



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE
NANO PLATA SOBRE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA
EN LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

KATTY PAULINA VALDIVIESO GAVILANES***DEDICATORIA***

Este trabajo de tesis lo dedico a mis queridos padres y familiares, gracias a su comprensión, paciencia y apoyo incondicional.

Al igual que a mi tutor docente, Doctor Francisco Portero, y a mis colaboradores Doctor Oswaldo Duque e Ingeniero Enrique Vayas, quienes compartieron conmigo sus enseñanzas y conocimientos.

Y de manera especial a aquellos amigos sinceros porque gracias a sus consejos desinteresados ayudaron a enriquecer mi vida como ser humano y futura profesional.

AGRADECIMIENTO

Mi perenne gratitud a Dios que me permitió existir y conocer todo lo que la vida tiene para ofrecer como es el estudiar y formar parte de una institución superior con el fin de superarse continuamente en el diario vivir, a mis queridos padre y madre, porque siempre me han acompañado en mis fracasos y triunfos de manera incondicional; a mis estimados profesores que son personas que han compartido sus conocimientos y han sido guía en la ejecución de este trabajo investigativo de manera adecuada y correcta previo a la obtención del título como Bioquímica Farmacéutica de la república del Ecuador.

Mi debido reconocimiento a la Unidad productiva Tunshi, en especial al Área de Producción de Lácteos, y de manera exclusiva al administrador Ing. René Carvajal y el Ing. Carlos Santos porque me dieron todas las facilidades para efectuar mi trabajo de investigación.

De la misma manera quiero hacer llegar mi sincero reconocimiento al Doctor Francisco Portero, porque gracias a sus enseñanzas y consejos he podido culminar con éxito los objetivos propuestos durante mi trabajo.

Finalmente quiero agradecer a todas aquellas personas que de una u otra manera me colaboraron y apoyaron durante todo este tiempo.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Edmundo Caluña
DECANO FAC. DE CIENCIAS		
Ing. Hanníbal Brito
DIRECTOR ESC. ING. QUÍMICA		
Ing. Hanníbal Brito
DIRECTOR DE TESIS		
Ing. Cesar Avalos
ASESOR DE TESIS		
Dr. Nancy Veloz
ASESOR DE TESIS		

Lic. Carlos Rodríguez

DIRECTOR CENTRO DOCUMENTACION

NOTA DE TESIS

Yo, Katty Paulina Valdivieso Gavilanes, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

INTRODUCCIÓN

A lo largo de su existencia, la humanidad ha conocido y usado diferentes remedios para sus males. Todo ha sido probado, aceptado o rechazado en la cura de diversas enfermedades, hasta reunir un acervo de conocimientos que, la mayoría de las veces, ha sido vista con recelo o con franco desprecio por parte de la medicina moderna, a pesar de que esta ha tenido sus cimientos en dicho acervo.

La plata coloidal y su forma conocida como nano plata han sido usadas como un germicida efectivo desde el año de 1900. El Dr. Henry Crooks demostró que la plata coloidal es altamente germicida y al mismo tiempo no tóxico para los humanos.

La mastitis bovina es el principal problema de la ganadería lechera a nivel mundial y se considera el mayor problema del sector lácteo incluyendo la industria. En todos estos años y a pesar del avance científico alcanzado en este campo, permanece en la totalidad de los hatos lecheros.

La mastitis ha sido reconocida desde que el hombre domesticó la vaca. Se estima que un tercio de todas las vacas lecheras están afectadas por cualquier forma de mastitis en uno o más cuartos. Comúnmente es una enfermedad infecciosa causada por más de 137 especies bacterianas siendo *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* los principales microorganismos responsables de la misma. Se considera como una enfermedad compleja y es producto de la interacción de varios factores, resumidos en el animal, el medio ambiente y los microorganismos, jugando el hombre un papel decisivo.

La presencia de nano plata cerca de un virus, un hongo, una bacteria o cualquier otro microbio patógeno unicelular, incapacita a su enzima del metabolismo del oxígeno, su pulmón químico, por decirlo así. Dentro de pocos minutos, generalmente 5, el microbio patógeno se sofoca y muere y luego es eliminado del cuerpo por los sistemas inmunológico y linfático. Contrario a los antibióticos farmacéuticos que destruyen las enzimas benéficas, nano plata deja a estas enzimas celulares y tisulares intactas, ya que son radicalmente diferentes de las enzimas de la vida primitiva unicelular. De esta manera, nano plata es absolutamente segura para los humanos, las plantas, los reptiles y todos los seres vivientes pluricelulares.

Como todos sabemos, cada día se desarrollan más bacterias que se hacen resistentes a los antibióticos. Una alternativa nano plata; segura, natural, sin efectos colaterales como los antibióticos, son efectivas aún contra las cepas microbianas resistentes a los antibióticos convencionales.

Es por ello que resulta conveniente implementar nuevos enfoques para obtener medicamentos mamarios efectivos y económicos a partir de fuentes naturales o químicas que sean seguros tanto para los animales y el hombre, como en el caso de la nano plata un producto con propiedades medicinales, especialmente de tipo antimicrobiano y que además es económico por su rápida acción en relación con otros tratamientos para la mastitis subclínica bovina, los cuales suelen resultar más largos y sobre todo costosos, además podría contribuir a la disminución de las pérdidas

económicas que sufren los sectores ganaderos de nuestro país a causa de esta enfermedad.

Los objetivos trazados en esta investigación son: Estudiar la actividad antimicrobiana de la nano plata en mastitis subclínica bovina en la Unidad Productiva TUNSHI, determinar mastitis subclínica en bovinos mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT), aislar las bacterias patógenas *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* causantes de la mastitis subclínica bovina, establecer la actividad antimicrobiana *in vitro* de la nano plata sobre las bacterias aisladas y verificar la actividad antimicrobiana *in vivo* de la nano plata sobre los bovinos infectados de mastitis subclínica.

Se planteó la hipótesis: La nano plata a concentraciones de 0.88, 1.75, 3.5 y 7 ppm tiene actividad antimicrobiana sobre mastitis subclínica bovina.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

FDA	Food and Drug Administration
CMT	California Mastitis Test
h	Horas
L	Litro
m	Metros
nm	Nanometro
min	Minutos
mL	Mililitro
μL	Microlitro
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
sp	Sin especie
ADN	Acido Desoxirribonucleico
PMN	Polimorfonucleares
RCS	Recuento de Células Somáticas
(P+N)	Penicilina y novobiocina
UFC	Unidades Formadoras de Colonia
Ho	Hipótesis Nula
H1	Hipótesis alternativa
GDL	Grados de Libertad
Pr	Promedio
F	Fisher
HSD	Honesty Significant Difference
°C	Grados Celsius

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	Nanotecnología.....	1
1.1.1	Fármacos de pequeña escala.....	2
1.1.2	Mercado nanológico.....	3
1.1.3	Aplicaciones de la medicina nanológica (suministro de medicamentos, imagenología y diagnóstico).....	5
1.2	Nano plata.....	6
1.2.1	Definición.....	6
1.2.2	Actividad antimicrobiana.....	7
1.2.3	Dosis usual.....	7
1.2.4	Mecanismo de acción.....	8
1.2.5	Características de la nano plata.....	9
1.2.6	Ejemplos del poder de la nano plata.....	9
1.2.7	Propiedades de la nano plata.....	10
1.2.8	Modos de aplicación y usos.....	10
1.3	Mastitis bovina.....	11
1.3.1	Cuadros clínicos.....	12
1.3.1.1	Mastitis subclínica.....	12
1.3.1.2	Mastitis clínica.....	13

1.3.2	Etiología.....	14
1.3.2.1	<i>Streptococcus</i>	15
1.3.2.2	<i>Staphylococcus</i>	16
1.3.2.3	Coliformes.....	17
1.3.2.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
1.3.2.5	<i>Corynebacterium</i>	18
1.3.2.6	<i>Bacillus</i>	18
1.3.3	Anatomía de la glándula mamaria.....	19
1.3.3.1	Patogénesis de la mastitis.....	19
1.3.3.2	Factores de la mastitis.....	20
1.3.4	Desarrollo de la enfermedad.....	21
1.3.4.1	Invasión del pezón.....	21
1.3.4.2	Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada.....	22
1.3.4.3	Destrucción del tejido alveolar.....	22
1.3.5	Pruebas de diagnóstico.....	22
1.3.5.1	Inspección de la ubre.....	23
1.3.5.2	Examen de la leche.....	24
1.3.5.3	Contenido celular.....	24
1.3.5.4	Papel indicador.....	27
1.3.5.5	Exámenes de laboratorio.....	27
1.3.6	Tratamiento de la mastitis.....	28
1.3.7	Control de la mastitis.....	29
1.3.8	Nuevo método para combatir mastitis.....	29
1.3.9	Prevención de la mastitis.....	30
1.3.10	Impacto en el sector lechero.....	32
2.	PARTE EXPERIMENTAL	34
2.1	Lugar de la investigación.....	34
2.2	Materiales, Equipos y Reactivos.....	34
2.2.1	Material de campo	34

