser que ha demostrado su amor hacia mi desde la leve brisa en mi cara como el protegerme de este mundo violento. Es Aquel que me da nueva esperanza cada día con sólo ver la perfección con que ha hecho su creación. Es Aquel que me ha dado vida con su muerte y sentido a la vida al saber que fui creada con un propósito. Es Aquel que me empuja a dar lo mejor de mí por el mero hecho de saber que eso le place a Él. Señor este trabajo te lo dedico anhelando tu bendición en las próximas actividades de mi vida.

Agradezco a mi mami por ser ese ángel en mi vida que supo entregar todo por su hija, en ella he visto el amor sacrificial siendo un ejemplo de valentía, templanza y ternura. Ella es el pilar más importante en mi vida y le agradezco a Dios porque no pudo darme mejor madre que la que tengo.

Agradezco a mis amigos, quienes presentes o no, conocedores o no en todo este proceso han sabido animarme a seguir, me han dado su cariño y por no decir sus risas para continuar.

Agradezco a todas aquellas personas que fueron un apoyo en la realización de este trabajo, a ellos les debo la culminación de esta etapa.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primero a mi Dios quien me ha dado vida y fuerzas para seguir adelante, quien siendo La Fuente de todo conocimiento me ha guiado.

“Más tu Jehová, eres escudo alrededor de mi;

Mi gloria y el que levanta mi cabeza ”Salmos 3:3

Lo dedico también a mi madre que con sus palabras siempre ha hecho de mi la mujer que soy hoy, es un orgullo escuchar que me parezco a ti.

Al Dr. Edwin Pino por su disposición en ayudarme y siempre apoyarme con la realización de este trabajo.

A mis amigas, Mire, Lula y Gaby quienes hicieron de la universidad un tiempo de aprendizaje y amistad. Las quiero. A mis amigos que sin tener idea de que se trate esto han estado allí; Pame, Saúl y Esteban, gracias por animarme y estar juntos en cada actividad de mi vida. Leo T, Jose, Leo M, Alex por siempre preguntar cómo iba y animarme a seguir. A Lenin Jaramillo por “iluminarme”, con su paciencia y conocimientos. A alguien muy especial, Fausto por apoyarme con tus conocimientos y animarme a continuar, gracias!!. A aquellas personas que han sido parte de este trabajo pero que en mi vida fueron más que colaboradores, Don Pedro Arteta y Don César Campaña por haberme abierto las puertas y darme su confianza. Washo, Cris, Martha y Agustín sin su ayuda esto no hubiera sido posible y por hacer más amenas todas las actividades. Dra. Rugarte por haberme abierto las puertas del Laboratorio de Calidad de Leches de Agrocalidad, por confiar en el talento de jóvenes ecuatorianos y brindarles las facilidades para ser mejores profesionales cada día.

INDICE GENERAL

1.- CAPITULO 1	1
1.1La Empresa Láctea en el Ecuador	1
1.1.1 Destino de la producción de leche en Ecuador.....	3
1.1.2. Precio de la leche	3
1.1.3. Calidad de la leche	5
1.2Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 9:2008)	5
1.3Leche cruda.....	7
1.4Microbiología de la leche	8
1.4.1.Microorganismos de interés tecnológico en lechería.....	9
1.5Contaminación de la leche	10
1.5.1Recuento de microorganismos mesófilos.....	211
1.5.2Recuento de microorganismos coliformes	222
1.6Mastitis subclínica.....	13
1.61. Patógenos causantes de mastitis	14
1.7Células Somáticas	15
1.8Conteo de Células Somáticas.....	16
1.8.1Californian Mastitis Test (CMT).....	17
1.8.2Contador Electrónico Fossomatic.....	19
1.9Etapa de Lactancia	19
1.10Flameado	20
1.11Placas Petrifilm	21
CAPÍTULO II.....	23
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
2.1. Características del área de experimento.....	23
2.2Recursos Humanos	23
2.2.1 Recursos humanos	23
2.2.2 Materiales de oficina	24
2.2.3 Insumos	24
2.2.4 Equipos	25

2.3 Métodos y Técnicas.....	25
2.3.1. Métodos	25
2.3.2. Metodología	25
2.4. Unidades experimentales	26
2.5. Tratamientos	27
2.6. Variables evaluadas	27
2.6.1 Población de mesófilos aerobios.....	27
2.6.2 Población de <i>E. coli</i> /Coliformes	27
2.6.3 Mastitis subclínica.....	28
2.6.4 Análisis Económico	28
2.7 Manejo del ensayo.....	28
2.7.1 Rutina de ordeño	29
2.7.2 Técnica del Flameado	29
2.7.3 Toma de muestras.....	30
2.7.4 Conteo de Células Somáticas.....	30
2.7.5 Cultivo de Bacterias Mesófilos Aerobios.....	31
2.7.6 Cultivo de Coliformes/ <i>E. Coli</i> en Placas Petrifilm.....	31
2.7.7. Laboratorio	32
CAPÍTULO III.....	33
3. Resultados y discusión	33
3.1. Resultados obtenidos en cada flameado	33
3.2 Resultados Bloque N° 1.....	34
3.3 Resultados Bloque N° 2.....	35
3.4 Resultados N° Bloque 3.....	37
3.5. Análisis de Varianza.....	39
3.5.1. Análisis de Varianza por Células Somáticas (CCS).....	39
3.5.2. Prueba de Duncan para Células Somáticas (CCS).....	40
3.5.3. Análisis de Varianza por Unidades Formadoras de Colonias (UFC)	42
3.5.4. Prueba de Duncan para Unidades Formadoras de Colonias (UFC).....	43
3.6 Prevalencia de mastitis subclínica en los diferentes bloques	44
3.7. Análisis Económico del uso de la técnica del flameado en la rutina de ordeño.....	46
3.7.1. Relación costo – beneficio del uso del flameado de ubre	48

4 Conclusiones.....	49
5 Recomendaciones	50
6. Bibliografía.....	51
7. Anexos.....	52

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

11	
TABLA N° 1 PRODUCCIÓN ANUAL DEL LECHE POR REGIONES EN MILES DE LITROS.....	12
TABLA N° 2 DISTRIBUCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE EN EL ECUADOR	13
TABLA N° 3 PAGO DE LECHE POR CONTEO DE BACTERIAS Y CÉLULAS SOMÁTICAS	14
TABLA N° 4 CATEGORIZACIÓN DE LA LECHE POR TRAM Y CONTENIDO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS.....	16
TABLA N° 5 COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE DIFERENTES ESPECIES (POR CADA 100 GRAMOS).....	17
TABLA N° 7 VALORES REFERENCIALES EN ANÁLISIS DE LECHE DE CALIDAD INSTITUTO BABCOCK 2002.....	22
TABLA N° 8 PATÓGENOS MÁS COMUNES CAUSANTES DE MASTITIS	24
TABLA N° 9 TIPOS DE CÉLULAS NORMALES EN LA LECHE.....	26
TABLA N° 10 ESTIMACIÓN DEL CAMBIO EN LA PRODUCCIÓN DE LECHE ASOCIADA CON EL INCREMENTO DE LA CALIFICACIÓN DE CÉLULAS SOMÁTICAS	27
TABLA N° 11 RELACIÓN DE GRADO DE CMT CON NÚMERO DE CÉLULAS POR ML Y SU INTERPRETACIÓN.....	28
GRÁFICO N° 1 RELACIÓN DE PRODUCCIÓN LÁCTEA CON NÚMERO DE DÍAS DE LACTANCIA	30
GRÁFICO N° 2 PLACA PETRIFILM.....	32
TABLA N°12 RESULTADOS DE CCS Y UFC POR VACA – TRATAMIENTO DEL PRIMER BLOQUE (0-120 DÍAS)	44
GRÁFICO N° 3 CORRELACIÓN ENTRE CCS Y UFC DEL BLOQUE N° 1	45
TABLA N° 13 RESULTADOS DE CCS Y UFC POR VACA – TRATAMIENTO DEL SEGUNDO BLOQUE (121-200 DÍAS).....	46
GRÁFICO N° 4 CORRELACIÓN ENTRE CCS Y UFC DEL BLOQUE N° 2	47

TABLA N° 14 RESULTADOS DE CCS Y UFC POR VACA – TRATAMIENTO DEL TERCER BLOQUE (201-270 DÍAS)	48
GRÁFICO N° 5 CORRELACIÓN ENTRE CCS Y UFC DEL BLOQUE N° 3	49
TABLA N° 15 PROMEDIOS DE CCS POR TRATAMIENTOS Y BLOQUES	50
TABLA N° 16 ANÁLISIS DE VARIANZA POR CÉLULAS SOMÁTICAS	50
TABLA N° 17 PRUEBA DE DUNCAN CÉLULAS SOMÁTICAS POR TRATAMIENTOS	51
TABLA N° 18 PRUEBA DE DUNCAN CÉLULAS SOMÁTICAS POR BLOQUES	
TABLA N° 19 PROMEDIOS DE UFC POR TRATAMIENTOS Y BLOQUES	52
TABLA N° 20 ANÁLISIS DE VARIANZA POR UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS	53
TABLA N° 21 PRUEBA DE DUNCAN CÉLULAS SOMÁTICAS POR TRATAMIENTOS	54
TABLA N° 22 PRUEBA DE DUNCAN UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR BLOQUES	54
TABLA N° 23 PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BLOQUE N° 1 ...	55
TABLA N° 24 PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BLOQUE N° 2 ...	55
TABLA N° 25 PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BLOQUE N° 3 ...	56
TABLA N° 27 GANANCIA TOTAL DIARIO-MENSUAL-ANUAL POR REALIZACIÓN DEL FLAMEADO	50
TABLA N° 27 COSTOS DEL USO DE LA TÉCNICA DEL FLAMEADO	58
ANEXO N° 1 REGISTRO INDIVIDUAL	67
ANEXO N° 2 ANALISIS VETELAB	681
ANEXO N° 3 ANÁLISIS VETELAB 2	62
ANEXO N° 4 ANALISIS GROCALIDAD	63
ANEXO N° 5 PREPARACIÓN MATERIAL PARA FLAMEADO 2	68
ANEXO N° 6 FLAMEADO DE UBRE 1	69
ANEXO N° 7 FLAMEADO DE UBRE 2	69
ANEXO N° 8 TOMA DE MUESTRA 1	70
ANEXO N° 9 TOMA DE MUESTRA 2	70
ANEXO N° 10 ETIQUETADO DE MUESTRAS	71
ANEXO N° 11 ENVÍO DE MUESTRAS	71
ANEXO N° 12 PLACA PETRIFILM MESÓFILOS	72
ANEXO N° 13 PLACA PETRIFILM COLIFORMES	72
ANEXO N° 14 VISITA A LA HACIENDA	73
ANEXO N° 15 LABORATORIO CALIDAD DE LECHE – AGROCALIDAD 1 ..	73
ANEXO N° 16 COLOCACIÓN DE MUESTRAS EN FRASCOS ESPECIALES ..	74
ANEXO N° 17 CALENTAMIENTO BAÑO MARÍA DE LAS MUESTRAS	74
ANEXO N° 18 FOSSOMATIC ANALIZANDO MUESTRAS DE LECHE	75

RESUMEN

El presente trabajo evalúa el uso del flameado de ubre en la población de mesófilos aerobios, *E.coli*, Coliformes y Mastitis Subclínica en leche cruda de bovino, en la Hacienda San Agustín ubicada en el la ciudad de Lasso, provincia de Cotopaxi, con el propósito de determinar si el uso de esta técnica muy poco difundida en nuestro país contribuye a mejorar la calidad de la leche producida y por ende de su pago por parte de las industrias acopiadoras.

Los objetivos de la presente investigación pretenden determinar la respuesta de las poblaciones de mesófilos aerobios y coliformes en la leche cruda posterior a la realización de la técnica de flameado, además de analizar la relación existente entre la población bacteriana y el número de células somáticas presentes. Además de realizar un análisis económico de las ventajas de la técnica debido a la contribución económica que se genera por parte de las empresas receptoras que analizando estos parámetros determinan calidad de leche y por ende una remuneración por esta calificación.

Los resultados obtenidos permitieron evidenciar que el uso de esta técnica provoca una disminución de la población mesófilos, coliformes y de células somáticas en las muestras de leche, la correlación entre las UFC bacterianas y el número de células somáticas por ml son cerca de 1, siendo directamente proporcional.

La curva de población de mesófilos y coliformes así como de células somáticas disminuye con cada tratamiento determinando que la respuesta siempre da resultados de descenso.

ABSTRACT

The present research evaluates the use of the udder flamed in the population of aerobic mesophyll, E.coli, Coliforms and Subclinical Mastitis in raw milk of cattle, in the Hacienda San Austin located Lasso parish, Cotopaxi province, this work has the purpose of determining if the use of this technique very little spread in our country contributes to improve the quality of the milk produced and therefore your payment by collection industries.

The objectives of this research are intended to determine the response of populations of aerobic mesophyll and coliform bacteria in raw milk back to the carrying out of the technique of flamed, as well as analyzing the relationship between the bacterial population and the number of somatic cells present. In addition to conducting an economic analysis of the advantages of this technique due to the economic contribution generated by recipient companies that studying these parameters determine quality of milk and therefore a payment for this qualification.