2.2.2	Material de laboratorio.....	34
2.2.3	Material biológico.....	35
2.2.4	Equipos de laboratorio.....	35
2.2.5	Reactivos.....	36
2.3	Metodología.....	36
2.3.1	Diagnostico de mastitis bovina subclínica mediante CMT.....	36
2.3.1.1	Procedimiento.....	36
2.3.2	Toma de muestras de leche para las pruebas de laboratorio.....	37
2.3.2.1	Procedimiento.....	37
2.3.3	Análisis “ <i>in vitro</i> ”.....	38
2.3.3.1	Procedimiento.....	38
2.3.4	Análisis “ <i>in vivo</i> ”.....	39
2.3.4.1	Procedimiento.....	39
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4	CONCLUSIONES.....	55
5	RECOMENDACIONES.....	57
6	RESUMEN.....	58
7	SUMARY.....	59
8	BIBLIOGRAFÍA.....	60
9	ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre el <i>Staphylococcus aureus</i> . Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008.....	43
CUADRO No. 2	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre el <i>Staphylococcus epidermidis</i> . Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008...	44
CUADRO No. 3	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre el <i>Escherichia coli</i> . Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008.....	45
CUADRO No. 4	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre el <i>Bacillus</i> sp. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008.....	46
CUADRO No. 5	ANOVA (software Xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de nano plata sobre <i>Staphylococcus aureus</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.	47
CUADRO No. 6	Test de tuckey (software Xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de nano plata sobre <i>Staphylococcus aureus</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.	47
CUADRO No. 7	ANOVA (software Xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de nano plata sobre <i>Staphylococcus epidermidis</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.....	48
CUADRO No. 8	Test de tuckey (software Xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de nano plata sobre <i>Staphylococcus epidermidis</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.....	49
CUADRO No. 9	ANOVA (software Xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de nano plata sobre <i>Escherichia</i>	

	<i>coli</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.....	50
CUADRO No. 10	Test de tuckey (software xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de nano plata sobre <i>Escherichia coli</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.....	50
CUADRO No. 11	ANOVA (software Xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de la nano plata sobre <i>Bacillus</i> sp, a diferentes tiempos y concentraciones.....	51
CUADRO No. 12	Test de tuckey (software Xlstat 7.5.2) de la determinación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antimicrobiana de la nano plata sobre <i>Bacillus</i> sp, a diferentes tiempos y concentraciones.....	52
CUADRO No. 13	Actividad “ <i>in vivo</i> ” del antimastítico (Servimast) sobre mastitis subclínica en el hato de vacas lecheras propiedad de la unidad productiva Tunshi. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Abril-Mayo del 2008.....	53
CUADRO No. 14	Actividad “ <i>in vivo</i> ” de la nano plata sobre mastitis subclínica. en el hato de vacas lecheras propiedad de la unidad productiva Tunshi. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Abril-Mayo del 2008.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Drogas/productos médicos nanológicos aprobados por la FDA....	4
TABLA No. 2	Valores de referencia para CMT.....	26
TABLA No. 3	Interpretación de los grados del CMT.....	27

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Porcentaje de interpretación de la prueba de CMT en el hato de vacas lecheras propiedad de la unidad productiva Tunshi. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	40
GRÁFICO No. 2	Porcentaje de incidencia de mastitis subclínica en el hato de de vacas lecheras propiedad de la unidad productiva Tunshi. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	41
GRÁFICO No. 3	Porcentaje de microorganismos causantes de la mastitis subclínica en el hato de vacas lecheras propiedad de la unidad productiva Tunshi. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	42
GRÁFICO No. 4	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre el <i>Staphylococcus aureus</i> . Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008.....	43
GRÁFICO No. 5	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre el <i>Staphylococcus epidermidis</i> . Laboratorio de Microbiología. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008.	44
GRÁFICO No. 6	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre <i>Escherichia coli</i> . Laboratorio de Microbiología. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008.....	45
GRÁFICO No. 7	Actividad “ <i>in vitro</i> ” de nano plata sobre <i>Bacillus</i> sp. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre-Marzo del 2008.....	46
GRÁFICO No. 8	Medias (software Xlstat 7.5.2) de los tratamientos de nano plata “ <i>in vitro</i> ” sobre <i>Staphylococcus aureus</i> , a diferentes	

	tiempos y concentraciones.....	48
GRÁFICO No. 9	Medias (software Xlstat 7.5.2) de los tratamientos de nano-plata “ <i>in vitro</i> ” sobre <i>Staphylococcus epidermidis</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.....	49
GRÁFICO No. 10	Medias (software Xlstat 7.5.2) de los tratamientos de nano-plata “ <i>in vitro</i> ” sobre <i>Escherichia coli</i> , a diferentes tiempos y concentraciones.....	51
GRÁFICO No. 11	Medias (software Xlstat 7.5.2) de los tratamientos de nano-plata “ <i>in vitro</i> ” sobre <i>Bacillus</i> sp a diferentes tiempos y concentraciones.....	52
GRÁFICO No. 12	Actividad “ <i>in vivo</i> ” del antimastítico (Servimast) sobre mastitis subclínica en el hato de vacas lecheras propiedad de la unidad productiva Tunshi. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Abril-Mayo del 2008.....	53
GRÁFICO No. 13	Actividad “ <i>in vivo</i> ” de la nano plata sobre mastitis subclínica en el hato de vacas lecheras propiedad de la unidad productiva Tunshi. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Abril-Mayo del 2008.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Un antibiótico de amplio espectro sin efectos secundarios.....	1
FIGURA No. 2	Comparación del diámetro de la partícula de nano plata.....	10
FIGURA No. 3	Tres de las principales rutas de transmisión bacteriana durante el ordeño.....	15
FIGURA No. 4	California Mastitis Test.....	24

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Instalaciones de la sección ordeño de la unidad productiva Tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	86
FOTOGRAFÍA No. 2	Proceso de ordeño de los bovinos propiedad de la unidad productiva tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	86
FOTOGRAFÍA No. 3	Diagnóstico de mastitis mediante la prueba de CMT (california mastitis test) en el hato propiedad de la unidad productiva Tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	87
FOTOGRAFÍA No. 4	Toma de muestras de leche de los bovinos con mastitis subclínica propiedad de unidad productiva Tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	87
FOTOGRAFÍA No. 5	Transporte de las muestras de los bovinos con mastitis subclínica propiedad de unidad productiva Tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	88
FOTOGRAFÍA No. 6	Procesamiento de las muestras de los bovinos con mastitis subclínica propiedad de unidad productiva Tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Agosto-Octubre del 2007.....	88
FOTOGRAFÍA No. 7	Aislamiento de las bacterias causantes de mastitis subclínica bovina laboratorio de microbiología.	

	Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre- 2008.....	89
FOTOGRAFÍA No. 8	Identificación de las bacterias causantes de mastitis subclínica bovina laboratorio de microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Noviembre- 2008.....	89
FOTOGRAFÍA No. 9	Preparación de diluciones de bacterias para las pruebas “ <i>in vitro</i> ”. Laboratorio de microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Diciembre 2007-Marzo 2008.....	90
FOTOGRAFÍA No. 10	Siembra a profundidad con agar soya triptica de las diluciones de bacterias más nano plata de diferentes concentraciones para determinar la actividad antimicrobiana. Laboratorio de microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Diciembre 2007-Marzo 2008.....	90
FOTOGRAFÍA No. 11	Contage de las UFC/mL para determinar la actividad antimicrobiana. Laboratorio de microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Diciembre 2007-Marzo 2008.....	91
FOTOGRAFÍA No. 12	Tratamiento “ <i>in vivo</i> ” de nano plata sobre los bovinos de leche con mastitis subclínica propiedad de unidad productiva Tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Abril-Mayo 2008.....	91
FOTOGRAFÍA No. 13	Evaluación con CMT post tratamiento “ <i>in vivo</i> ” de nano plata sobre los bovinos de leche con mastitis subclínica propiedad de unidad productiva Tunshi Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba. Abril-Mayo 2008.....	92

ÍNDICE DE ANEXOS

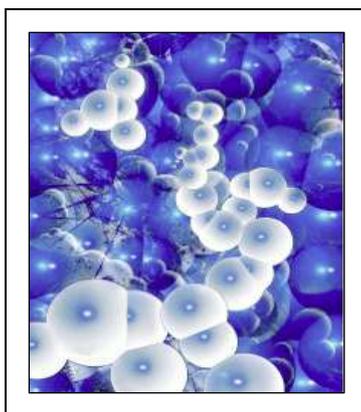
ANEXO No. 1	Resultados de la evaluación de mastitis subclínica mediante CMT en los bovinos de la unidad productiva tunshi.....	68
ANEXO No. 2	Resultados de diagnostico de mastitis respecto a los cuartos evaluados.....	70
ANEXO No. 3	Resultados de incidencia de mastitis subclinica en los bovinos de leche propiedad de la unidad productiva Tunshi.....	70
ANEXO No. 4	Bovinos con mastitis subclínica seleccionados para las pruebas “ <i>in vitro</i> ” e “ <i>in vivo</i> ”.....	71
ANEXO No. 5	Microorganismos aislados de las muestras de leche tomadas de los bovinos con mastitis subclínica propiedad de la unidad productiva Tunshi.....	72
ANEXO No. 6	Análisis estadístico de los resultados “ <i>in vitro</i> ” de <i>Staphylococcus aureus</i>	73
ANEXO No. 7	Análisis estadístico de los resultados “ <i>in vitro</i> ” de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	76
ANEXO No. 8	Análisis estadístico de los resultados “ <i>in vitro</i> ” de <i>Escherichia coli</i>	79
ANEXO No. 9	Análisis estadístico de los resultados “ <i>in vitro</i> ” de <i>Bacillus</i> sp.	83
ANEXO No. 10	Anexo 10. Fotografías.....	86

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

NANOTECNOLOGÍA

La Nanotecnología es una ciencia que rápidamente está creciendo en producir y utilizar partículas de nano tamaño que se miden en nanometros ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Un nano material que está teniendo un primer impacto en productos del cuidado de la salud es la nano plata (13).