The results obtained allowed to show that the use of this technique causes decrease of the population mesophyll, coliforms and somatic cell count in milk samples, the correlation between the bacterial CFU and the number of somatic cells per ml are about 1.

The curve of population of mesophyll and coliforms and somatic cell decreases with each treatment by determining the response always gives results of descent.

INTRODUCCIÓN

En nuestro país la industria lechera es una de las actividades económicas más importantes, tanto a gran escala como por parte de pequeños productores. La calidad de la leche es ahora uno de los objetivos primordiales a alcanzar por los recintos ganaderos. El Gobierno Nacional del Ecuador ha expedido un reglamento para normar el pago por calidad de leche, dentro de los diferentes artículos se plantea el precio mínimo de sustentación pagado en finca al productor de leche es de \$ 0,3575 por litro de mil gramos. Los premios por calidad de leche se establecen de acuerdo a los parámetros técnicos determinados por la Norma INEN No 009, en ellos el número de mesófilos aerobios, la presencia de coliformes así como el número de células somáticas determinan el monto a pagar, siendo esta una necesidad imperiosa por parte del productor a mejorar la calidad de la leche producida.

Existen diversos métodos para evitar la contaminación de la leche por parte del manejo de los mismos animales así como de los operarios a través de buenas prácticas en el ordeño. El uso de un método efectivo, rápido y de bajo costo es una necesidad imperiosa por parte del productor. La técnica del flameado de ubre es un método no difundido en nuestro país pero que ha sido y es usado en países como Estados Unidos y de Europa, dando muy buenos resultados en la calidad final de la leche y en mejorar las prácticas de ordeño

El trabajo a realizarse pretende evaluar el uso del flameado de ubre dentro del proceso de preparación previa al ordeño mecánico con el objetivo de disminuir la carga bacteriana en la leche cruda obtenida así como la presencia de un elevado conteo de células somáticas, consecuencia de mastitis subclínicas que pasan inadvertidas. Recalcando como estos parámetros influyen directamente sobre la calidad de la leche, repercutiendo a su vez en el pago final por litro de leche ya que en nuestro país se extiende una bonificación por sanidad.

CAPÍTULO I

Revisión de Literatura

1.1 La Empresa Láctea en el Ecuador

El Ecuador es uno de los países con mayor incremento en la producción de leche de ganado vacuno en la última década. (Pastor, 2007)

Según Pastor, 2000 “De acuerdo con la tendencia del mercado mundial la producción ecuatoriana ha mostrado una propensión al alza, tanto en litros de leche producidos en cada unidad agropecuaria como en tecnificación de procesos y producción de derivados.”

En nuestro país la industria lechera es una de las actividades económicas más importantes, se señala que la producción nacional de la leche se ha concentrado en la Región Interandina donde se ubican los mayores hatos lecheros, donde el 73% de la producción nacional de la leche se realiza en la Sierra, 19% en la Costa y un 8% en el Oriente. (AGSO 2008)

Las principales provincias que producen leche son: Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo y Manabí, y se caracterizan por una mayor especialización en producción lechera y por disponer de los mejores hatos, con una base genética de alto nivel. (AGSO, 2008)

**TABLA N° 1 PRODUCCIÓN ANUAL DEL LECHE POR REGIONES
EN MILES DE LITROS**

PRODUCCIÓN				
AÑO	NACIONAL BRUTA	SIERRA	COSTA	ORIENTE E INSULAR
2000	1286625	939236	244459	102930
2001	1343237	980563	255215	107459
2002	1378162	1006058	261851	110253
2003	1519759	1116724	290654	112381
2004	2536990	1822003	482028	202959
2005	2575167	1879872	289282	206013
2006	3110000	2270300	590900	248800
2007	3870000	2825100	735300	309600
2008	4180000	3051400	794200	334400
PROPORCIÓN PORCENTUAL PROMEDIO	100%	73%	19%	8%

Fuente: AGSO 2008

1.1.1 Destino de la producción de leche en Ecuador

De acuerdo a los datos proporcionados por (AGSO, 2007), de la producción diaria total la mayor parte es usada para procesamiento como muestra la siguiente tabla. Según la (AGSO, 2007), en el Ecuador existen más de 37 industrias legalmente constituidas y cuyos productos finales cuentan con procesos de pasteurización y los respectivos registros sanitarios. Estos a su vez son determinados por las Normas Técnicas para leche cruda dadas por el Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN.

TABLA N° 2 DISTRIBUCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE EN EL ECUADOR

SEGMENTO	LITROS/DÍA	PORCENTAJE (%)
Fincas y Alimentación	880000	22
Leche Cruda	1400000	35
Industrias	1720000	43
Total Producción Día	4000000	100

Fuente: Dirección de Proyectos AGSO 2008

1.1.2. Precio de la leche

El incremento en el consumo interno ha llevado a un aumento del precio de litro pero este está determinado principalmente por volumen, calidad, accesibilidad a la finca y distancia. El Gobierno a través del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca ha establecido el acuerdo interministerial N° 049 en cuanto al precio de pago al productor lechero según la siguiente tabla, la cual sustenta los costos de producción necesarios para alcanzar cada uno de los niveles de calidad.(MAGAP, 2008).

El artículo II del mismo acuerdo detalla una “Premio por calidad”, en la cual determina que las empresas procesadoras de lácteos deberán pagar por calidad de leche, este será de acuerdo a los parámetros técnicos determinados por la Norma INEN N° 009.

**TABLA N° 3 PAGO DE LECHE POR CONTEO DE BACTERIAS Y
CÉLULAS SOMÁTICAS**

CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS)											
	X100	<100	100-150	151-200	201-300	301-400	401-600	601-800	801-1000	1001-2000	>2000
Conteo	<30	0.060 0	0.055 0	0.050 0	0.045 0	0.040 0	0.035 0	0.030 0	0.025 0	0.020 0	0.010 0
Bacterias Total (CUT)	31-60	0.055 0	0.050 0	0.045 0	0.040 0	0.035 0	0.030 0	0.025 0	0.020 0	0.015 0	0.005 0
	61-100	0.050 0	0.045 0	0.040 0	0.035 0	0.030 0	0.025 0	0.020 0	0.015 0	0.010 0	0.000 0
	101-200	0.045 0	0.040 0	0.035 0	0.030 0	0.025 0	0.020 0	0.015 0	0.010 0	0.005 0	0.005 0
	201-300	0.040 0	0.035 0	0.030 0	0.025 0	0.020 0	0.015 0	0.010 0	0.005 0	0.000 0	- 0.010 0
	301-400	0.035 0	0.030 0	0.025 0	0.020 0	0.015 0	0.010 0	0.005 0	0.000 0	0.005 0	- 0.015 0
	401-500	0.030 0	0.025 0	0.020 0	0.015 0	0.010 0	0.005 0	0.000 0	- 0.050 0	- 0.010 0	- 0.020 0
	501-750	0.025 0	0.020 0	0.015 0	0.010 0	0.005 0	0.000 0	- 0.005 0	- 0.010 0	- 0.015 0	- 0.025 0
	751-1000	0.020 0	0.015 0	0.010 0	0.005 0	0.000 0	- 0.005 0	- 0.010 0	- 0.015 0	- 0.020 0	- 0.030 0
	>1000	0.010 0	0.005 0	0.000 0	- 0.005 0	- 0.010 0	- 0.015 0	- 0.020 0	- 0.025 0	- 0.025 0	- 0.040 0

Fuente:Acuerdo Ministerial N° 049, MAGAP, 2008

1.1.3. Calidad de la leche

La calidad de la leche es ahora uno de los objetivos primordiales a alcanzar por los recintos ganaderos ya que las empresas receptoras exigen que se cumplan los requisitos de la norma técnica ecuatoriana sobre la leche (NTE INEN 9:2008). Los industriales lácteos, deberán reconocer por calidad un premio al productor lechero, basados en la norma INEN 009, es decir premiar una leche de mejor calidad por cuanto el ganadero necesita efectuar controles específicos de producción sobre sanidad y salubridad del ganado y en proceso de extracción de leche.

1.2 Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 9:2008)

El Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) contribuye a garantizar el cumplimiento de los derechos ciudadanos relacionados con la seguridad, la protección de la vida y la salud humana, promoviendo la cultura de calidad y el mejoramiento de la competitividad en la sociedad ecuatoriana. Dentro de la calidad alimentaria, el INEN ha establecido Normas Técnicas para leche y productos lácteos, la NTE INEN 9:2008 es específica para leche cruda.

La leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando:

- Es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.
- Contiene sustancias extrañas, ajenas a la naturaleza del producto como: conservantes (formaldehído, peróxido de hidrógeno, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio, lactoperoxidasa adicionada), adulterantes (harinas,

almidones, sacarasa, cloruros, suero de leche, grasa vegetal), neutralizantes, colorantes y antibióticos.

- Contiene calostro, sangre o ha sido obtenida en el período comprendido entre los 12 días anteriores y 7 días posteriores al parto.
- Contiene gérmenes patógenos o un contaje microbiano superior al máximo permitido por la presente norma, toxinas microbianas o residuos de pesticidas, medicamentos veterinarios y metales pesados en cantidades superiores al máximo permitido.
- La leche cruda después del ordeño debe ser filtrada y enfriada, a una temperatura inferior a 10°C con agitación constante.

(Norma Técnica, INEN, 2008)

También se dispone clasificar la leche en categorías de acuerdo al recuento de UFC/cm³ de microorganismos mesófilos y tiempo de Reducción de Azul de Metileno de acuerdo a la NTE INEN 1529-5 y NTE INEN 18.

TABLA N°4 CATEGORIZACIÓN DE LA LECHE POR TRAM Y CONTENIDO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS

Categoría	Tiempo de Reducción del Azul de Metileno (TRAM) NTE INEN 18	Contenido de microorganismos aerobios mesófilos REP UFC/cm³ NTE INEN 1529-5
A (buena)	Más de 5 horas*	Hasta 5 x 10 ⁵
B (regular)	De 2 a 5 horas	Desde 5 x 10 ⁵ , hasta 1,5 x 10 ⁶
C (mala) ¹⁾	De 30 minutos a 2 horas	Desde 1,5 x 10 ⁶ , hasta 5 x 10 ⁶
D (muy mala) ¹⁾	Menos de 30 minutos	Más de 5 x 10 ⁶
* Puede deberse a la presencia de conservantes por lo que se recomienda su identificación según la NTE INEN 1500.		
¹⁾ La leche de categoría C y D no se acepta para ser procesada		

Fuente: Norma Técnica Ecuatoriana 9:2008 “Leche Cruda, Requisitos”, 2008

1.3 Leche cruda

La secreción láctea de las glándulas mamarias de los mamíferos es un líquido de composición compleja, de color blanquecino y opaco, con un pH cercano al neutro y de sabor dulce. Su propósito natural es la alimentación de la cría durante sus primeros meses de vida. Desde un punto de vista legal la leche de vaca puede definirse de la siguiente manera: es el producto de la secreción normal de las glándulas mamarias, obtenida a partir del ordeño íntegro e higiénico de vacas sanas, sin adición ni sustracción alguna, exento de calostro y libre de materias extrañas a su naturaleza, destinado al consumo en su forma natural a elaboración ulterior y que cumpla con las características físicas, microbiológicas e higiénicas establecidas. (Laibow, 2002)

La composición de la leche varía considerablemente con la raza de la vaca, el estado de lactancia, alimento, época del año y muchos otros factores. Aun así, algunas de las relaciones entre los componentes son muy estables y pueden ser utilizados para indicar si ha ocurrido alguna adulteración en la composición de la leche. (FAO, 2008)

**TABLA N° 5 COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE DIFERENTES ESPECIES
(POR CADA 100 GRAMOS)**

Nutriente	Vaca	Búfalo	Humano
Agua, g	88,0	84,0	87,5
Energía, kcal	61,0	97,0	70,0
Proteína, gr.	3,2	3,7	1,0
Grasa, gr.	3,4	6,9	4,4
Lactosa, gr.	4,7	5,2	6,9
Minerales, gr.	0,72	0,79	0,20

Fuente: Agrobít, 2004

TABLA N° 6 CONCENTRACIONES MINERALES Y VITAMÍNICAS EN LA LECHE (MG/100ML)

MINERALES	mg/100 ml	VITAMINAS	ug/100 ml ¹
Potasio	138	Vit. A	30,0
Calcio	125	Vit. D	0,06
Cloro	103	Vit. E	88,0
Fósfor	96	Vit. K	17,0
Sodio	8	Vit. B1	37,0
Azufre	3	Vit. B2	180,0
Magnesio	12	Vit. B6	46,0
Minerales trazas ²	<0,1	Vit. B12	0,42
		Vit. C	1,7

Fuente: Agrobit, 2004

1.4 Microbiología de la leche

La leche es un alimento muy susceptible a sufrir cambios. Su composición resulta especialmente apta para el desarrollo microorganismos, por lo que es importante tener un conocimiento básico de la microbiología de la leche cuando se planea introducir alguna mejora en su procesamiento. Por su alto contenido de humedad, su abundante suministro de nutrientes combinados con un grado de acidez neutral (pH de 6,7) y su temperatura, la leche cruda es un medio propicio para la proliferación de microorganismos, incluyendo los que causan intoxicación alimentaria y los que producen cambios enzimáticos como aquellos que provocan la rancidez de la grasa de la leche. Es importante tener presente que la importancia de la calidad microbiana de la leche, debe ser vista bajo tres aspectos fundamentales: sanitarios, ya que puede resultar en un vehículo de transmisión de enfermedades zoonóticas, tecnológico y

económico. Si se pretende obtener leche de buena calidad microbiológica, la atención debe centrarse en los procesos de producción y a mantener las vacas con una adecuada sanidad, muy especialmente en lo que a mastitis se refiere.(Tetra Pack 2006).