FUENTE: LA PLATA NANOPOROSO - UN ANTIBIÓTICO UNIVERSAL,2006

FIGURA 1: UN ANTIBIÓTICO DE AMPLIO ESPECTRO SIN EFECTOS SECUNDARIOS

En la escala nanométrica (entre uno y cien nanómetros), los materiales pueden exhibir muy diferentes propiedades que los mismos materiales de la misma composición pero de escala mayor. Propiedades tales como fuerza, conductividad, color y toxicidad pueden cambiar en la escala nanométrica y las propiedades pueden cambiar dentro de dicha escala también (11).

La nanotecnología opera en la misma escala que la biología. Una molécula de ADN es de unos 2.5 nm de ancho y la hemoglobina (la proteína de la sangre que es responsable del

transporte de oxígeno) es de unos 5 nm de diámetro. Las células humanas son mucho más grandes en el orden de las 10-20 micras en diámetro (10 mil a 20 mil nanómetros) lo que significa que los materiales y dispositivos nano escalares pueden penetrar con facilidad en casi todas las células sin activar respuesta de inmunidad alguna (13).

La nanotecnología es descrita por algunos como la “tecnología transformadora del siglo XXI”. Los expertos predicen que la nanotecnología revolucionará la manufactura en todos los sectores de la industria y eventualmente “impactará la producción de virtualmente todos los objetos fabricados por humanos”. La medicina es justamente un sector que será profundamente influido por los materiales y dispositivos nanoescalares (11).

1.1.1. FÁRMACOS DE PEQUEÑA ESCALA

La nanotecnología ya cambió el modo de formular algunos medicamentos y, en ciertos casos, reformularlos. Cuando un compuesto farmacéutico es formulado como nano partícula, aumenta su nivel de disponibilidad biológica. En otras palabras, el cuerpo puede absorber un compuesto, así formulado, más pronto y fácil y como tal utilizarlo más eficazmente si el compuesto existe en una escala más cercana a la escala en que ocurren los procesos biológicos (11).

El nivel de disponibilidad biológica de una droga es uno de los elementos importantes para determinar su eficacia. Una firma de investigación de mercados calcula que 65 mil millones de dólares de los ingresos anuales procedentes del mercado de medicamentos (casi 16 por ciento de las ventas totales de la industria farmacéutica) provienen de fármacos que cuentan con poca disponibilidad biológica, lo que propicia más altos costos para los pacientes, tratamientos ineficaces y un mayor riesgo de toxicidad (11).

Elan Corporation, con sede en Dublín, Irlanda, ha desarrollado un proceso patentado para “moler” compuestos farmacéuticos y producir pequeñas partículas (comúnmente menores a 100 nm) que cuentan con una disponibilidad biológica mayor y tasas de absorción más veloces, según informes de la propia compañía. Elan afirma también que

las drogas nanológicas recién formuladas eliminan la “variabilidad ayuno/saciedad” (es decir, que importa menos si la droga se toma junto con los alimentos). Las grandes compañías farmacéuticas como Wyeth, Merck y Abbot ya le entregaron sus compuestos patentados a Elan para que los “muela” (11).

En la mayor parte de los casos, las drogas ya contaban con la aprobación de la FDA estadounidense en sus formulaciones de mayor tamaño, y mientras las compañías puedan demostrar su “bioequivalencia” que la diferencia en la acción de la droga entre su antigua y su nueva formulación es “medicamento insignificante”, la nueva versión nanológica no es sometida a un más escrutinios regulatorios, como lo sería si se pidieran más pruebas clínicas (11).

1.1.2. MERCADO NANOLÓGICO

A nivel mundial, la investigación nanotecnológica y su desarrollo en todos los sectores fue en 2005 de 9 600 millones de dólares aproximadamente. Aunque las compañías, los políticos y los medios la citan con frecuencia como el área más promisoría de la investigación nanotecnológica, de hecho la medicina nanológica ha recibido menos financiamiento que otros sectores, tales como la nanoelectrónica y los nano-materiales (11).

En las primeras épocas de la nanotecnología (en 2001), la Fundación Nacional de Ciencia (NSF por sus siglas en inglés) de Estados Unidos predijo que la nanotecnología “ayudará a prolongar la vida, mejorar su calidad y expandir las capacidades físicas humanas”, y que para 2010 o 2015 la mitad de toda la producción farmacéutica más de 180 mil millones de dólares por año dependería de la nanotecnología (11).

La terapéutica nanoscópica (como la nano-plata para cubrir heridas) representa millones de dólares en 2005 y alcanzará los 310 millones en 2010 (11).

La nanotecnología es una industria naciente pero las drogas y los dispositivos médicos que se habilitan nanológicamente están ya en el mercado, y hay más que nos llega por los

conductos de la minúscula tecnología: según *NanoBiotech News*, el camino de la nanomedicina y sus dispositivos nanométricos creció repentinamente 68% entre 2005 y 2006. Es así que entre las diversas drogas que se encuentran en el mercado están: (11).

TABLA No 1. DROGAS/PRODUCTOS MÉDICOS NANOLÓGICOS APROBADOS POR LA FDA

Producto/fabricante	Aprobación de la FDA	Propósito
<i>Abraxane</i>	American BioScience, Inc Enero de 2005	Nano-partículas que contienen <i>paclitaxel</i> , que aumenta la cantidad de droga anticancerosa disponible, para matar células cancerígenas en mama
<i>Emend</i> Merck —tecnología bajo licencia de Elan	Aprobado	Versión nano-particulada del medicamento <i>Aprepitant</i> , un antiemético, utilizado para prevenir la náusea en los pacientes de cáncer que reciben quimioterapia
<i>Rapamune</i> Wyeth —tecnología bajo licencia de Elan	2000	Formulación nano-particulada de Sirolimus (<i>Rapamune</i>) para prevenir el rechazo en pacientes que reciben transplantes de órganos.
<i>Silcryst</i> Nucryst Pharmaceuticals/ producto distribuido por Smith&Nephew como <i>Asticoat</i>	Disponible comercialmente desde 1998. La FDA lo aprobó para su uso sin prescripción en 2001.	Plata nano-cristalina incorporada en los recubrimientos de las heridas por sus propiedades antimicrobianas.
<i>SilvaGard</i> AcryMed, Inc.	Diciembre de 2005	Catéter recubierto con nano-partículas antimicrobianas de plata para el uso interno en el cuerpo.

FUENTE: ETC GROUP, NANOTECNOLOGIA.; Medicina Nanológica. 2006

1.1.3. APLICACIONES DE LA MEDICINA NANOLÓGICA (SUMINISTRO DE MEDICAMENTOS, IMAGENOLOGÍA Y DIAGNOSTICO)

Son vastas las aplicaciones potenciales de la nanotecnología en el campo de la medicina. Entre las áreas más intensivas de la nanomedicina y su investigación y desarrollo actuales (que implican productos comerciales) están: suministro dirigido de fármacos, terapias habilitadas nanológicamente, imagenología y diagnóstico. Debe notarse que el suministro de fármacos, la imagenología y el diagnóstico no siempre son sectores distintos (11).

NANO PARTÍCULAS TERAPÉUTICAS

Los productos médicos que incorporan plata nanoescalar están entre los primeros éxitos comerciales de la nanotecnología. Aunque las propiedades antimicrobianas de la plata son conocidas hace miles de años, el incremento en el área superficial de las nanopartículas de plata diseñadas con ingeniería nanológica (de 1 a 100 nm) las torna más reactivas químicamente y resalta sus propiedades terapéuticas (11).

Nucryst Pharmaceuticals (una subsidiaria de Westaim Corporation) fabrica recubrimientos de heridas y quemaduras impregnados con plata nanoscópica con el fin de combatir la infección y la inflamación. La plata mata las bacterias y los virus al impedir el transporte de electrones en los microbios y desfasar la replicación celular cuando entra en contacto con el ADN (11).

Los iones de plata (átomos que tienen una carga eléctrica debido al cambio en el número de electrones) pueden perturbar las estructuras microbianas y sus funciones. Smith & Nephew, una de las firmas de equipo médico más grandes del mundo, vende los recubrimientos de heridas con capa de plata de Nucryst en treinta países, con el nombre de Acticoat, efectivo contra 150 patógenos, incluidos algunos microorganismos resistentes (11).

La demanda de recubrimientos antimicrobianos crece debido a que, con mucha rapidez, diversas bacterias se están volviendo resistentes a los antibióticos.

Johnson & Johnson, Bristol-Myers Squibb y Medline Industries, entre otras compañías, comercializan ya productos médicos basados en plata nanoscópica. Pero los recubrimientos de heridas son sólo el principio (11).

1.2. NANO PLATA

El poder de la nano plata como una sustancia antimicrobiana efectiva no puede negarse. El hecho que la plata es un agente que combate la infección, en varias formas, es muy compatible para el uso con el cuerpo humano que se ha establecido durante siglos. Este hecho ha sido hace tiempo científicamente demostrado y nuevamente durante los últimos ochenta años (8).