1.4.1. Microorganismos de interés tecnológico en lechería.

1.4.1.1. Bacterias lácticas

Son un grupo de bacterias de diferentes géneros, ampliamente distribuidas en la naturaleza. Son formadoras de textura y ayudan al establecimiento de las condiciones para la elaboración de ciertos productos lácteos. Por efecto de la acidez producida por la fermentación de la lactosa, la leche puede llegar a coagular gracias a la coalescencia de las caseínas al alcanzarse el pH iso-eléctrico, lo cual es deseable en la elaboración de yogurt y quesos. En la elaboración de crema y mantequilla una ligera acidificación permite acelerar el proceso y aumentar el rendimiento. Algunas especies producen polisacáridos (gomas, mucina), que aumentan la viscosidad de la leche cambiando su textura (*S. thermophilus*, *Lb. bulgacricus*, *Lc. cremoris*). Aportan sabor y aroma, ya que como parte de su metabolismo fermentativo producen acetaldehído, diacetilo, acetoina, acetona, lactonas, ácidos volátiles, alcohol y gas. El diacetilo es el principal responsable del aroma de la mantequilla. La acetoina lo es en el yogurt, mientras que el ácido láctico aporta sabor a diversos productos fermentados. (García, 2005)

1.4.1.2. Micrococcus

Débilmente fermentadores, forman parte de la flora inocua que contamina la leche cruda. Tienen poca actividad enzimática, por lo tanto son de muy poca importancia como agentes de adulteración en la leche. Sin embargo por ser la flora más abundante

en leche cruda y tener cierta capacidad proteolítica pueden llegar a ser causante de alteraciones en leches pasteurizadas mal almacenadas.(Murray, 2001)

1.4.1.3.Estafilococos

Son anaerobios facultativos, fuertemente fermentadores. Son de gran importancia desde el punto de vista sanitario. Causan mastitis y pueden provocar enfermedades o intoxicaciones en los humanos. *Staphilococusaureus* produce una exotoxina que causa fuertes trastornos intestinales en los humanos, la cual es termoresistente, por lo cual no es destruida con la pasteurización. El *Staphilococcusepidermidis* se ve implicado en algunos casos de mastitis, por lo cual puede llegar a contaminar la leche. (Castañeda, 2003)

1.5 Contaminación de la leche

Según Böhm, 2001 “Una vez que la leche ha atravesado el canal del pezón tiene un determinado número de bacterias. Es importante diferenciar y conocer el contenido de bacterias antes y después de la secreción.”

Los diferentes microorganismos alcanzan la leche por dos vías principales: la vía mamaria y el medio externo:

- Mamaria: los microorganismos que pueden alcanzar la ubre, igualmente pueden llegar a contaminar la leche antes o después del ordeño. Estos microorganismos pueden alcanzar la leche por vía mamaria ascendente o mamaria descendente. Por vía ascendente lo hacen bacterias que se adhieren a la piel de la ubre y posterior al ordeño entran a través del esfínter del pezón (*Staphilococusaureus*, *Streptococcus*, Coliformes). La vía descendente o hematogena la utilizan los microorganismos que pueden causar enfermedad

sistémica o tienen la propiedad de movilizarse por lasangre y a través de los capilares mamaros llegar a infectar la ubre (Salmonellas, Brucellas, Mycobacterium tuberculosos)

- Medio externo: la contaminación de la leche puede ocurrir una vez que esta ha sido extraída de la glándula mamaria. Los utensilios, tanques de almacenamiento, transportes e incluso el personal que manipula la leche, son fuentes de contaminación de microorganismos que utilizan esta vía, que en algunos casos son las más abundantes, causantes de grandes pérdidas en la calidad del producto (Pinzón, 2004).

1.5.1 Recuento de microorganismos mesófilos

Los microorganismos mesófilos aerobios son el grupo más grande de indicadores de calidad de los alimentos. Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer en un rango de temperatura entre 15 – 45 °C, con óptimo de 35°C, siendo la mínima de 15 a 20 °C. Casi todos los agentes patógenos humanos son mesófilos, como es de esperar, pues la temperatura corporal humana es, casi constante, de 37°C. En productos terminados son empleados como indicadores de vida útil. El número de microorganismos aerobios mesófilos encontrados en un alimento ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad más comúnmente utilizado. Esta determinación permite obtener información sobre alteración incipiente de los alimentos, su probable vida útil, la descongelación incontrolada o los fallos en el mantenimiento de temperaturas de refrigeración. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. (Prescott, 2008)

1.5.2 Recuento de microorganismos coliformes

Este grupo de microorganismos comprende varios géneros de la familia Enterobacteriaceae, capaces de fermentar lácteos, están ampliamente difundidos en la naturaleza, agua y suelo. También son habitantes normales del tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente. Las bacterias coliformes son capaces de fermentar la lactosa a 35°C con producción de gas. Dentro de los coliformes totales se pueden distinguir dos tipos, por un lado están los coliformes fecales (CF), que proviene del tracto intestinal de animales de sangre caliente y que serían los mejores indicadores de riesgo de afecciones humanas, y por otro lado existe otro grupo de coliformes que son residentes naturales de suelo y agua. Las principales bacterias coliformes son *Escherichiacoli* y *Enterobacteraerogenes*. La primera se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales, su presencia en alimentos representa mala calidad higiénica en el proceso. (Nuñez, 2001)

Según Cotrino, 2003, estos organismos están presentes en la materia fecal, aunque también pueden encontrarse en el ambiente. Pueden llegar a la leche a partir de ubres sucias o cuando caen las pezoneras sobre el estiércol durante el ordeño.

TABLA N° 7 VALORES REFERENCIALES EN ANÁLISIS DE LECHE DE CALIDAD INSTITUTO BABCOCK 2002

ANÁLISIS		VALOR REFERENCIA			VALOR ENCONTRADO
I	Recuento de células somáticas (RCS)(*)	200.000			
II	Unidades formadoras de colonias UFC (*)	Menor a 10.000 UF/ml			
III	Recuento de pasterización en laboratorio (RPL)	200 a 300 UF/ml			
IV	Recuento de coliformes	Menor de 100 UF/ml			
V	Cultivos bacteriológicos en leche de tanque. Niveles de UF/ml para las distintas bacterias mastitógenas.				
	Tipo bacteria	Nivel bajo*	Moderado*	Alto*	Muy alto*
	<i>Str. agalactiae</i>	0 a 1	1 a 200	200 a 400	> a 400
	<i>Staph. aureus</i>	< a 50	50 a 150	150 a 250	> a 250
	<i>Str. spp.</i>	500 a 700	700 a 1.200	1.200 a 2.000	> a 2000
	<i>Staph. spp.</i>	< a 300	300 a 500	500 a 750	> a 750
	Coliformes	< a 100	100 a 400	400 a 700	> a 700

Fuente: Laboratorio de Salud Animal de Wisconsin.

1.6 Mastitis subclínica

Según (Pinzón, 2006) la mastitis subclínica no es fácilmente visible ni se puede detectar sin ayuda de pruebas especiales. Casi todos los cuartos afectados se ven normales y la leche tiene apariencia normal; pero según (Avila y Gutiérrez, 2004) existe una disminución en la producción de leche e incremento en el número de células somáticas. La mastitis subclínica se caracteriza por no generar cambios aparentes en la leche y carecer de signos apreciables de inflamación de la glándula mamaria, pero cursa con disminución de la producción láctea al igual que la mastitis clínica.

Según Gianechinni, 2002, “las bacterias asociadas con mastitis subclínica han sido estudiadas por muchos años, ejemplo de ello se tienen a los *Staphylococcus coagulans* negativo (SCN), *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus*. Estos microorganismos aprovechan situaciones favorables para penetrar a través de la roseta de Fürstenberg del pezón, atravesando el ducto del mismo, multiplicándose y colonizando la glándula mamaria y producir mastitis”.

Un momento importante de la vaca a tomar en cuenta cuando se habla de mastitis subclínica es el período seco o etapa no lactante, ya que es una fase de reposo entre lactancias que permite la regeneración del tejido mamario para favorecer el reinicio de la lactancia a su más alto nivel. La identificación del período seco como un punto crítico de control para la próxima lactancia significa, que las vacas estarán libres de nuevas mastitis y preparadas para una lactancia exitosa. El inicio y el final del período seco son susceptibles a adquirir nuevas infecciones intramamarias, los cuales están relacionados a disminución láctea en la próxima lactancia e incluso terminar en episodios clínicos de mastitis después del parto. Por ello es importante realizar prácticas de prevención de la mastitis al inicio del período seco mediante el sellado de los pezones, eliminación de casos crónicos del rebaño, antibioterapia intramamaria para vaca seca y privación estratégica de alimento y agua. (Schroeder, 2007).

Una glándula mamaria normal presenta conteos celulares inferiores a 200 000 células somáticas/ml de leche (Radostits et al., 2007)

1.61. Patógenos causantes de mastitis

Según (Kirk, 2004), los gérmenes más importantes de la inflamación de la ubre son los estreptococos, los estafilococos, los coliformes, *Corynebacterium pyogenes*, las pseudomonas y levaduras.

TABLA N° 8 PATÓGENOS MÁS COMUNES CAUSANTES 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> [†]	5 - 10%	Cama, materia fecal	Medio ambiente de la vaca
Coliformes ²	<1%	Materia fecal	Medio ambiente de la vaca

Fuente: Tecnología de la Leche, Dr. Gerónimo Heer, 2007

1.6.1.1. Coliformes

La incidencia de la infección es, generalmente poca, aunque pueden ocurrir brotes cuando existen condiciones que aumentan la exposición a las mismas. Los coliformes provienen del estiércol. Las bacterias coliformes son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Los coliformes pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. Estos microorganismos no se adhieren a los conductos y al alvéolo de la ubre, en lugar se multiplican rápidamente en la leche

y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio; produciendo infecciones que conducen a mastitis clínicas agudas. (Avila y Gutiérrez 2004).

1.6.1.2 *Escherichiacoli*

Se encuentra en cantidades abundantes en el estiércol de los animales. La frecuencia de presentación aumenta al inicio de la lactación y disminuye conforme ésta avanza. Los signos clínicos antes discutidos generalmente dan la información suficiente para hacer un diagnóstico preliminar, pero en ciertos casos clínicos será necesario diferenciar con infecciones causadas por microorganismos Gram positivos, mediante el cultivo bacteriológico de una muestra de leche (Avila y Gutiérrez 2004).

En la mastitis sobreaguda causada por *Escherichiacoli*, la toxemia puede matar a una vaca en 3 días, si no se da un tratamiento a tiempo, han dado resultado los tratamientos a base de sulfatrimetoprim y las quinolonas con el tratamiento sintomático según los signos (Pinzón, 2006).

1.7 Células Somáticas

Las células somáticas están constituidas por una asociación de leucocitos y células epiteliales. Los leucocitos se introducen en la leche en respuesta a la inflamación que puede aparecer debido a una enfermedad o, a veces, a una lesión. Las células epiteliales se desprenden del revestimiento del tejido de la ubre. Se denomina a las células de la leche, a aquellas células propias del cuerpo (somáticas) en la leche. Estas provienen de la sangre y del tejido de la glándula mamaria. El contenido de células somáticas en la leche nos permite conocer datos claves sobre la función y el estado de salud de la glándula mamaria lactante y debido a su cercana relación con la composición de la leche un criterio muy importante de calidad de la leche. Están constituidas por una asociación de leucocitos polimorfonucleados (85%) y células epiteliales (15%). De la fracción de leucocitos un 30% corresponde a macrófagos, 30% neutrófilos y 25% linfocitos. Los leucocitos se adhieren a la leche en respuesta a

la inflamación que puede aparecer debido a una enfermedad o a una lesión aumentando su número. Así, en la mastitis infecciosa aguda la proporción de leucocitos polimorfonucleados puede llegar hasta un 90% (Giannechini, et al 2002)

Un incremento del número de estas células dentro del alveolo, es un indicador de respuesta a la infección. La leche de una glándula mamaria sana presenta valores de células somáticas por debajo de las 200,000 células/mL. En las enfermedades inflamatorias de la ubre el contenido puede llegar hasta 50 millones células/mL(Martínez, 2003)

TABLAN° 9 TIPOS DE CÉLULAS NORMALES EN LA LECHE

Tipo	Porcentaje
Macrófagos	60%
Linfocitos	25%
Neutrófilos	25%

Fuente: Philpot, 2001; Wolter et al., 2004.

1.8 Conteo de Células Somáticas

Efectuar conteos celulares somáticos es un procedimiento común, sobretodo en la industria láctea para medir la calidad de la leche, se utiliza como indicador de las infecciones. Cuando el conteo de células somáticas (CCS) resulta elevado, ya sea de una vaca o del tanque enfriador, indica que hay un problema de mastitis. El recuento de células somáticas, es el número de células existentes enleche. Se utiliza como indicador de la infección de la glándula mamaria. La infección intramamaria es el principal factor causante de cambios en el CCS en la leche. Cuando los microorganismos causantes de mastitis invaden un cuarto de la ubre y empiezan a multiplicarse o cuando el número de estos aumenta significativamente en un cuarto infectado, el organismo de la vaca tiene que reclutar leucocitos para combatir a

dichos microorganismos causantes de la mastitis. (MilkQuality, University of Wisconsin, 2006)

Las glándulas mamarias que nunca se han infectado normalmente tienen CCS de 20,000 a 50,000 células/ml. En grandes poblaciones de vacas, 80% de los animales no infectados tendrán un CCS menor de 200,000 células/ml y 50% menor de 100,000 células/ml. Una razón de las cuentas ligeramente elevadas en animales no infectados es que algunos cuartos tuvieron una infección previa de la cual no se han recuperado totalmente (Philpot, 2001).

TABLA N° 10 ESTIMACIÓN DEL CAMBIO EN LA PRODUCCIÓN DE LECHE ASOCIADA CON EL INCREMENTO DE LA CALIFICACIÓN DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Promedio De la lactancia CDCS	Promedio de CCS (1000/ml)	Disminución en la producción de leche libras /305 días (kgs en paréntesis)	
		1ª lactancia	2ª lactancia
0	12.5	---	---
1	25	---	---
2	50	---	---
3	100	200 (100)	400 (200)
4	200	400 (200)	800 (400)
5	400	600 (300)	1200 (600)
6	800	800 (400)	1600 (800)
7	1600	1000 (500)	2000 (1000)

Adaptado de datos de la Universidad de Wisconsin

Fuente: MilkQuality, Universidad de Wisconsin, 2006

1.8.1 Californian Mastitis Test (CMT)

El reactivo de la CMT contiene un detergente llamado Alquil-Aril-Sulfonato que reacciona con las células somáticas, rompe la membrana celular y la membrana del núcleo compuestas de fosfolípidos, dejando libre el DNA, mismo que se aglomera y da una apariencia viscosa. Una viscosidad muy notoria significa que existe una alta

cantidad de células somáticas en la leche lo que significa un mayor grado de inflamación en esa glándula (Radostits et al., 2007).

Para realizar la prueba se debe tomar una muestra de leche de cada cuarto en cada uno de los recipientes de la paleta de CMT. Una vez obtenida la muestra se agrega una cantidad igual de reactivo CMT a cada compartimento, la paleta se agita en movimientos circulares hasta mezclar totalmente el contenido, procurando no mezclar por más de 10 segundos, posteriormente se interpreta la prueba observando la reacción que tuvo la leche en cuanto a su viscosidad y color (Ávila, 2005).

La lectura de la prueba debe ser rápida debido a que la reacción desaparece a los 20 segundos, entre más gel se forme o más viscosa sea la leche, mayor será la calificación o grado de infección, ya que dicho grado está relacionado directamente con el número de células somáticas presentes en la leche. Según la viscosidad de gel que se forme al mezclar el reactivo en la muestra, la calificación puede ser dada como negativo, leche sin cambios; trazas ó sospechoso, leche con pequeños grumos; grado 1 (+), se observa una ligera formación viscosa inmediatamente después de agregar el reactivo; grado 2 (++) , cuando hay una formación viscosa inmediatamente después de agregar el reactivo y grado 3 (+++), cuando el líquido forma una masa, presenta una distintiva viscosidad y la mezcla se adhiere en el fondo de la paleta (Radostits, 2007).

TABLA N° 11 RELACIÓN DE GRADO DE CMT CON NÚMERO DE CÉLULAS POR ML Y SU INTERPRETACIÓN

Grado de CMT	Células/mL	Interpretación
N (Negativo)	0 – 200,000	Cuarto sano
T (Trazas)	150,000 – 500,000	Mastitis subclínica
1 (+)	400,000 – 1,500,000	Mastitis subclínica
2 (++)	800,000 – 5,000,000	Infección seria
3 (+++)	> 5,000,000	Infección seria

Tomado de Radostits *et al.*, 2007.

1.8.2 Contador Electrónico Fossomatic

El Fossomatic TM FC cuenta células somáticas sobre la base de reconocimiento de ADN de las células. Una mezcla de leche y solución de tinción rodeada por una envoltura de líquido pasa a través de una celda de flujo. En la celda de flujo, las células somáticas teñidas son expuestas a la luz de una longitud de onda específica. Entonces las células emiten pulsos de luz fluorescente en una longitud de onda diferente, los pulsos se cuentan y se muestran.

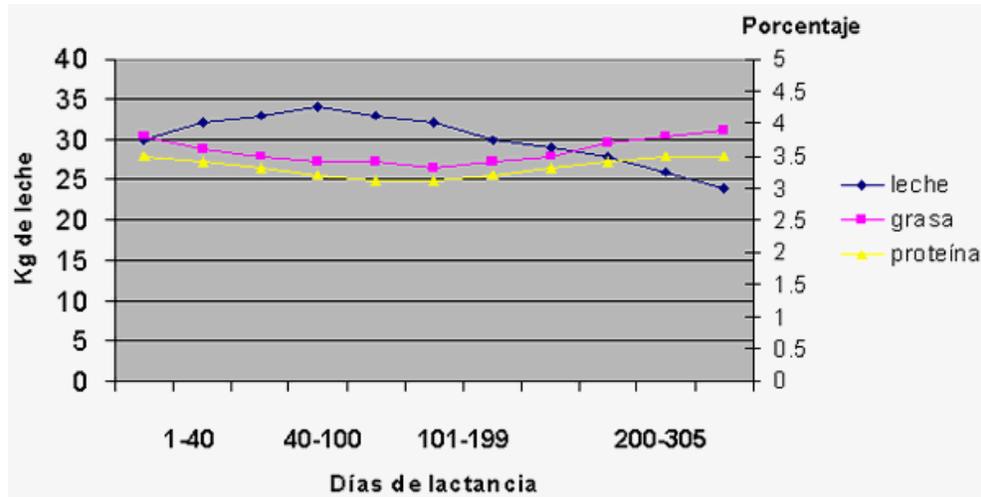
El diseño de la celda de flujo asegura que sólo se detecta una célula somática cada vez. Se puede obtener mayor precisión en los límites de clasificación utilizando la característica de configuración de precisión. El Fossomatic TM FC + se puede integrar con un MilkoScan FT + analizador multi-componente para formar un CombiFoss TM FT +, sin reducir la capacidad de muestreo y al mismo tiempo, mejorar la eficacia operativa compartiendo la plataforma de software FossIntegrator. (Milk Analytical Solutions FOSS, 2012)

1.9 Etapa de Lactancia

El curso de la lactancia, no solo afecta la producción de leche, sino también la composición. Normalmente, un aumento en el rendimiento de leche es seguido por una disminución en los porcentajes de grasa y proteína en leche mientras los rendimientos de estos componentes permanecen igual o en aumento. (Hoard'sdairyman, 2001).

Los cambios en los rendimientos productivos durante el ciclo de lactancia, influyen de manera inversa a la composición. Generalmente, en el primer tercio de la lactación y concomitante con el pico de lactancia, se registran las menores concentraciones de grasa, proteína y sólidos de la leche, situación que se invierte al final de la lactancia. Se exceptúan de este cuadro, las concentraciones de lactosa y potasio que disminuyen al final de la lactancia (Hurley, 2000)

GRÁFICO N°1 RELACIÓN DE PRODUCCIÓN LÁCTEA CON NÚMERO DE DÍAS DE LACTANCIA



Fuente: Comportamiento de la producción de leche, el porcentaje de grasa y proteína durante el ciclo de la lactancia. (Oldaham, 2001).

1.10 Flameado

La remoción del pelo de la ubre es un proceso vital para mejorar la higiene de la misma, reducir la cantidad de bacterias y hacer que la preparación de la ubre en la sala de ordeño sea más sencilla. La forma más rápida de realizar dicha tarea es flameando o chamuscando los pelos de la ubre en forma regular. Este proceso es sencillo y puede ahorrar tiempo al momento de preparar las ubres para el ordeño ya que las mismas se mantienen limpias. El color de la llama debe ser amarillo ya que esta se conoce como llama fría, la temperatura no llega a tal punto como para provocar quemaduras. Se recomienda seguir el siguiente proceso:

- Retire de la ubre todo material orgánico que pueda prenderse fuego durante el proceso.
- Pase la antorcha por debajo de la ubre alrededor de 2 a 4 veces.

- Limpie con la mano, preferiblemente si tiene un guante los restos de pelos quemados.

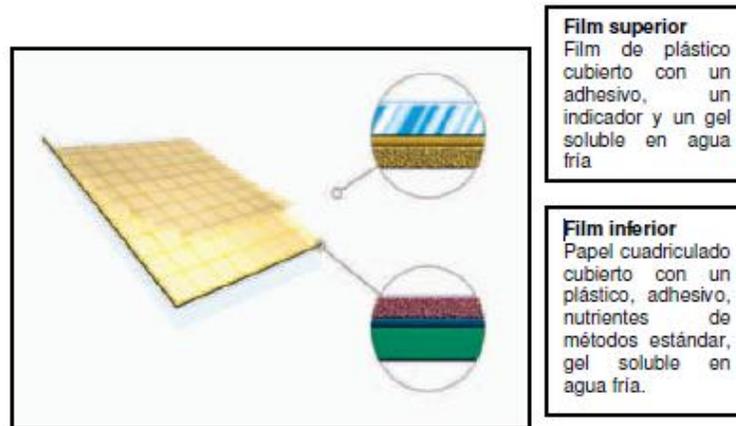
(Division of Cooperative Extension of the University of Wisconsin, 2007)

Las vacas se inquietan debido a que reciben un pequeño calor al que no están acostumbradas, pero que no es peligroso; no obstante, este procedimiento debe ser realizado por manos habilidosas para no dañar la ubre. Con esta práctica, se obtiene buena calidad de leche e higiene del animal. Es un procedimiento muy rápido, de acuerdo a las prácticas realizadas: una fila de 14 vacas se puede flamear en 8 a 10 minutos, y un litro de alcohol alcanza para quemar los pelos de la ubre y pezones de 500 vacas. Este proceso debe realizarse cada 15 días como mínimo, ya que los pelos del animal vuelven a crecer. Posteriormente, se hace el “presellado” y el secado, o sea, la operación normal de ordeño, pero en condiciones más higiénicas. Es un procedimiento muy importante que deben incorporar los productores y que también se puede realizar en vacas recién paridas. (Division of Cooperative Extension of the University of Wisconsin, 2007).

1.11 Placas Petrifilm

Método microbiológico que consiste en una familia de placas listas para usarse diseñadas para ofrecer ahorro de tiempo, incremento de productividad y eficiencia. Su diseño tiene una película rehidratable cubierta con nutrientes y agentes gelificantes. Proporciona resultados en tres pasos: inoculación, incubación y recuento. Las Placas Petrifilm están disponibles para la mayoría de las necesidades de pruebas microbiológicas incluyendo: recuento de aerobios, recuento de coliformes, recuento de *E. coli/ Coliformes*, recuento de Enterobacterias, etc. (Micronoticias, 3M Microbiología, 2006)

GRÁFICO N° 2 PLACA PETRIFILM



Fuente: 3M 2008

CAPÍTULO II

2 MATERIALES Y MÉTODOS

En el capítulo II se presenta una breve descripción del lugar donde se ejecutó la presente investigación, materiales métodos utilizados, condiciones geográficas y climáticas, los animales distribuidos en cada bloque y los pasos que se siguieron para realizar el experimento. Se detallan los materiales, y metodología utilizada; como también el diseño estadístico y experimental aplicado.

2.1. Características del área de experimento

El experimento se llevó a cabo en la Hacienda “San Agustín” propiedad del Ing. Pedro José Arteta, ubicada en el barrio Mancheno, ciudad de Lasso, parroquia Mulaló, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi. Con latitud: -0.4319s y longitud: 783739W. Con una precipitación de 1072 mm anual, humedad de 60-85% y una altitud 3250 msnm.

2.2 Recursos Humanos

2.2.1 Recursos humanos

- Tesista.
- Transporte.
- Alimentación.
- Colaboradores en la investigación.

Dra. Nahir Rugarte, Directora de Laboratorio de Leches de Agrocalidad.