El uso antibiótico de la plata data de antiguas culturas, no es casual que se usaran recipientes de plata para almacenar y servir el agua. Se ha usado también en filtros de agua y combinada con otras sustancias como ungüento para prevenir y curar infecciones (33).

La plata es un metal antimicrobiano seguro y eficaz. Particularmente, producto de la nanotecnología, la nano plata exhibe actividad antimicrobiana germicida potente debido al aumento en el área superficial. Numerosas investigaciones dan resultados que la nano-plata mata aproximadamente a 650 tipos de microorganismos incluyendo hongos (3) (48).

1.2.1. DEFINICIÓN

Nano plata es agua pura des-ionizada con plata (Ag) en suspensión. Aproximadamente el 80% de la plata está en forma de nano partículas de plata metálica. La plata restante está en forma iónica. Las partículas de plata en nano plata se encuentran entre 20-30 nm de

diámetro y por consiguiente demasiado pequeño para ser considerado una suspensión "coloidal". Ello es más bien, una " nano-suspensión," un estado mucho más estable (41).

Debido al tamaño pequeño de las partículas, el área de la superficie total de la plata expuesta en solución se aumenta al máximo, produciendo un efecto superior por unidad de plata. Como resultado, la concentración de 20 ppm de nano plata proporciona más efectividad dentro del cuerpo que las soluciones de mayor concentración de plata coloidal (41).

1.2.2. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

Personal de la Brigham Young University, han demostrado concluyentemente que la plata es letal a una gran variedad de bacterias y virus. El ántrax, HIV, y *Staphylococcus* resistente a antibiótico y *Pseudomonas* están entre los organismos innumerables que caen al poder de la nano plata (8).

Ejemplos de estos microorganismos son: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente a methicillin, *Chlamydia trachomatis*, *Pneumobacillus*, *Bacillus* nitrato negativo, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas maltophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Bacillus subtilis*, *alkaligenes*, *Streptococcus hemolyticus* B, *Citrobacter*, *Salmonella paratyphi* C, entre otros microorganismos (49).

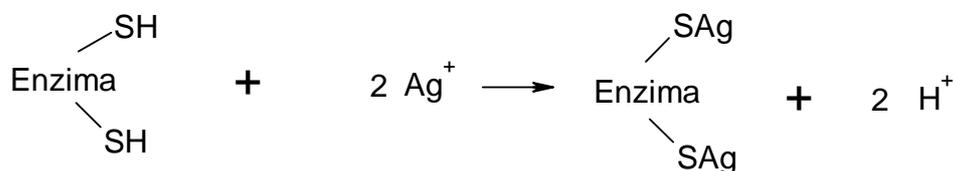
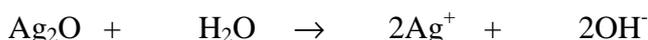
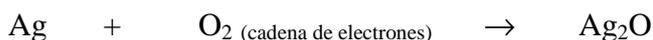
1.2.3. DOSIS USUAL

La recomendación típica es de 5 mL, que contiene 10 partes por millón (ppm) o 50 microgramos de plata. Esta cantidad coincide con la cantidad promedio de plata que se consume en los alimentos y el agua, unos 350 µg al día en la mayoría de las personas. Sin embargo, se sabe poco acerca de la absorción relativa y la toxicidad de la nano plata, en comparación con las de la plata presente naturalmente en nuestra dieta (28) (29).

1.2.4. MECANISMO DE ACCIÓN

A diferencia de los antibióticos farmacéuticos, que destruyen también a las enzimas benéficas, la nano-plata deja estas enzimas de las células de tejido intactas, pues son radicalmente diferentes de las enzimas de los organismos unicelulares más primitivos. Así, la nano-plata es absolutamente segura para los seres humanos, reptiles, plantas y toda la materia viva multicelular. Es importante también, recalcar que la nano-plata no ha demostrado interactuar o interferir con otras medicinas ingeridas. Dentro del cuerpo, la plata no forma compuestos tóxicos ni reacciona con otra cosa que con la enzima metabolizadora de oxígeno (3).

Su mecanismo se puede explicar con las siguientes reacciones químicas:



Cuando la plata metálica está en contacto con la enzima metabólica de oxígeno de un microorganismo esta puede ionizarse o formar óxido de plata, este óxido interactúa con el agua, se ioniza para producir plata iónica. Finalmente cuando la plata iónica interactúa con los grupos sulfhidrilos (-SH) de la enzima de los microorganismos útil para su mecanismo de respiración, esto forma un enlace -SAg, lo cual bloquea la actividad enzimática e impide su respiración y por lo tanto provoca la muerte del microorganismo (50).

Las altas concentraciones de plata no matan a los gérmenes de la enfermedad con más eficacia que la gama extra segura de 3 a 5 ppm (3).

1.2.5. CARACTERISTICAS DE LA NANO PLATA

La nano plata es tan clara como el agua, puede ser mantenido en botella clara porque no puede ser dañada por la luz, y es tan pequeña que puede incluso ser absorbida directamente a través de la piel (24).

Otra característica de la nano plata es que amplifica su efectividad dentro del cuerpo respecto a la de productos comunes de plata coloidales que están en un alto porcentaje en forma de partículas (metálicas) de plata. Esta relación es importante porque la plata iónica se vuelve cloruro de plata en el estómago o torrente sanguíneo. Solo las partículas metálicas sobreviven al ácido clorhídrico del estómago para permanecer eficaz dentro del torrente sanguíneo y tejido del cuerpo (41).

Combinando una alta concentración de partículas con un tamaño ultra pequeño resulta una solución de plata sin igual. Haciendo una comparación matemática entre nano plata y las soluciones de plata coloidales comunes revelan un sorprendente contraste en el área superficial de la partícula y por consiguiente indica una mayor efectividad (41).

1.2.6. EJEMPLOS DEL PODER DE LA NANO PLATA

Es fácil de ver la ventaja del tamaño de la partícula de nano plata en este ejemplo. Una bacteria de *Staphylococcus* es aproximadamente 40 veces el tamaño del Rhinovirus (25 nm) es una víctima fácil de la nano plata (41).

Sólo en los últimos años la nano-tecnología ha empezado a evolucionar dentro de una costosa ciencia. Sólo hasta ahora la nano plata ha llegado como ayudante del sistema inmune natural, aunque ya existía en los antiguos días de la humanidad, donde era abundante en su forma metálica. Para la función óptima de la inmunidad del cuerpo, todos necesitan que la nano plata circule en su torrente sanguíneo (41).

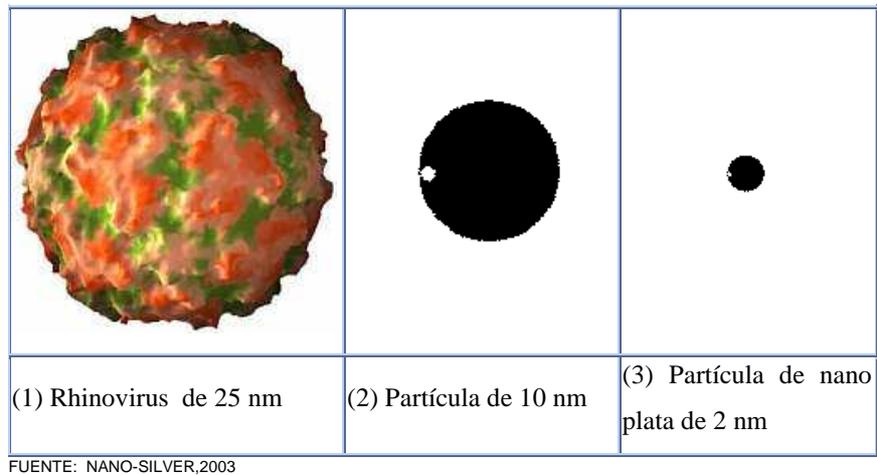


FIGURA 2. COMPARACIÓN DEL DIAMETRO DE LA PARTICULA DE NANO PLATA

1.2.7. PROPIEDADES DE LA NANO PLATA

La nano plata es:

- Sumamente eficaz
- Rápida acción
- No venenoso
- No estimulante
- No alérgico
- Tolerancia libre
- Hidrofílico (13).

Las propiedades de nano plata, entonces, restan completamente cualquier preocupación con Argyria u otras preocupaciones de toxicidad percibidas (41).

1.2.8. MODOS DE APLICACIÓN Y USOS

La nano plata puede aplicarse a una gama de productos del cuidado de la salud como preparaciones para las quemaduras, escaldado, donante de piel y sitios del receptor; yesos quirúrgicos y heridas por trauma; gel acuoso para las manchas, acné y llagas de la cavidad; y los productos de higiene femenina (13).

Es prácticamente insípido y puede tomarse oralmente en condiciones tales como: parásitos, candidas, herpes, fatiga crónica, presencia de *Staphylococcus* y *Streptococcus*, herpes zoster, y más de 650 enfermedades virales y bacterianas (30) (37).

Entre los usos que se le da tenemos:

- Duchas vaginales y enemas: Adicionar 10 mL de nano plata en 2 L de agua o proporcional a la cantidad de agua que se use.
- Purificación del agua: Agregar unos 20 mL de nano plata por galón de agua. Esperar unos 6 minutos y agitar de nuevo; esperar otros seis minutos y ya quedará lista para beber.
- Usos veterinarios: Dependiendo del tamaño del animal, use un gotero para adicionar la nano plata en la boca directamente o simplemente en la comida o agua.
- Usos Agrícolas: Para todos los ataques bacterianos, fúngicos (hongos) y vírales en plantas, diluya 5 mL por cuarto de galón y rocíelas (36) (40).