2.2.2 Materiales de oficina

- Papelería y materiales
- Computadora
- Memoria USB
- Bolígrafos
- Libreta de apuntes
- Perforadora
- Grapadora
- Anillado
- Empastado
- Internet

2.2.3 Insumos

- 100 Placas Petrifilm para Aerobios 3M, placas rehidratables para cultivo de Mesófilos aerobios.
- 100 Placas Petrifilm para Coliformes y E. Coli3M, placas rehidratables para Coliformes/E. Coli
- JeringuillasCegaMed
- 100 Frascos plásticos para tomas de muestrasCegaMed
- 1 Caja de guantesSuper Max
- 1 frasco de alcoholal 70% MK
- 1 Caja de pañitos húmedos Jhonsons
- Overol
- Botas

2.2.4 Equipos

- a.** Incubadora : se utilizó una incubadora de la marca Memmert, con temperatura máxima de 50°C, presenta control integrado de humedad y control automatizado del tiempo.
- b.** Cámara de Flujo Laminar: se utilizó una Cámara de Flujo Laminar V-30/70, vertical con 2 filtros HEPA, 70% en impulsión y 30% en expulsión.
- c.** Laboratorio de leche: el laboratorio de Calidad de Leches de Agrocalidad cuenta con equipos de la línea Foss, como el MilksoScan, Fossomatic y BactoScan. Además de contar con un equipo para Baño María y un Purificador de Agua con tecnología desionizante.

2.3 Métodos y Técnicas

2.3.1. Métodos

- **Método deductivo.**- este método se usó al analizar los resultados obtenidos y compararlos con la hipótesis planteada
- **Método experimental.**-se utilizaron técnicas experimentales en las muestras realizadas a fin de analizar los resultados.

2.3.2. Metodología

Se usó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) con su explicación a través de un Análisis de Varianza, se realizaron correlaciones de Pearson para determinar el comportamiento entre la población de mesófilos aerobios y la cantidad de células somáticas y la Prueba de Duncan para analizar que tratamiento y bloque de estudio obtuvo mejor respuesta.

Esquema de Análisis de Varianza

Factores de Variabilidad	Grados de Libertad
Bloques	2
Tratamientos	4
ERROR EXP.	8
TOTAL	12

2.4. Unidades experimentales

Para la siguiente investigación se usaron 15 vacas de cruce Holstein-Friesian y Normando, entre 5 a 7 años y con un número de 3 a 5 partos.

Divididas en 3 bloques de 5 vacas, los bloques fueron divididos por período de lactancia teniendo:

Bloques por fase de lactancia

BLOQUE	FASE DE LACTANCIA	DÍAS
Bloque 1	1era Fase de Lactancia	(0-120 días)
Bloque 2	2da Fase de Lactancia	(121- 200 días)
Bloque 3	3era Fase de Lactancia	(201-270 días)

2.5 Tratamientos

- **Tratamiento 1:** Sin flameado.
- **Tratamiento 2:** Flameado dentro de la rutina de ordeño a intervalo de 1 semana.
- **Tratamiento 3:** Flameado dentro de la rutina de ordeño a intervalo de 2 semanas.
- **Tratamiento 4:** Flameado dentro de la rutina de ordeño a intervalo de 3 semanas.
- **Tratamiento 5:** Flameado dentro de la rutina de ordeño a intervalo de 4 semanas.

2.5. Variables evaluadas

2.6.1 Población de mesófilos aerobios

Se evaluó la población bacteriana de mesófilos aerobios en las muestras de leche que se tomaron durante la realización de los diferentes tratamientos, estas muestras fueron cultivadas en placas Petrifilm 3M para anaerobios. Se realizaron registros en donde se escribían los resultados de la cuenta de cada placa de cultivo.

2.6.2 Población de E.coli/Coliformes

Se evaluó la población bacteriana de E. coli /coliformes en las muestras de leche que se tomaron durante la realización de los diferentes tratamientos, estas muestras fueron

cultivadas en placas Petrifilm 3M para este grupo bacteriano. Se realizaron registros en donde se escribían los resultados de la cuenta de cada placa de cultivo.

2.6.3 Mastitis subclínica

Se evaluó el grado de mastitis subclínica, partiendo de un CMT y de la cuenta inicial con el tratamiento 1, sin flameado como testigo. Se envió a laboratorio las muestras de leche tomadas después de cada flameado al intervalo determinado en cada tratamiento a fin de identificar la cantidad de células somáticas por ml de leche.

2.6.4 Análisis Económico

Para el análisis económico se evaluó el beneficio de contar con una técnica de bajo costo y poca complejidad y la producción de leche con menor cantidad de bacterias y células somáticas que conlleva a la mejor paga por calidad de leche, mejorando así la remuneración por litro.

2.7 Manejo del ensayo

Se usaron 15 vacas mestizas, cruce de Holstein Friesian y Normando, distribuidas 5 en cada bloque de acuerdo a la etapa de lactancia. La técnica del flameado se realizó después de la rutina de ordeño, se realizó los tratamientos, usando la misma técnica de flameado en cada uno. Se tomaron muestras después de tratamiento.

- Primer tratamiento (sin flameado)
- Segundo tratamiento (Flameado – 1 semana)
- Tercer tratamiento (Flameado – 2 semanas)
- Cuarto tratamiento (Flameado – 3 semanas)
- Quinto tratamiento (Flameado – 4 semanas)

2.7.1 Rutina de ordeño

En la hacienda “San Agustín” se cuenta con un ordeño de la marca GEA Farm Technologies, modelo SwingOver Euro Class 800, 14 puestos espina de pescado. Opera con el sistema DairyManagementSystem 21.

La rutina a seguir en la hacienda es la siguiente:

- Al llegar el animal a la manga de ordeño, el ordeñante ingresa el número de este en el equipo de ordeño, de manera que el balanceado cae según la producción que tenga cada vaca.
- Se realiza el pre-sellado de los pezones con una solución a base de yodo, a razón de 0,5 ml por pezón. Esto ayuda a quitar cualquier suciedad del pezón y eliminar contaminación.
- Se procede a secar el producto con papel periódico y a realizar el despunte con dos chorros de leche para observar presencia de mastitis o sangre en leche así como para estimular la secreción de leche.
- Se colocan las pezoneras
- Al terminar de ordeñar se retiran las pezoneras y se sellan los pezones con la misma solución a base yodo, la misma cantidad de 0,5 ml por pezón.

2.7.2 Técnica del Flameado

El flameado consistió en usar un ansa embebida en alcohol isopropílico de uso farmacéutico, el ansa de metal tuvo un pedazo de tela el cual sirvió para obtener la flama, esta fue ser amarilla a fin de evitar altas temperaturas. Se calculó el uso de un promedio de 5 ml de alcohol por vaca. La longitud de la flama fue de 10-15 cm. Se flameó la ubre por espacio de 10 segundos, se estimó este tiempo ya que la llama se pasó entre 4 a 5 veces por la ubre. Posteriormente con la ayuda de un guante de tela se retiraron los pelos quemados y restos de materia orgánica. La técnica fue la misma en todos los tratamientos variando el intervalo a realizarse.

2.7.3 Toma de muestras

Se tomaron las muestras individuales luego de cada tratamiento, al siguiente ordeño. Se procedió a hacer el pre-sellado y el despunte con 2 chorros de cada cuarto, la manera de tomar las muestras de leche fueron consideradas a partir del manual de toma de muestras de *International Organization for Standardization* a través de la Norma ISO 8197:1998 Milk and milk product. Sampling Inspection by Variables. La técnica usada en la obtención de las muestras fue la siguiente, difiriendo para que análisis o cultivo fueron destinadas. Se usaron guantes de látex para la manipulación de los pezones:

- Se limpió la punta del pezón con toallas húmedas.
- Se extrajeron los primeros 2 chorros de cada pezón.
- La muestra fue tomada de todos los cuartos, realizando un pool de los mismos.
- La muestra se tomó en frascos estériles, evitando que suciedad o pelos caigan dentro de los mismos.
- Se etiquetaron cada frasco y fueron mantenidos en refrigeración hasta su cultivo respectivo y envió a laboratorio.

2.7.4 Conteo de Células Somáticas

- Se tomaron 75 muestras de 100 ml de cada cuarto en un recipiente estéril.
- Las muestras fueron etiquetadas con el número de cada animal y de que bloque pertenece.
- Se taparon y mantuvieron a 4 °C hasta su envió.
- Se llevaron en un cooler con geles congelados a fin de mantener la temperatura hasta el laboratorio de Agrocalidad en Tumbaco, Quito.
- Al llegar al laboratorio se comenzó con la preparación de los reactivos de los equipos MilkoFoss 5000 y a calibrarlos.

- Se dispuso a calentar las muestras a 40° en el baño maría en los frascos especiales para el estudio dotados por el laboratorio.
- Luego las muestras fueron colocadas en el equipo para su análisis.
- Los resultados fueron enviados vía correo.

2.7.5 Cultivo de Bacterias Mesófilos Aerobios

- Se tomaron 75 muestras en jeringuillas de cada muestra colectada en frascos.
- Las muestras se etiquetaron respectivamente manteniéndolas en frío a 4°C hasta ser llevadas al laboratorio.
- Las mismas se cultivaron en el Laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Se siguió el manual para cultivos en Placas Petrifilm para Mesófilos Aerobios con el uso de la estufa de incubación a 32°C +/- 1°C por 48 horas. Posteriormente se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC).

2.7.6 Cultivo de Coliformes/E. Coli en Placas Petrifilm

- Se tomaron 75 muestras en jeringuillas de cada muestra colectada en frascos.
- Las muestras se etiquetaron respectivamente manteniéndolas en frío a 4°C hasta su envío.
- Las mismas se cultivaron en el Laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Se siguió el manual para cultivos en Placas Petrifilm para Coliformes con el uso de la estufa de incubación a 32°C +/- 1°C por 24 +/- 2 horas.
- Posteriormente se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC).

2.7.7. Laboratorio

Los dos primeros análisis fueron realizados en el laboratorio Vetelab ubicado en la ciudad de Machachi los posteriores análisis se realizaron en el laboratorio de calidad de leches que forma parte de los Laboratorios de Agrocalidad ubicados en Tumbaco los cuales están a cargo de la Dra. Nahir Rugarte. Los resultados de igual forma fueron enviados vía correo.

En el laboratorio de Calidad de Leches se receptaron las muestras manteniéndolas en refrigeración hasta su análisis. Se comienza preparando los reactivos para el equipo Fossomatic, este procedimiento tarda entre una hora a hora y media depende si ciertos reactivos ya han caducado y deben ser reemplazados. Las muestras se colocan en tubos especiales sin preservante y etiquetadas correctamente, se calientan a 40°C a Baño María, posteriormente se las colocan en gradillas especiales. Se procede a colocar la gradilla en el equipo Fossomatic el cual automáticamente mueve las muestras hacia la pipeta de succión, homogenizándolas al mismo tiempo.

CAPÍTULO III

3. Resultados y discusión

En el presente capítulo se detallan los resultados obtenidos en la fase de experimentación.

3.1. Resultados obtenidos en cada flameado

Los bloques fueron divididos por etapas de lactancia.

-Bloque 1: 0-120 días

-Bloque 2: 121- 200 días

- Bloque 3: 201 – 270 días

Se evaluaron los resultados de las muestras de leche en conteo de células somáticas (CCS), unidades formadoras de colonias (UFC) para mesófilos aerobios y coliformes. Se aclara que en los cultivos de *E. coli* / Coliformes no se encontraron presencia de colonias por lo tanto esta variable no entra en los resultados. El manejo de las muestras evito su contaminación con heces fecales del medio ambiente, teniendo en cuenta que se quería evaluar su presencia dentro de la ubre y si estos podrían ser causantes de mastitis subclínica. Los resultados se explicarán por bloque para determinar las diferencias encontradas de acuerdo a las etapas de lactancia.