1.3. MASTITIS BOVINA

El término de mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria en la vaca, lo que provoca la alteración de las características físicas, químicas y bacteriológicas de la leche y la modificación del tejido glandular. El término deriva del griego “mastos”, ubre e “itis”, inflamación (6) (18).

Por lo tanto, se produce una reducción en la cantidad de leche producida. Aunque la mastitis ocurre esporádicamente en todos los mamíferos, adquiere mayor importancia económica en las vacas lecheras y es, sin duda, la enfermedad más grave con la cual debe enfrentarse la industria lechera (6).

La enfermedad puede aparecer como mastitis subclínica, es decir sin síntomas apreciables, o bien como mastitis clínica, con signos evidentes de la enfermedad (tumefacción o endurecimiento del sector mamario correspondiente, alteraciones de la

leche, etc.). La inflamación es la reacción del organismo ante los elementos desencadenantes del proceso como bacterias y sus toxinas, parásitos, productos químicos, acciones mecánicas (golpes, choques, presiones), calor, frío, etc., Mediante la inflamación, el organismo intenta eliminar las influencias patógenas (16).

El rebaño con problemas de mastitis se puede definir como aquél que presenta una tasa elevada de mastitis clínica y subclínica, una elevada cuenta celular, o un alto nivel de bacterias en la leche del rebaño. La razón de tales problemas suele ser compleja. Entre las condiciones que se observan con mayor frecuencia se cuentan las malas prácticas de higiene, el albergue defectuoso, las máquinas ordeñadoras en mal estado de funcionamiento, métodos de ordeño incorrectos y procedimientos de tratamientos inadecuados (44).

1.3.1. CUADROS CLÍNICOS

Las inflamaciones clínicas de las ubres son conocidas por todos los veterinarios. Mucho más frecuentes (20 a 50 veces más) son las mastitis subclínicas. Los signos externos de la enfermedad son las manifestaciones de la inflamación. Los síntomas son de muy diversa índole y van desde el mayor contenido celular de la leche a signos graves como hinchazón, endurecimiento y dolor de la ubre así como fiebre, falta de interés de la comida y permanencia inmóvil del animal. Cuanto más acentuados son los síntomas más grave es la enfermedad. De acuerdo con la sintomatología, pueden diferenciarse dos formas de mastitis, la subclínica y la clínica (16).

1.3.1.1.MASTITIS SUBCLÍNICA

Las mastitis subclínicas evolucionan sin signos inflamatorios externos. Los signos más importantes de la mastitis subclínica son el aumento del contenido celular de la leche y la presencia de los microorganismos causales en la ubre. Los gérmenes habituales son *Staphylococcus* y *Streptococcus*. La enfermedad se comprueba mediante examen del contenido celular de muestras de leche y el estudio bacteriológico (16).

Las mastitis subclínicas son, en la actualidad, la forma predominante. Al no ser detectadas constituyen un auténtico peligro para el estado sanitario de las vacas, ya que con la leche se eliminan gérmenes que serán transmitidos a otras vacas sanas a través de los útiles de ordeño. Las mastitis subclínicas pueden convertirse en mastitis clínicas (agudas o crónicas). En ello estriba su importancia, junto al peligro que representa para la vacada y la pérdida de la producción lechera (16).

La reducción en la producción de leche debido a mastitis subclínica tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas. El control de las mastitis subclínicas es más importante que el simple tratamiento de los casos clínicos ya que: las vacas que poseen casos subclínicos son reservorios de organismos que conducen a infecciones de otras vacas (22).

Una forma especial de la mastitis subclínica es la irritación de la ubre o alteración de la secreción (mastitis aséptica). La irritación de la ubre se reconoce en la elevada cantidad de células que la leche contiene. Las vacas con trastornos de la secreción son particularmente sensibles a la infección por gérmenes de la mastitis, de forma que en ellas es frecuente la aparición de mastitis clínicas o subclínicas (16).

1.3.1.2.MASTITIS CLÍNICA

Las mastitis clínicas se reconocen por la existencia de signos visibles de la inflamación. Los síntomas van desde discretas variaciones de la norma (disminución de la cantidad de leche del cuarto afectado y ligera alteración de la leche) hasta la completa desaparición de los caracteres propios de la leche, pérdida de la producción de la misma y trastornos graves del estado general (16).

En los casos de mastitis clínica, el cuarto infectado en general se inflama, en algunas vacas se encuentra dolorido al tocarlo, la leche se encuentra visiblemente alterada por la presencia de coágulos, descamaciones, o suero descolorido y algunas veces sangre (22).

Los síntomas clínicos, es decir, visibles, son siempre indicativos de una enfermedad grave, cuya evolución no es previsible. De acuerdo con el curso evolutivo de la enfermedad y el grado de la sintomatología, pueden diferenciarse tres formas de mastitis clínicas: Subaguda, Aguda y Crónica (16).

a. MASTITIS SUBAGUDA

El término subaguda describe una evolución relativamente leve y con frecuencia solapada de la enfermedad. Las alteraciones de la ubre de la vaca son poco intensas y consisten generalmente en una disminución de la cantidad de leche producida con ligeras alteraciones de sus propiedades (leche acuosa, con grumos, etc.) (16).

b. MASTITIS AGUDA

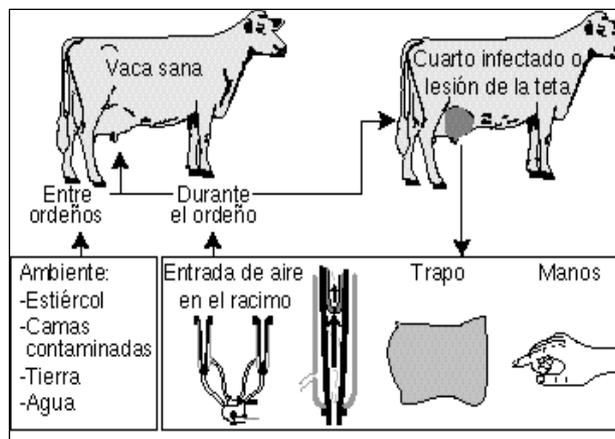
Las mastitis agudas evolucionan con acusada sintomatología inflamatoria. En la ubre, se aprecian, con mayor o menor intensidad, hinchazón, enrojecimiento, temperatura superior a la normal y endurecimiento de los tejidos. La producción de leche se ve considerablemente disminuida. La leche, que es difícil de extraer y solo en pequeñas cantidades, presenta alteraciones visibles, puede ser acuosa, serosa, sanguinolenta, mucosa, purulenta, pastosa, etc (16).

c. MASTITIS CRÓNICA

Se designa como mastitis crónica la inflamación de la ubre de larga evolución, a menudo solapada, sin alteración del estado general. La leche no siempre está alterada visiblemente. A veces presenta pequeños grumos o bien es de color azulado, aunque también puede tener aspecto mucoso o una coloración amarillenta, parda o grisácea. Las vacas con mastitis crónicas son fuente de infección para el resto de las vacas. Por esto debe ordeñarse en último lugar y se recomienda el sacrificio. Bajo la influencia de factores ambientales desfavorables, las mastitis crónicas pueden sufrir un proceso de agudización (16).

1.3.2. ETIOLOGÍA

En un intento por controlar los diferentes tipos de infecciones, 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 (22).



FUENTE: MASTITIS. LA ENFERMEDAD Y SU TRANSMISIÓN, 2008

FIGURA 3: TRES DE LAS PRINCIPALES RUTAS DE TRANSMISIÓN BACTERIANA DURANTE EL ORDEÑO

La causa inmediata de la formación de una mastitis es la infección de la ubre por gérmenes patógenos específicos. El riesgo de infección se acrecienta con la intensa proliferación del germen y su gran capacidad de contagio. Los gérmenes más importantes de la inflamación de la ubre son: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, Coliformes, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* y levaduras. Gérmenes menos frecuentes son los *Mycoplasmas*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Aerobacter*, *Bacillus cereus*, *Nocardia*, hongos, etc (16).

1.3.2.1. *Streptococcus*

Son unos de los gérmenes más frecuentes de todo los responsables de la mastitis. La infección producida por este microorganismo es generalmente crónica e identificada por medios bacteriológicos (16).

El *Streptococcus agalactiae* es el único microorganismo patógeno para la glándula que depende de esta para subsistir; muere al ser expuesto a la piel normal de la ubre y fuera de la glándula sobrevive poco tiempo. Su transmisión es de las vacas contaminadas a otras, pero puede ser adquirido por terneras al mamarse y al ser alimentadas con leche cruda de vacas positivas, que transmiten mecánicamente la infección. *Streptococcus agalactiae* no es un invasor activo y se multiplica en la leche y en la superficie de la cisterna y conductos galactóforos, produciendo una sustancia irritante que causara una reacción inflamatoria al tejido afectado y generalmente el padecimiento es subclínico (34).

Este organismo puede infectar también la ubre de una ternera joven si ha sido alimentada con leche contaminada. La infección permanece en forma indefinida en la glándula mamaria de la novilla. EL *Streptococcus agalactiae* puede ser erradicado del hato con un tratamiento apropiado combinado con buenas prácticas de manejo. Aún así, se puede llegar a diseminar fácilmente en el hato luego de la compra de un animal infectado (22).

El *Streptococcus dysgalactiae*, existe en el medio ambiente y ha sido aislado, el primero, de las tensillas, lesiones en la piel de la ubre y descargas del tracto reproductor, y el segundo también se ha aislado de los belfos, órganos sexuales y del suelo. Estos microorganismos no dependen de la glándula mamaria para subsistir y en la menor oportunidad invaden a está, por ello la erradicación es difícil de lograr (34).

1.3.2.2. *Staphylococcus*

Son cocos Gram positivos, aerobios, que se presentan en racimos, catalasa positiva, no poseen movimiento, no forman esporas y son fermentativos, se le considera la causa más común de infecciones localizadas supuradas de la ubre (16).

Los estafilococos se hallan también en las proximidades del animal y en la piel del mismo; no obstante, se concentra principalmente en la glándula mamaria infectada. Seguido de los estreptococos estos son los gérmenes más frecuentes. Los transmisores habituales son los utensilios del ordeño, los trapos y las manos del ordeñador (16).

Este grupo incluye *Staphylococcus aureus*, el cual es la causa de mastitis contagiosa subclínica y crónica, este microorganismo contiene enzimas que le permiten degradar proteínas, carbohidratos y grasas, de tal forma que puede obtener recursos para subsistir en un variado medio ambiente (34).

Este patógeno produce una serie de metabolitos que posiblemente son los que intervienen en las enfermedades y en el caso de la mastitis se señalan (34).

- Leucocidina: mata los leucocitos es antigénica no es hemolítica; se encuentra acompañada de toxinas alfa y delta y rompen la pared celular.
- Lipasas: las cepas positivas a esta enzima tienden a producir absceso cutáneo y subcutáneo y destruyen los ácidos grasos protectores de la piel produciendo infecciones generalizadas cuando son positivas.
- Hialuronidasa: es un factor de diseminación que puede intervenir en la virulencia.
- Enterotoxinas: casi un tercio de *Staphylococcus coagulasa* positiva la produce y es la responsable de náuseas, diarreas y contracciones abdominales; estos signos se presentan cuatro horas después de haber ingerido alimentos contaminados, por tal razón la leche que contenga *Staphylococcus aureus* debe ser considerada como un riesgo para el consumo humano (34) (39).

Entre otros estafilococos presentes están *Staphylococcus epidermidis*: estos no son patógenos y son comensales comunes de la piel; se encuentran en la naturaleza y no son patógenos (34) (39).

1.3.2.3. Coliformes.

Los gérmenes coliformes pueden estar presentes en cualquiera de las partes que rodean al animal. Se hallan tanto en el mismo animal (por ejemplo, intestino) como en sus alrededores. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama Una recogida

poco higiénica de la leche suele ir acompañada de una intensa presencia de colibacilos. Las mastitis por *E. coli* son muy frecuentes inmediatamente después del parto y también durante la lactación (1) (22).

Los coliformes pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. A diferencia de las bacterias descritas previamente, los coliformes 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. Las vacas libres de otras bacterias causantes de mastitis (*Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias coniformes (22)

1.3.2.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Infección persistente ocasionada por *Pseudomonas aeruginosa*, El germen se halla en el suelo y en el agua, multiplicándose allí donde existe suficiente humedad. Las fuentes más frecuentes de infección son el agua contaminada, los utensilios sucios y la falta de higiene en el ordeño; puede desarrollarse mastitis subclínica o mastitis peraguda severa con alto índice de mortalidad (1) (21).

1.3.2.5. *Corynebacterium*

Se observa comunmente en los procesos supurantes como invasor secundario, la inflamación produce un exudado profuso, purulento y de mal olor. Los insectos pueden transmitir esta infección. Las vacas son tratadas al secarse pero generalmente se pierden los cuartos infectados (1) (21).

1.3.2.6. *Bacillus*

Es el único bacilo aerobio capaz de esporular, constituyendo la disposición de la espora en sus células un rasgo taxonómico. Al ser los *Bacillus* unas bacterias extraordinariamente abundantes en el suelo, aire, etc., conviene saber distinguir al

patógeno de las otras especies, que esporádicamente contaminan los medios de cultivo en el laboratorio (1).

Los *Bacillus* se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y pueden llegar a la leche por diversas vías. Revisten una gran importancia para la industria alimentaria, debido principalmente a la producción de toxinas, la producción de una proteasa extracelular y fosfolipasa que suelen causar deterioro de los alimentos; así como, por la formación de esporas termo resistente, en si son bacterias de contaminación ambiental y no están involucradas como causa de mastitis subclínica bovina (12).

1.3.3. ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

La ubre es un gran cuerpo glandular, el cual sirve para la nutrición del becerro y consta de cuatro cuartos. Cada cuarto representa una unidad. Ello da como resultado que la enfermedad mastitis puede estar confinada a un cuarto, cada cuarto de la ubre consta del cuerpo glandular y el pezón (47).

El sistema de defensa de la ubre se realiza a través de la sangre y los vasos linfáticos del cuerpo. Los factores de defensa son en primer lugar inespecíficos, pero también pueden ser específicos. Además posee un mecanismo de defensa local, el cual puede evitar la entrada de un agente patógeno extraño, del canal del pezón hacia el sistema de conductos de la ubre, de esta forma se le protege de una infección (47).

1.3.3.1.PATOGÉNESIS DE LA MASTITIS.

La velocidad, el carácter y la intensidad de los síntomas clínicos así como la duración y terminación de la inflamación de la ubre está determinada por:

La patogenicidad y virulencia del agente causal.

Los mecanismos de defensa de la vaca.

El nivel funcional de la glándula mamaria.

Y eventualmente la efectividad de un tratamiento.

Independientemente de que agente patógeno sea el causante de la mastitis, existe una frase muy válida. La Mastitis es una enfermedad de factores (47).

1.3.3.2.FACTORES DE LA MASTITIS

a. DAÑOS EN LOS PEZONES.

Si el canal del pezón es lesionado, literalmente se abre la puerta a la invasión de patógenos. Este canal puede lesionarse debido a:

- Heridas en los pezones (por manejo deficiente).
- Una ordeña muy brusca (defectos técnicos en el aparato de ordeña, los plásticos muy viejos, una ordeña ciega, defectos o deficiencias en la máquina de ordeño etc.,) (47).

b. ELEVADA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS.

Con este término queremos decir que hay una gran cantidad de bacterias en el sitio (además de otros microorganismos). Las concentraciones ambientales elevadas de bacterias hacen que el mecanismo de defensa de la ubre se debilite.

Este problema puede ser debido a:

- Un ambiente muy antihigiénico en el establo.
- Una higiene deficiente en la ordeña.
- Una higiene deficiente de los pisos y superficies (las bacterias se reproducen mejor en los medios húmedos y cálidos) (47).

c. DEFICIENCIAS EN LA ALIMENTACIÓN.

Debido a las deficiencias en la alimentación, las vacas débiles son presa fácil de una infección en la ubre. Algunos tipos de deficiencia alimenticia, es decir errores en la alimentación conducen a enfermedades en la ubre (47).

También debido a la engorda de vacas viejas en ordeña y en las vacas secas, por una deficiencia de energía en el pico de la lactación, y cuando no se le proporciona a la vaca una cantidad suficiente de vitaminas, minerales etc (47).

d. FACTORES ESTRESANTES.

Cualquier tipo de estrés puede ser dañino a la larga y lesionar el sistema inmune de la vaca. Algunos factores estresantes son por ejemplo: sobre cupo de vacas en el establo, cambiar frecuentemente el personal, deficiencias en el manejo de las pezuñas (47).

e. OTRAS ENFERMEDADES.

Cuando se presentan diferentes enfermedades, que no dañan directamente a la ubre, se puede debilitar el mecanismo de defensa contra patógenos de la mastitis (47).

1.3.4. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

Las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria (22).

1.3.4.1. INVASIÓN DEL PEZÓN

El pezón en sí es la primera línea de defensa contra la penetración de bacteria dentro de la ubre. Normalmente, el esfínter cierra el canal del pezón fuertemente cuando la vaca no es ordeñada.

La invasión del pezón se presenta generalmente durante el ordeño. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados dentro del canal del pezón y de la cisterna cuando existe la entrada indeseable de aire en la unidad de ordeño (desprendimiento o pérdidas de la unidad o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado el vacío).

Luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto. Los organismos del ambiente (materia fecal, cama, etc.) o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcialmente el canal (22).

1.3.4.2.ESTABLECIMIENTO DE LA INFECCIÓN E INFLAMACIÓN DEL ÁREA DAÑADA

Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos; otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche. Las bacterias pueden enfrentarse con leucocitos (células blancas de la leche) presentes naturalmente en bajas cantidades en la leche. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aún así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche (22).

1.3.4.3.DESTRUCIÓN DEL TEJIDO ALVEOLAR

Algunas veces los microorganismos son eliminados rápidamente y la infección se aclara. En este caso, los conductos tapados se abren y la composición y producción de leche retorna a la normal en varios días. Aún así, a medida que la infección persiste y los conductos se mantienen tapados, la leche encerrada hace que las células secretoras pasen a una etapa de descanso (sin producir) y el alvéolo comienza a reducir su tamaño. Por lo tanto a medida que la enfermedad progresa el número de células somáticas en la leche se eleva y se asocia con una reducción (permanente) en la producción de leche (22).