3.2 Resultados Bloque N° 1

Los resultados del Bloque N° 1 (0-120 días de lactancia) se resumen en la Tabla N° 12, tenemos los resultados en conteo de células somáticas (CCS) y unidades formadoras de colonias (UFC) para mesófilos aerobios. Se observa la dinámica con tendencia a la disminución con la realización de cada tratamiento. Los resultados del primer tratamiento al segundo tratamiento muestran una mayor disminución poblacional en relación a los tratamientos 3, 4 y 5 los cuales presentan una disminución más gradual. Los valores altos del primer tratamiento son de animales que nunca fueron flameados con anterioridad. Se obtuvieron los promedios por cada tratamiento, teniendo que al finalizar con el tratamiento N° 5 se logró obtener 153.600 células somáticas y 102 UFC un resultado óptimo dados los parámetros usados para el pago en las empresas receptoras de leche. Como lo cita la Tabla N° 3 de Paga por Calidad del Decreto Ejecutivo N° 1623 en el artículo N° 1. (pag. 7)

TABLA N°12 RESULTADOS DE CCS Y UFC POR VACA – TRATAMIENTO DEL PRIMER BLOQUE (0-120 DÍAS)

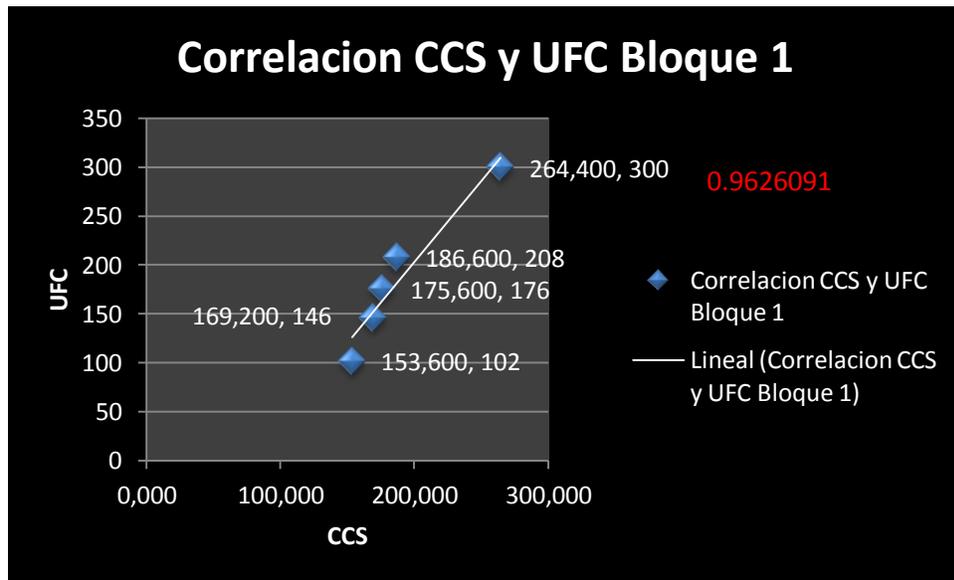
Vaca	Evelin		Maripili		Dakota		Lilibe		Mueca		Promedios	
	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC
CCS - UFC												
Tratamiento												
N° 1	198.000	298	279.000	307	215.000	328	298.000	266	332.000	301	264.400	300,00
N° 2	139.000	251	225.000	215	145.000	141	207.000	207	217.000	227	186.600	208,20
N° 3	136.000	233	217.000	166	131.000	128	191.000	173	203.000	179	175.600	175,80
N° 4	130.000	219	199.000	142	120.000	104	200.00	125	197.000	140	169.200	146,00
N° 5	127.000	97	194.000	120	102.000	98	162.000	91	183.000	104	153.600	102,00

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.2.1. Correlación entre CCS y UFC del Bloque N° 1

El gráfico N° 3 explica la correlación de 0.9626091 entre los resultados para células somáticas (CCS) y las unidades formadoras de colonias (UFC) de todos los tratamientos. Se usaron las medias obtenidas en la Tabla N° 12. Se observa que la correlación es casi perfecta por acercarse a 1, la disminución de células somáticas y unidades formadoras de colonias en este Bloque es directamente proporcional, según Radostits 2007, “la mastitis subclínica se relaciona con un incremento del conteo de células somáticas de 200.00 – 1.500.000, relacionándose con agentes patógenos que invaden la ubre....”

GRÁFICO N° 3 CORRELACIÓN ENTRE CCS Y UFC DEL BLOQUE N° 1



Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.3 Resultados Bloque N° 2

Los resultados obtenidos del Bloque N° 2 (121-200 días de lactancia) en conteo de células somáticas (CCS) y unidades formadoras de colonias (UFC) para los mesófilos aerobios se han escrito en la Tabla N° 13. El tratamiento 1 tanto en este Bloque como en el Bloque N° 1 presenta la mayor disminución poblacional relacionándose con el Tratamiento 2, de 373.200 CCS y 405.40 UFC a 228.000 CCS y 326.40 UFC, los tratamientos N° 3, 4 y 5 presentan una disminución más gradual pero menos extensa. Los valores del tratamiento 5 de 182.000 CCS y 214 UFC son promedios óptimos para el pago por calidad de leche por parte de las empresas receptoras de acuerdo a la Tabla N° 3 de Paga por Calidad del Decreto Ejecutivo N° 1623 en el artículo N° 1. (pag. 7)

TABLA N° 13 RESULTADOS DE CCS Y UFC POR VACA – TRATAMIENTO DEL SEGUNDO BLOQUE (121-200 DÍAS)

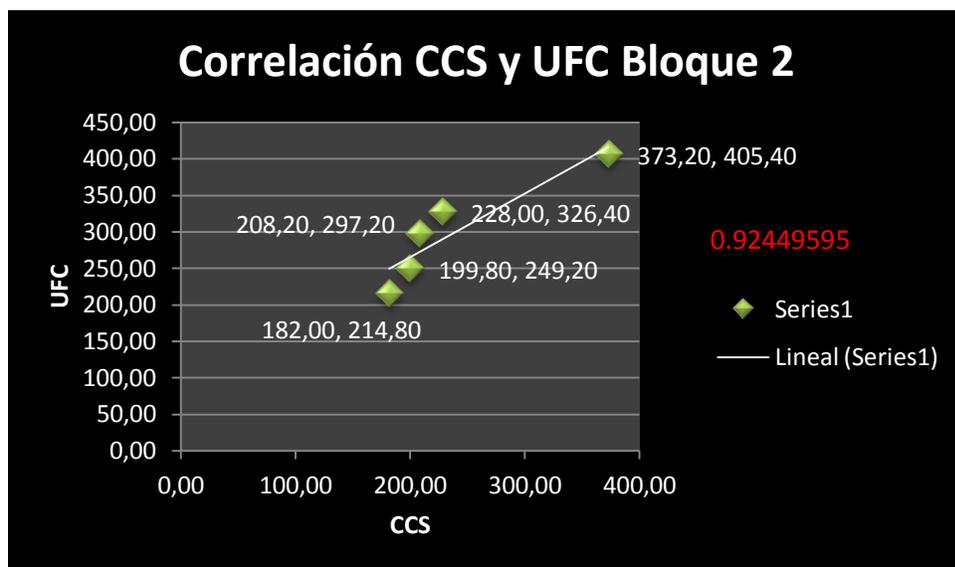
Vaca	Clementina		Vicentina		Beduina		Aceitosa		Livini		Promedio	
	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC
CCS – UFC												
Tratamiento												
N° 1	401.000	398	442.000	411	332.000	417	380.000	395	311.000	406	373.200	405,40
N° 2	207.000	311	261.000	334	221.000	327	233.000	323	218.000	337	228.000	326,40
N° 3	195.000	280	216.000	325	209.000	308	209.000	288	212.000	285	208.200	297,20
N° 4	188.000	231	198.000	268	202.000	256	201.000	241	210.000	250	199.800	249,20
N° 5	189.000	199	180.000	220	143.000	233	206.000	212	192.000	210	182.000	214,80

Fuente: Directa. Karla Rodríguez

3.3.1 Correlación entre CCS y UFC del Bloque N° 2

El siguiente gráfico N° 4 resume la relación directa que existe entre la disminución del conteo de células somáticas y la disminución de unidades formadoras de colonias con un valor de 0.92449595. Se usaron los promedios obtenidos en el Bloque N° 2, de la Tabla N° 13. La correlación es casi perfecta llegando a 1, determinando que la disminución de células somáticas y unidades formadoras de colonias en esta etapa de lactancia es directamente proporcional.

GRÁFICO N° 4 CORRELACIÓN ENTRE CCS Y UFC DEL BLOQUE N° 2



Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.4 Resultados N° Bloque 3

La Tabla N° 14 resume los resultados obtenidos en el Bloque N° 3 (201-270 días de lactancia) en conteo de células somáticas (CCS) y unidades formadoras de colonias (UFC) para los mesófilos aerobios. Se observa la disminución con la realización de

cada tratamiento. La disminución poblacional del tratamiento 1 al tratamiento 2 fue de 576.400 CCS y 483,80 UFC a 254.000 CCS y 401,20 al segundo tratamiento. En el tratamiento 5 los resultados en el conteo de células somáticas aumentaron ligeramente en 3 animales, Ivelin, Mitra y Malvine, aunque su conteo de UFC siguió descendiendo, se realizó una repetición de las muestras para confirmar los datos, siendo afirmativos. Citando a Curbelo 2007, “estudios realizados confirman que la leche de cuartos no infectados con mastitis presenta aumentos en el conteo de células somáticas a medida que aumenta el número de lactancias y la etapa de la misma. “

TABLA N° 14 RESULTADOS DE CCS Y UFC POR VACA – TRATAMIENTO DEL TERCER BLOQUE (201-270 DÍAS)

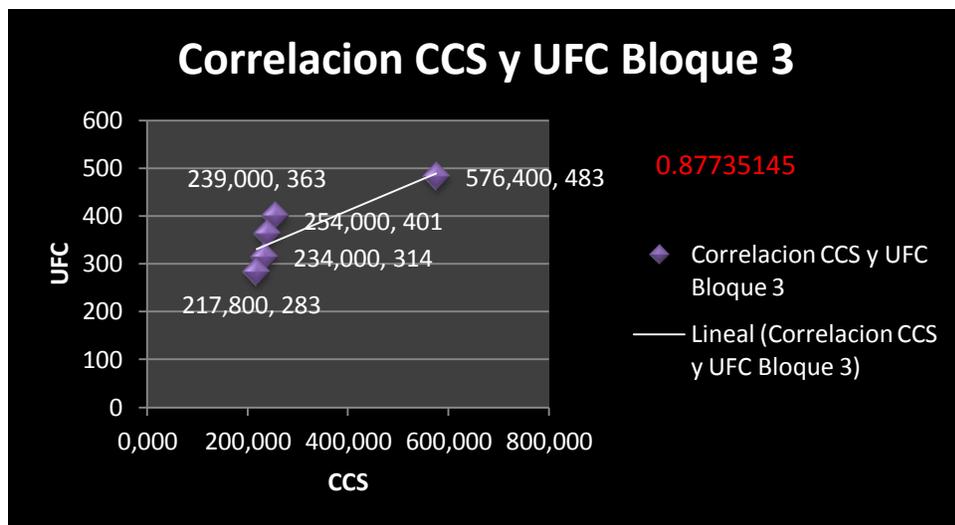
Vaca	Mitra		Malvine		Chicholina		Ivelin		Harine		Promedio	
	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC	CCS	UFC
CCS - UFC												
Tratamiento												
N° 1	555.000	488	488.000	470	599.000	485	680.000	494	560.000	482	576.400	483,80
N° 2	218.000	375	208.000	400	285.000	412	302.000	403	257.000	416	254.000	401,20
N° 3	205.000	340	197.000	359	282.000	377	288.000	371	223.000	369	239.000	363,20
N° 4	207.000	290	200.000	306	281.000	321	280.000	333	202.000	322	234.000	314,40
N° 5	213.000	261	205.000	282	188.000	290	286.000	297	197.00	289	217.800	283,80

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.4.1 Correlación entre CCS y UFC del Bloque N° 3

El gráfico N° 7 resume la relación existente entre el número de células somáticas y el número de unidades formadoras de colonias con un valor de 0.87735145, la disminución está estrechamente relacionada. En este Bloque la correlación es menor a los Bloques 1 y 2. Esta diferencia se explica a que la etapa de lactancia influye directamente en este conteo sin ser esto producto de una infección dentro de la ubre como lo cita Hernández y Bedolla 2008, “las vacas de final de lactancia y que se les tiene altos conteos de células somáticas, en ausencia de infección subclínica”

GRÁFICO N° 5 CORRELACIÓN ENTRE CCS Y UFC DEL BLOQUE N° 3



Fuente: Directa. Karla Rodríguez

3.5. Análisis de Varianza

3.5.1. Análisis de Varianza por Células Somáticas (CCS)

La Tabla N° 15 resume los promedios por cada tratamiento y bloques. Estos datos se usaron para realizar el Análisis de Varianza de acuerdo a las Células Somáticas (CCS).

TABLA N° 15 PROMEDIOS DE CCS POR TRATAMIENTOS Y BLOQUES

CCS por Tratamientos y Bloques			
	Bloque I	Bloque II	Bloque III
T1	264.400	373.200	576.400
T2	186.600	228.000	254.000
T3	175.600	208.200	239.000
T4	169.200	199.800	234.000
T5	153.600	182.000	217.800

Fuente:Directa.Karla Rodríguez

En la Tabla N° 16 del Análisis de Varianza por Células Somáticas se observa el esquema utilizado de un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) donde se resumen los respectivos grados de libertad que corresponden a los 3 Bloques y 5 Tratamientos utilizados. El Coeficiente de Variación fue de 23.22 lo cual identifica que hay cierta variabilidad entre los valores de CCS, el comportamiento de descenso gradual en los Tratamientos N° 3, 4 y 5 explica que el coeficiente de variación no sea tan alto.