1.3.5. PRUEBAS DE DIAGNOSTICO

Los métodos de detección de mastitis son una herramienta que permite identificar el tipo de infección clínica o subclínica que puede presentarse dentro de un hato lechero, por lo

que el método que se elija para determinar las pruebas será esencial para tener un diagnóstico más preciso. Para el control del estado de la ubre y de la leche, y demostrar la existencia de afecciones de la ubre se puede efectuar los siguientes indicadores: (16) (26).

1.3.5.1.INSPECCIÓN DE LA UBRE

El control de la ubre por el veterinario se designa exploración clínica. La inspección de la ubre puede revelar engrosamiento o estrechamientos de alguno de los cuarterones, alteraciones de la piel y pezón y lesiones traumáticas. Si hay una inflamación aguda, el cuarterón correspondiente aparece aumentado de tamaño, es doloroso y muestra enrojecimiento con elevación de la temperatura (16).

La exploración física de la ubre se hace aplicando los métodos de:

- Inspección. Consiste en ver y observar, empleando el sentido de la vista. Puede llevarse a cabo en dos formas:
- Inmediata: Es decir a simple vista.
- Mediata. Empleando equipos de iluminación, radiología y aparatos de mensuración
- Palpación: La palpación se hace utilizando el tacto. Puede ser inmediata en la que se emplea el tacto al tocar o hacer presión, o mediata mediante cateterismo valiéndonos de una sonda o cánula o de un bisturí de campana
- Percusión. Procedimiento exploratorio como un auxiliar en la identificación de abscesos, quistes, estenosis de ductos, enfisema, etc.
- Auscultación. Es escuchar aplicando el oído. Habiendo gas entre piel y tejido celular subcutáneo al palpar la glándula, podemos escuchar por medio del sentido auditivo la crepitación que acusa la presencia del gas.
- Olfación. Este es un procedimiento de exploración que nos permite percibir por medio del sentido del olfato a la ubre, así como a las muestras de leche que ocasionalmente tienen olores característicos, que sugieren alteraciones y etiologías específicas (23).

1.3.5.2.EXAMEN DE LA LECHE

El examen de la leche y de la secreción seca puede revelar alteraciones que indican claramente la existencia de trastornos de la ubre. Cada cuarterón debe examinarse por separado. La comparación entre las muestras de los cuatro cuarterones, recogidas en tubos de cristal, permitirá conocer posibles alteraciones como floculaciones, o cambios en el color y la consistencia de la leche. Las alteraciones de la leche no permiten obtener conclusiones respecto a la infección de la ubre. El diagnóstico solo es posible con el análisis bacteriológico (16).

1.3.5.3.CONTENIDO CELULAR

El estado de la ubre se establece por el contenido celular de la leche. Los test indirectos posibilitan una determinación rápida y fácil en el mismo animal y, con ello, un conocimiento de la situación del órgano. Si se desea saber la cantidad exacta de células de una muestra hay que realizar un contaje directo, lo cual solo es posible en laboratorios especializados (16).

CMT (CALIFORNIA MASTITIS TEST)

La prueba del California Mastitis Test (CMT), es una prueba que nos permite determinar la mastitis subclínica en un rebaño, es decir no existen signos clínicos que evidencien la enfermedad y sin embargo los animales son portadores. Esta prueba se conoce como CMT (7).



FUENTE: EL TEST DE CALIFORNIA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS MASTITIS, 2005.

FIGURA 4: CALIFORNIA MASTITIS TEST

El test de California se basa en la reacción de un compuesto químico que rompe las células (lisador) y deja salir su ADN fuera de la membrana celular, estos filamentos de ADN tienen tendencia a formar unas estructuras tipo gel cuando se unen unos con otros. Cuando una mama está inflamada por una infección, junto con la leche se eliminan cantidad de células, sobre todo neutrófilos, que son las responsables de proteger al órgano de las bacterias. Es un recuento indirecto de Células Somáticas Cuantas más células haya, mayor infección se ha de esperar que tenga la mama (4) (10).

Las Células Somáticas son Leucocitos o Células Blancas de origen sanguíneo, que incluyen Macrófagos, Linfocitos y Neutrófilos Polimorfo Nucleares (PMN). Por otro lado, existen dentro de las Células de la leche, otro tipo menos importante en cantidad y que se denominan como Células de Descamación, que provienen del epitelio de los conductos de leche de la glándula y que pueden variar entre 0 y 7% en diferentes reportes. Lo que indica que no son las causantes de elevación de la cuenta en vacas de lactancia avanzada (18).

La leche de una vaca sana tiene menos de 100.000 células somáticas/mL de las cuales menos del 10 % son polimorfonucleares, 66 a 88% macrófagos, 10 a 27 % linfocitos y menos de 7 % son células epiteliales (4).

Cuando se produce el proceso infeccioso se da la migración de polimorfonucleares al sitio afectado como mecanismo de defensa, aumentándose el número de las células en la leche proporcionalmente a la severidad y extensión de la lesión, con un cambio muy importante como es la inversión de la relación de polimorfonucleares/macrófagos, alcanzando los primeros hasta un 75 % (4).

Un recuento celular de 250.000/mL ya puede ser considerado como indicador de inflamación. Las formas subclínicas severas pueden superar los 5.000.000 y las clínicas casi siempre superan los 10 millones de células por mL (4).

Existen algunas diferencias entre el grado de celularidad en mastitis ocasionadas por *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Los primeros producen casi siempre una mayor

celularidad y al mismo tiempo eliminan una mayor cantidad de microorganismos debido a su localización canicular, mientras que la infección por *S. aureus*, produce celularidades en el tejido conectivo de soporte (4).

La Prueba de Mastitis California tiene los siguientes rangos de recuentos de Células Somáticas según el grado de reacción: (8).

TABLA No 2. VALORES DE REFERENCIA PARA CMT

CMT	Tipo de Reacción	RCS
Negativo	Mezcla permanece líquida	< 200.000
Trazas	Ligeramente Viscosa	150.000 – 500.000
1	Mezcla viscosa	400.000 – 1.500.000
2	Viscosidad franca	800.000 – 5.000.000
3	Gel adherido al fondo	> 5.000.000

FUENTE: COTRINO B. VÍCTOR.; Diagnóstico de Mastitis, 2007.

La prueba no tiene reacciones falsas negativas pero puede presentar reacciones falsas positivas en vacas con menos de 8 días posparto o con lactancias superiores a los 10 meses. En estos casos la reacción de viscosidad es muy similar en los 4 cuartos y es producto del incremento de células epiteliales que fisiológicamente se da en estos dos períodos de la lactancia (8).

Los niveles de sensibilidad y especificidad de la prueba se ven influenciados por el tipo de microorganismos que afecta la glándula mamaria pero en su conjunto mantiene unos porcentajes muy aceptables cuando se compara con el RCS y los aislamientos bacteriológicos que la hacen de gran utilidad para el diagnóstico de mastitis subclínica a nivel de campo (8).

El grado de CMT está directamente relacionado con el promedio del conteo de células somáticas. En esta tabla se muestra como están relacionados (25).

TABLA No 3. INTERPRETACIÓN DE LOS GRADOS DEL 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

MELLENBERGER R.; Hoja de Información de la Prueba de Mastitis California (CMT), 2004.

1.3.5.4.PAPEL INDICADOR

Con este papel se comprueba las modificaciones del pH de la leche. Según la gravedad de la mastitis, el valor pH de la leche evoluciona de normal (6,6) alcalino. El uso de papel indicador se aconseja cuando las alteraciones son muy ostensibles, por lo que en la actualidad a perdido significancia (16).

1.3.5.5.EXÁMENES DE LABORATORIO

La identificación del germen causal de una infección solo puede realizarse con un estudio bacteriológico, asociado a cultivo y/o la demostración microscópica. 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 (16).

El diagnóstico se asegura con medios selectivos de cultivo, en los que crece preferentemente una bacteria determinada. Junto a esto, el examen microscópico y las pruebas bioquímicas confirman el tipo de bacteria responsable. Los gérmenes patógenos detectados proporcionan al veterinario las bases con que iniciar el tratamiento o realizar las medidas adecuadas de saneamiento de la vacada infectada (16).

1.3.6. TRATAMIENTO DE LA MASTITIS

ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS.

- La ampicilina, un derivado de la penicilina (es muy efectiva contra un amplio espectro de microorganismos responsables de diversas enfermedades, como los neumococos, los estreptococos, los gonococos, los meningococos, el bacilo *Clostridium*.) de espectro ampliado, es generalmente incluido en formulaciones para mastitis bovina junto a cloxacilina. La resistencia a penicilina puede extrapolarse a la ampicilina ya que ambos antimicrobianos son inactivados por las beta lactamasas.
- La cloxacilina es un antibiótico frecuentemente utilizado en varios países, para el tratamiento de mastitis bovina, presenta mayor confiabilidad para detectar cepas de *S. aureus* meticilino-resistentes
- El cefacetril es una cefalosporina de tercera generación, que posee actividad buena a moderada frente a gérmenes Gram positivos y actividad ampliada frente a Gram negativos. La estabilidad del cefacetril contra beta lactamasa estafilocócica es comparable a la de la meticilina y se ha mostrado igualmente efectiva contra cepas de *S. aureus* penicilino-resistentes y sensibles.
- La combinación de penicilina y novobiocina (P+N) se ha utilizado desde hace años para el tratamiento de mastitis bovina, considerándose que posee mayor actividad que ambos agentes en forma individual.
- La pirlimicina es un análogo de la clindamicina que posee potente actividad frente a cocos Gram positivos. En esta experiencia la pirlimicina fue utilizada como representante del grupo de las lincosamidas.
- La eritromicina, la espiramicina y en menor medida la tilosina, se utilizan para el tratamiento de mastitis bovina debido a que alcanzan concentraciones efectivas en leche contra *S. aureus* por lo menos por 12 hs luego de su administración parenteral.