TABLA N° 16 ANÁLISIS DE VARIANZA POR CÉLULAS SOMÁTICAS

F. V.	S C	gl	CM	F
Tratamiento	98935504000.00	4	24733876000.00	6.84
Bloque	32954832000.00	2	16477416000.00	7.70
Error	25695248000.00	8	321190600.00	5.13
Total	157585584000.00	14		

CV	23.22
----	-------

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.5.2. Prueba de Duncan para Células Somáticas (CCS)

Se compararon las medias obtenidas por tratamiento y cual produjo mejores resultados en cuanto a la disminución de células somáticas, obteniendo los siguientes resultados presentados en la Tabla N° 17. Se observa que el Tratamiento 1 presenta el mayor promedio de células somáticas, 404666.67 en relación a los demás tratamientos, éste corresponde al tratamiento testigo, los animales no habían sido flameados anteriormente. Los Tratamientos N° 2,3,4 y 5 presentan medias muy cercanas entre sí, no existiendo diferencias significativas entre ellas.

TABLA N° 17 PRUEBA DE DUNCAN CÉLULAS SOMÁTICAS POR TRATAMIENTOS

Tratamiento	Medias	n		
1	404666.67*	3		B
2	222866.67	3	A	
3	207600.00	3	A	
4	201000.00	3	A	
5	184466.67	3	A	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Fuente: Directa. Karla Rodríguez

En la Tabla N° 18 se observa que el mejor Bloque a realizarse la técnica es el que abarca la Tercera Etapa de lactancia de 201-270 días, la media obtenida es mayor que los Bloques N° 1 y 2. Los animales de este bloque presentaban los más altos conteos de células somáticas y unidades formadoras de colonias al principio de la investigación considerándolos como el grupo que mejores resultados obtuvo con el flameado

TABLA N° 18 PRUEBA DE DUNCAN CÉLULAS SOMÁTICAS POR BLOQUES

Bloque	Medias	n	E.E.		
3	304240.00*	5	25345.24		B
2	238240.00	5	25345.24	A	B
1	189880.00	5	25345.24	A	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Fuente: Directa. Karla Rodríguez

3.5.3. Análisis de Varianza por Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

La Tabla N° 19 presenta los promedios obtenidos de las Unidades Formadoras de Colonias en cada tratamiento y bloques, los cuales se usaron para el Análisis de Varianza respectivo.

TABLA N° 19 PROMEDIOS DE UFC POR TRATAMIENTOS Y BLOQUES

UFC por Bloques y Tratamiento			
	Bloque I	Bloque II	Bloque III
T1	300,00	405,40	483,80
T2	208,20	326,40	401,20
T3	175,80	297,20	363,20
T4	146,00	249,20	314,40
T5	102,00	214,80	283,80

Fuente: Directa. Karla Rodríguez

En la Tabla N° 20 se observa el esquema del Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) a través de una tabla de Análisis de Varianza, en esta se resumen los respectivos grados de libertad que corresponden a los 3 Bloques y 5 Tratamientos utilizados.

Se obtuvo un coeficiente variación de 1.94, indicando que no hay una marcada variabilidad entre las medias calculadas y que los datos no difieren mucho entre sí.

TABLA N° 20 ANÁLISIS DE VARIANZA POR UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

F. V.	S C	gl	CM	F
Tratamiento	68048.00	4	17012.00	831.99
Bloque	84954.13	2	42477.07	555.04
Error	245.20	8	30.65	1385.87
Total	153247.33	14		

CV	1.94
----	------

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.5.4. Prueba de Duncan para Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

Se compararon los tratamientos realizados y cual produjo mejores resultados en cuanto a la disminución de unidades formadoras de colonias. Analizando las medias por tratamiento se obtiene que son diferentes pero no muestran diferencias significativas.

TABLA N° 21 PRUEBA DE DUNCAN CÉLULAS SOMÁTICAS POR TRATAMIENTOS

Tratamiento	Medias	n				
1	396.33	3				e
2	311.67	3				d
3	278.67	3			c	
4	236.33	3		b		
5	200.33	3	a			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

En la tabla N° 22 se observa que el Bloque N° 3 de la Tercera Lactancia corresponde a la etapa que se recomienda a realizarse el flameado, obteniéndose mejores resultados en descenso que en el resto de etapas con una media de 369.20 en descenso de UFC

TABLA N° 22 PRUEBA DE DUNCAN UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR BLOQUES

Bloque	Medias	n			
3	369.20	5			c
2	298.40	5		b	
1	186.40	5	a		

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.5 Prevalencia de mastitis subclínica en los diferentes bloques

En la tabla N° 23 se observa la prevalencia de la mastitis subclínica usando los promedios del Bloque N° 1 con el número de células somáticas por cada tratamiento.

La disminución de células somáticas con la consecuente desaparición de mastitis subclínica es visible en el Tratamiento 2. El promedio final obtenido con el Tratamiento 5 fue de 153.600 células somáticas, siendo un valor que se ajusta a lo citado por Radostits, et al, 2007 que una glándula mamaria normal presenta conteos celulares inferiores a 200.000 células somáticas/ml de leche.

TABLA N° 23 PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BLOQUE N° 1

Tratamiento	CCS	Presencia de Mastitis Subclínica
T 1	264.400	Positivo
T 2	186.600	Negativo
T 3	175.600	Negativo
T 4	169.200	Negativo
T 5	153.600	Negativo

Fuente: Directa. Karla Rodríguez

En la tabla N° 24 se resumen los resultados en el Bloque N° 2, se observa que en el tratamiento 4 con la disminución de células somáticas a 199.800 se interpreta como negativo a presencia de Mastitis Subclínica.

TABLA N° 24 PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BLOQUE N° 2

Tratamiento	CCS	Presencia de Mastitis Subclínica
T 1	373.200	Positivo
T 2	228.000	Positivo
T 3	208.200	Positivo
T 4	199.800	Negativo
T 5	182.000	Negativo

Fuente: Directa. Karla Rodríguez

En la Tabla N° 25 se observan los promedios por tratamiento en el Bloque N° 3, el valor de 576.400 células somáticas/ml del Tratamiento 1 es bastante alto con relación

a los datos de los Bloques N° 1 y N° 2. Se obtuvo un promedio final de células somáticas de 217.800, según la literatura Radostits et al 2007, el conteo mayor de 200.000 células correspondería a una mastitis subclínica. Se considera que este Bloque formado por animales en una lactancia tardía y con un diagnóstico de mastitis subclínica necesitaría posteriores flameados a fin de obtener un resultado negativo de mastitis.

TABLA N° 25 PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BLOQUE N° 3

Tratamiento	CCS	Presencia de Mastitis Subclínica
T 1	576.400	Positivo
T 2	254.000	Positivo
T 3	239.000	Positivo
T 4	234.000	Positivo
T 5	217.800	Positivo

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.7. Análisis Económico del uso de la técnica del flameado en la rutina de ordeño

En la Tabla N° 26 se usaron los promedios en el número de células somáticas para determinar el costo de la leche producida sin la técnica del flameado y con el uso de ella. Se tomó como base el precio de la leche mínimo establecido por el Gobierno a través del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de \$0,3575 para añadirle la bonificación que se obtendría por calidad de leche, como se observa en la Tabla N° 3 Paga por Calidad del Decreto Ejecutivo N° 1623 en el artículo N° 1. Se tomó como referencia este monto sin especificar valores añadidos que las Empresas Receptoras evalúan para el pago de la leche, como: porcentaje de grasa, porcentaje de proteína. Se obtuvo un precio promedio de \$ 0,4075 como precio final por litro de leche, aumentando exactamente un centavo

de dólar por litro, reiterando que no se ha tomado en cuenta valores pagados por parámetros como proteína y grasa.

TABLA N° 26 ANÁLISIS ECONÓMICO ENTRE EL USO Y NO USO DEL FLAMEADO

Bloque	CCS/UFC	Bonificación/lt	Precio/lt
I			
Sin Flameado	264.000/2.11	\$ 0,0450	\$ 0,4025
Con Flameado	153.600/1.47	\$ 0,0550	\$ 0,4125
II			
Sin Flameado	373.220/2.60	\$ 0,0400	\$ 0,3975
Con Flameado	182.000/1.93	\$ 0,0500	\$ 0,4075
III			
Sin Flameado	576.000/2.67	\$ 0,0350	\$ 0,3925
Con Flameado	217.800/2.08	\$ 0,0450	\$ 0,4025
Promedio SF			\$ 0,3975
Promedio F			\$ 0,4075

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

Se calculó la ganancia diaria, mensual y anual que se obtendrían con el uso de la técnica del flameado dentro de la rutina de ordeño en todo el hato, se usó el promedio del valor obtenido por litro de leche. Se calculó el monto con la producción lechera de la hacienda de aproximadamente 3000 litros de leche diarios. Los resultados se observan en la siguiente tabla N° 27

**TABLA N° 27 GANANCIA TOTAL DIARIO-MENSUAL-ANUAL POR
REALIZACIÓN DEL FLAMEADO**

Técnica	Precio/lt	Precio total diario	Precio mensual	Precio anual
Sin Flameado	\$ 0,3975	\$ 1.192,5	\$35.775	\$429.300
Con Flameado	\$ 0,4075	\$ 1.222,5	\$36.675	\$440.100
Ganancia		\$ 30,00	\$900	\$10.800

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

3.7.1. Relación costo – beneficio del uso del flameado de ubre

Se calculó el costo total de realizar un flameado de ubre en \$ 43,60, esto considerando que sea ha realizado una vez al mes. Se debe tomar en cuenta que ciertos materiales son reutilizables y no representarían nuevos costos para posteriores flameados excepto el alcohol. Si tomamos el dato de ganancia mensual de \$900 de la Tabla N° 27, se obtiene una ganancia mensual adicional de \$856,40 por la aplicación de la técnica de flameado.

TABLA N° 27 COSTOS DEL USO DE LA TÉCNICA DEL FLAMEADO

Flameado		
PRODUCTO	CANTIDAD	COSTO
Alcohol	1000 ml	\$3.50
Ansa de metal	1	\$ 5.00
Tela	50 cm2	\$ 2.00
Fósforos	1 caja	\$ 0,50
Guantes	1 par	\$ 0.50
Mano de Obra	1 jornal	\$ 10.00
TOTAL		43.60

Fuente:Directa. Karla Rodríguez

4 Conclusiones

El uso del flameado de ubre dentro de la rutina de ordeño influye directamente sobre la población de mesófilos aerobios así como en el número de células somáticas presentes en la leche de los animales divididos por etapa de lactancia. Se empezaron con valores promedio de células somáticas de 264.400, 373.200 y 576.400 por Bloque 1, Bloque 2 y Bloque 3 respectivamente y valores 300, 405, 40 y 483,80 en Unidades Formadoras de Colonias respectivamente por Bloque. El primer tratamiento obtuvo el mayor descenso en células somáticas y unidades formadoras de colonias con respecto al resto de tratamientos que mantuvieron la línea de descenso más gradual. Al finalizar los tratamientos se lograron obtener resultados en células somáticas de 153.600, 182.000 y 217.800, reduciendo la prevalencia de mastitis subclínica en la mayoría de los animales tratados.

Se encontró una correlación cercana a 1 entre el número de mesófilos aerobios y el número de células somáticas en todos los 3 Bloques. Los valores de 0.9626091, 0,92449595 y 0.87735145 respectivamente, muestran la estrecha relación que existen entre las variables.

Los valores obtenidos en número de células somáticas y número de Unidades Formadoras de Colonias por el uso del flameado de ubre permiten obtener una leche de mejor calidad la cual es mejor remunerada, las empresas poseen parámetros a evaluar como porcentajes de grasa y proteína los cuales aumentan el valor neto por litro además del conteo de células somáticas y conteo de bacterias totales para calificar la calidad de la misma. Se llega a obtener hasta 1 centavo más por litro producido.

5 Recomendaciones

Se recomienda realizar el flameado de ubre dentro de la rutina de ordeño cada 4 semanas, debido a que la disminución del conteo de células somáticas y de las Unidades Formadoras de Colonias se mantiene en descenso a pesar del intervalo de tiempo que hay entre los tratamientos. Además por la facilidad en el manejo que este intervalo daría al productor, se debe tomar en cuenta que el pelo por diferencias de raza no tiene un uniforme crecimiento, parámetro también a evaluar.

Tomar la técnica de flameado de ubre como un tratamiento adicional a la antibioticoterapia para tratar mastitis infecciosas debido a la estrecha relación entre células somáticas y Unidades Formadoras de Colonias contribuyendo a disminuir la inflamación y la carga bacteriana.

Fomentar el uso de esta técnica entre grandes y pequeños productores, explicando las ventajas del flameado en calidad y salubridad de leche, siendo estos parámetros los evaluados para la remuneración por litro de leche.

Seguir evaluando técnicas de flameado con el uso de otros materiales que puedan ser más efectivos.

6. Bibliografía

Referencias Bibliográficas

- 1.- BLOOD D; Radostits O; Henderson, *Medicina Veterinaria*.2004,6ª Ed. Editorial McGrawHill,. **ISBN 8448603184**
- 2.-BÖHM, W. HEESCHEN Y P. TEUFEL – GELSENKIRCHEN,2000 El nuevo derecho de la higiene de la leche,. **ISBN 978-3-88749-214-4**
- 3.- COTRINO, B.2003 Diagnóstico de Mastitis. Aislamiento de Microorganismos. NationalMastitis Council USA. p. 54-62.2007 **ISBN 978-958-8790-04-6**
- 4.- CURBELO, R. 2007, Relación entre los recuentos de células somáticas , prácticas de manejo y patógenos causantes de mastitis en hatos lecheros de Puerto Rico. Tesis de Grado. Maestría en Ciencias en Industria Pecuaria. Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico. Recinto de Mayaguez.
- 5.- FAO 2011 Codex Alimentarius, Subdivision de Politicas y Apoyo en Materia de PublicacionElectronica, **ISBN 978-92-5-305837-2**
- 6.- FAO 2009 Consultores, Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico, Subdivision de Politicas y Apoyo en Materia de PublicacionElectronica, **ISBN 978-92-5-306153-2**
- 7.- GARCIA Miguel, 2005 Aplicaciones de la Biotecnologia EN Seguridad Alimentaria, Genoma España, **ISBN 84-609-5044-1**
- 7.- GIANNEECHINI, R.; CONCHA, C.; RIVERO, R.; DELUCCI, I.; MORENO L., J. 2002Occurrence of clinical and subclinicalmastitis in dairy herds in the West Littoral Región inUruguay. Acta Vet. Escand.**ISBN 43: 221-230.**

- 8.- HERNÁNDEZ, R., BEDOLLA, C., 2008. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche (Importance of the somatic cell count in the quality of milk). Revista Electrónica de Veterinaria. Vol IX, N° 9.
- 9.-HOARD'S DAIRYMAN. Junio 2001 (Paper)
- 10.-LAIBOW Rima, 2002, Codex Alimentario, Madrid, **ISBN 978-188121737-4**
- 11.-MARTÍNEZ, *et al.* 2003 Journal of AOAC International Application of Strategically Designed Sample Composition to the Rapid Analytical Screening of Milk Samples for Polychlorinated Biphenyls.. p.846-847. **ISBN**
- 12.-MELLENBERGER, 2005 Depto. de Ciencia Animal, Universidad del Estado de Michigan y Carol J. Roth, Depto. de Ciencia Lechera, Universidad de Wisconsin-Madison (Paper)
- 13.- MURRAY Patrick;2007, Microbiología Médica, 5ta edición, Editorial Elsevier, **ISBN 0-323-03303-2**
- 14.- OLDHAM, J.D. 2001, Composición de la leche y la vaca de alta producción, Editorial Swan, México, **ISBN 84-95219-57-3**
- 15.- PHILPOT, W. N. 2001. Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que la afectan. III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. León Guanajuato. México. 26 pp. **ISBN 978-84-7867-060-4**
- 16.- PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN, Microbiología, 7ma Edición, Editorial McGrawHill, España, 2008 **ISBN 9788448168278**
- 17.- RADOSTITS, GRAY, HINCHCLIFF, 2007, Veterinary Medicine, 10th Edition, Ed. MacGrawHill, **ISBN 978-0-7020-2777-2**
- 18.- RIZZO. M. 2002. Tecnología de la Leche. Procedimiento, Manufactura y Análisis. Edit. GUERRERO HNOS S.A. México. D.F. **ISBN, 9290390387**

19.- ROBINSON,R.K. MicrobiologíaLactologica.Vol I. Editorial Acribia.Zaragoza. España. 1997. **ISBN 8420006092**

20.- TETRA PAK PROCESSING SYSTEMS AB,2002, Manual de Industrias Lácteas, 2da Ed, Madrid Vicente Ediciones,**ISBN 978-84-89922-81-5**

21.-TIZARD, I.R.. Inmunología veterinaria. 8^a ed. Ed. McGrawHillInteramericana.México. **ISBN, 978-1-4160-4989-0**

Bibliografía virtual

1.- AGROBIT, La leche como alimento (en línea) 2004. Disponible en

http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/prod_lechera/GA000002pr.htm

2.-AGSO, 2008, “La Producción láctea en el Ecuador”, Disponible en

<http://agso.com.ec/noticias/13052010.html>

3.-AGRICULTURE FOR LIFE, 2012, Udder Singe. Disponible en

<http://www.agriviv.com/uddersinge>

4.-AVILA T., S.; GUTIÉRREZ C., A. Mastitis. 2004. Universidad Nacional Autónoma. (en línea).México. Disponible en:

[http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Mastitis%
20](http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Mastitis%20)

5.-Castañeda P. Recuentos de microorganismos viables "totales". Salud Publica de México. 2003. Disponible en: <http://www.al-dia.cl/sistema/tablas/listar.asp>.

6.-CMT University of Wisconsin, 2012

http://www.extension.purdue.edu/dairy/quality/qualpubs_milking.htm

7.-Division of Cooperative Extension of the University of Wisconsin, 2012

<http://www.uwex.edu/ces/>

8.-FAO, 2008, Sistemas de Producción Bovina en las Americas,
<http://www.ric.fao.org/prior/segalim/animal/eeb/gana/sispro.htm>

5.-FAO, 2008 Manual de Ordeño Manual y Mecánico

<http://www.fao.com>

6.- GRIJALVA P. Asociación de Ganaderos del Oriente y Sierra, 2008

http://www.agsosite.com/index.php?option=com_phocadocumentation&view=category&id=19:varios&Itemid=24

7.- HERR Gerónimo, Tecnología de la leche

<http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/tecnologialeche/informacion/microbiologia.pdf>

8.-HURLEY, W. 2002. Lactation Biology.Milk Proteins and Protein Synthesis.University of Illinois.Department of Animal Sciences.Urbana-Champaign.<http://classes.aces.uiuc.edu/AnSci308/index.html>

9.- KIRK, J.H. “Programa de control de mastitis para vacas lecheras infectadas con Streptococcusagalactiae”. 2004. Disponible en:
http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/sp_strep_ag.pdf

10.-MAGAP, Gobierno sobre precio de leche, 2008. Disponible en:

<http://www.interactive.net.ec/noticias/gobiernosubpreciodeleche.html>

10.-MICRONOTICIAS, 3M Microbiología, 2006. Placas Petrifilm para recuento de Aerobios. Disponible en:

http://solutions.3m.com.mx/wps/portal/3M/es_MX/Microbiologia/Home/Micro/MicronoticiasHistorial/

11.-MILK ANALITICAL SOLUTIONS FOSS,2012. Disponible en:

<http://www.foss.es/industry-solution/products/fossomatic-fc>

12.-MILK QUALITY, University of Wisconsin, 2006

<http://milkquality.wisc.edu/udder-health-tools/mastitis-control-program/15.->

13.- NÚÑEZ GH. *E. coli* y Coliformes. Complejo Nacional de la Salud, Managua. 2,001. Disponible en:<http://www.dian.gov.co/Dian/ActEcono.nsf>.

14.- PASTOR F., 2007, “Las verdades sobre la leche”. Disponible en:

http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/ganaderia/verdades_leche

15.- PASTOR P., 2000, “Los hatos lecheros tecnificados: Un reto para la costa”. Disponible en:

http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/ganaderia_hato_lechero

16.- PINZÓN A. 2006. Determinación de bacterias mesófilas aerobias presentes en la leche versus leche pasteurizada que se comercializan en la zona urbana de la ciudad de Popayán. Disponible en:

<http://www.mongrafias.com/trabajos-pdf/indice-bacterias-leche/indice-bacterias-leche>

17.-SCHROEDER, J.W. Mastitis control programs: Bovinemastitis and milking management, 2007. North Dakota State University and U.S. Department of Agriculture cooperating. Disponible en:

www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/dairy/as1129.pdf.

ANEXOS

ANEXO N° 1 REGISTRO INDIVIDUAL

REGISTRO INDIVIDUAL POR BLOQUE: 1era LACTANCIA (0 – 120 DÍAS)

Lugar:

Ubicación:

Propietario:

Nombre:

Fecha de Nacimiento:

Edad:

Raza:

N° de Partos:

Nombre del padre

Rubens

Nombre de la madre

Shakira

Fecha flameado	de	N° CCS/ml	de	N° mesófilos aerobios	UFC	N° Coliformes	UFC

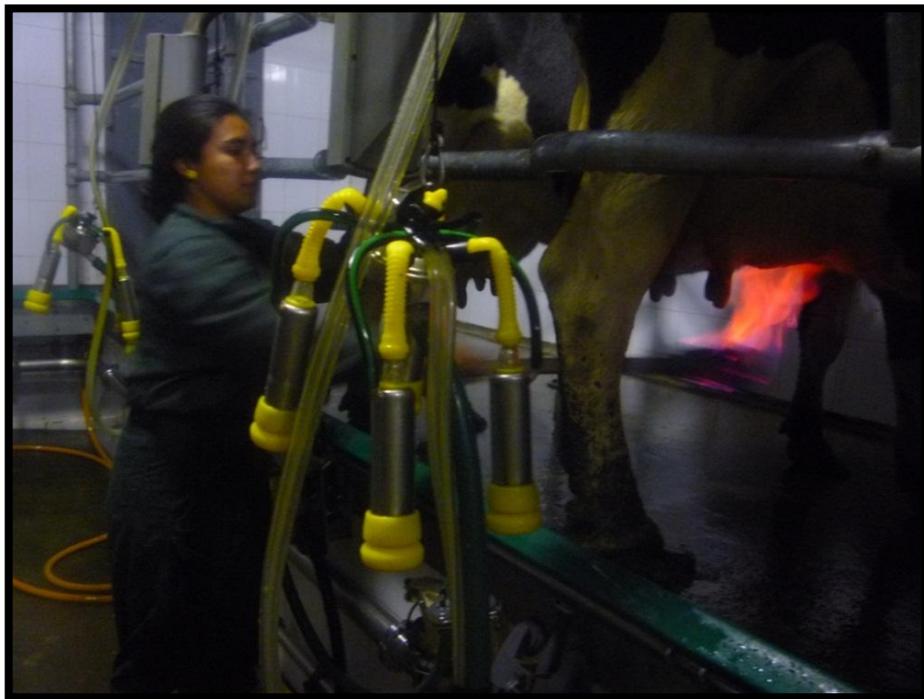
ANEXO N° 5 PREPARACIÓN MATERIAL PARA FLAMEADO 1



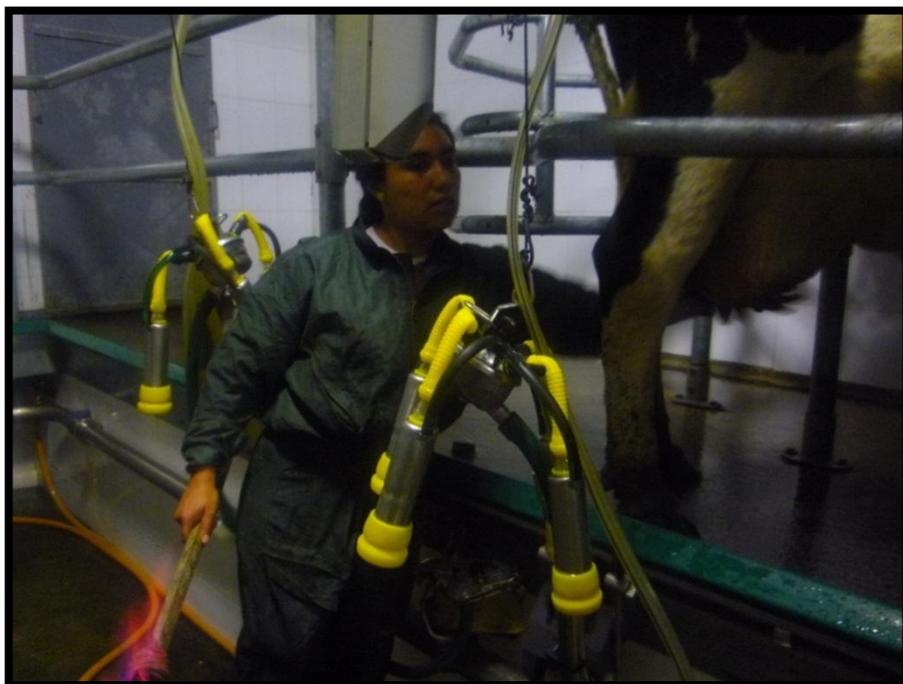
ANEXO N° 6 PREPARACIÓN MATERIAL PARA FLAMEADO 2



ANEXO N° 7 FLAMEADO DE UBRE 1



ANEXO N° 8 FLAMEADO DE UBRE 2



ANEXO N° 9 TOMA DE MUESTRA 1



ANEXO N° 10 TOMA DE MUESTRA 2



ANEXO N° 11 ETIQUETADO DE MUESTRAS



ANEXO N° 12 ENVÍO DE MUESTRAS



ANEXO N° 13 PLACA PETRIFILM MESÓFILOS



ANEXO N° 14 PLACA PETRIFILM COLIFORMES



ANEXO N° 15 VISITA A LA HACIENDA



ANEXO N° 16 LABORATORIO CALIDAD DE LECHE – AGROCALIDAD 1



ANEXO N° 17 COLOCACIÓN DE MUESTRAS EN FRASCOS ESPECIALES



ANEXO N° 18 CALENTAMIENTO BAÑO MARÍA DE LAS MUESTRAS



ANEXO N° 19 FOSSOMATIC ANALIZANDO MUESTRAS DE LECHE