- La neomicina, perteneciente al grupo de los aminoglucósidos, se ha utilizado como un ingrediente en combinaciones de drogas para el tratamiento de mastitis debido a su amplio espectro antimicrobiano. Usualmente se asocia a macrólidos como la eritromicina o espiramicina, para aumentar el espectro de la formulación. También se asocia a la penicilina G, debido a que, teóricamente, ésta refuerza la acción de la neomicina (38) (5).

1.3.7. CONTROL DE LA MASTITIS

El control de las mastitis subclínicas es más importante que el simple tratamiento de los casos clínicos ya que: existe un problema de residuos de antibióticos a tener en cuenta en las mastitis en lactación, o de consumo humano (19).

El problema de las resistencias bacterianas a la penicilina ha ido en aumento con el transcurso de los años, y ha hecho necesaria la búsqueda de antibióticos alternativos o bien el incremento de las dosis para conseguir el mismo efecto. El costo de la terapia antibiótica es elevado lo que implica una cuestión de eficacia del tratamiento utilizado (19).

Los patógenos ambientales aumentado su presencia. La terapia antibiótica no se muestra excesivamente eficaz pero los resultados se ven mejorados con la utilización de tratamientos no antibióticos principalmente de antiinflamatorios (19).

1.3.8. NUEVO MÉTODO PARA COMBATIR MASTITIS

Uno de los métodos novedosos consiste en inyectar un azúcar en las ubres de vaca para movilizar la reacción del sistema inmune, lo cual podría darles a los productores una alternativa a los antibióticos para combatir mastitis (43).

Su método es basado en estudios anteriores en el laboratorio mostrando que aumentar la cantidad de células sanguíneas blancas prevendrá infección por la bacteria que causa mastitis. Cuando inyectado en las vacas lecheras no lactantes, Poly-x funciona como una

"llamada de corneta" que moviliza las células a atacar los patógenos que causan mastitis (43).

1.3.9. PREVENCIÓN DE LA MASTITIS

Se listan una serie de principios que ayudaran al productor a reducir sus índices de mastitis en sus hatos, si los aplican correctamente.

a. Ordeñar las vacas con pezones limpios y secos.

Se debe bañar a las vacas en conjunto antes del ordeño, dejándolas reposar por un rato en un lugar aparte del sitio de ordeño. Esta medida hace que se estimule el defecado y la micción, evitando que lo hagan durante el ordeño. Lavado de ubres en forma individual y secado con papel absorbente.

b. Prevenir la transferencia de patógenos durante el ordeño.

La idea principal es no hacer nada que tome bacterias de una vaca y lo lleve a otra para esto se deben usar toallas o mantas individuales en la preparación de ubres y pezones, además realizar un buen ordeño con un escurrido total de la leche de la ubre. Al finalizar el ordeño debe aplicarse un sellador en el orificio del pezón, evitando así la penetración de gérmenes que infecten la ubre.

c. Prevenir lesiones en los pezones.

Cualquier lesión terminará eventualmente en un nuevo caso de mastitis. Para ello hay que evitar el uso técnicas de ordeño inadecuados y darle un mantenimiento continuo al equipo de ordeño mecánico en caso de usarlo.

d. Proveer un ambiente que permita a las vacas permanecer limpias.

Para el cumplimiento de este principio es necesario mantener la sala y corrales de ordeño libre de contaminantes como ser lodo, estiércol, exceso de humedad y buena ventilación.

e. Detección temprana de nuevas infecciones clínicas y subclínicas.

Hay que realizar revisiones periódicas de las ubres y pezones y practicar la prueba California mastitis test en todas las vacas en ordeño cada 15 días.

f. Uso apropiado de medicamento.

Esto para asegurarse un tratamiento exitoso, prevenir infecciones crónicas, controlar el costo de medicamentos y prevenir el residuo de antibióticos en la leche.

g. Control de la duración de las infecciones.

La duración de infecciones debe minimizarse cuando sea posible, debido a que infecciones de larga duración dañan severamente los tejidos secretores. El tratamiento durante el secado de todos los cuartos de una vaca es un método muy efectivo para controlar las infecciones.

h. Supervisión del estado de mastitis.

La prevalencia de mastitis dentro del hato debe de conocerse y supervisarse regularmente. Tal sistema de vigilancia permitirá la identificación temprana de áreas problemáticas antes de que afecten seriamente la producción láctea.

i. Reemplazos libres de mastitis.

Esto se consigue evitando el mamado entre terneras, alimentando con leche libre de mastitis todo esto nos asegurará la capacidad para desechar mastitis en vacas viejas, disminuya la prevalencia de infecciones en el hato y evite la necesidad de comprar reemplazos con vacas adultas.

j. Asuma que todos los reemplazos comprados están infectados.

A todos los reemplazos se les deben hacer cultivos bacteriológicos antes de entrar en ordeño, esto evitará la diseminación de nuevos microorganismos de nuevas vacas en el hato.

k. Provea una nutrición adecuada para evitar una mayor susceptibilidad a la mastitis.

La glándula mamaria puede resistir la mayoría de las infecciones si se le provee con nutrientes esenciales, esto es necesario para mantener la resistencia a nuevas infecciones.

l. Controle las moscas.

Estos insectos transportan bacterias de un lugar a otro y los patógenos causantes de mastitis no son la excepción debido a que los trasladan hasta la punta del pezón.

m. Asignar responsabilidades para todas las áreas de prevención de mastitis.

Para cada principio debe haber una asignación escrita para una persona específica, al haber un brote de mastitis se debe identificar el eslabón más débil y realizar una acción correctiva (15) (32).

1.3.10. IMPACTO EN EL SECTOR LECHERO

El impacto de la mastitis va junto con la leche, más allá de las puertas de la explotación lechera. Los cambios en la composición de la leche (reducción de calcio, fósforo, proteína y grasa, e incrementos de cloro y sodio) reducen su calidad. Además, los antibióticos utilizados en el tratamiento de la mastitis son una preocupación industrial y de salud pública importante. 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 (22).

La mastitis subclínica, cuya frecuencia es de 20 a 50 veces superior a la mastitis, es hoy en día el principal problema de todo el complejo patológico que representa la mastitis. Cuidadosos análisis indican que el 80 % de las pérdidas de la producción de leche son debidas a las mastitis subclínicas. Esta estimación procede del hecho de que es un 20 % menor que la del cuarterón paralelo sano. A estos costes en la producción lechera hay que añadir las pérdidas en las ventas por la baja calidad de la leche (16).

La alteración en la calidad de la leche se debe principalmente a una variación en su composición. Así por ejemplo, el contenido de caseína, calcio y fósforo disminuye, mientras que aumenta el contenido de albúmina, cloro y sodio. Estas modificaciones se aprecian tanto en la secreción láctea alterada de un determinado animal como en la leche de las vacas con frecuentes mastitis subclínicas (16).

Para las industrias lácteas estas alteraciones en la composición de la leche natural significan una gran dificultad en la preparación de la leche para el consumo así como una modificación del gusto y de la estabilidad. El mejoramiento correspondiente a la calidad higiénica se pueden lograr muy rápidamente en una finca una vez se implementen las medidas de higiene durante la rutina de ordeño, no así las relacionadas con la calidad composicional que requieren cambios profundos, en nutrición manejo y aún genética de los animales. Las mismas prácticas de manejo para obtener leche de buena calidad higiénica lleva consigo el control de mastitis la enfermedad más costosa del hato lechero por el impacto que tiene en la disminución de la producción (16) (17).

Las modificaciones cualitativas de la leche producidas por la mastitis se traducen en los análisis en un mayor contenido celular. La leche con alto contenido en células sufre un descuento en su valoración, por lo que, para los ganaderos, las mastitis se traducen en la práctica en un menor beneficio en las ventas (16).

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1.LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIAL DE CAMPO

- Overol
- Botas de Caucho
- Franelas
- Algodón
- Paleta de plástico con 4 compartimentos.
- Jeringuilla de 10 cm³.
- Guantes Quirúrgicos
- Hojas de registro
- Frascos estériles
- Caja hermética refrigerante.

2.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO

- Puntas desechables de 1000, 500 y 100 µL.
- Mechero
- Pipetas automáticas de 1000, 500 y 100 µL.

- Tubos de ensayo
- Hisopos estériles.
- Cajas Petri desechables.
- Asas de Platino.
- Erlenmeyer de 1000, 500 y 250 mL.
- Probeta de 100 y 50 mL.
- Estándar Mc Farland de 1.5×10^8 UFC/mL
- Placas porta objetos 24X50.
- Parafilm.
- Agitador Magnético
- Cronometro.
- Guantes quirúrgicos
- Mascarilla
- Reverbero.

2.2.3. MATERIAL BIOLÓGICO

Cuatro cepas de bacterias patógenas, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, y *Bacillus* sp, aisladas de las muestras de leche recogidas de los bovinos con mastitis subclínica bovina propiedad de la Unidad Productiva Tunshi, Programa de Bovinos de Leche, Sección Ordeño, perteneciente a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.4. EQUIPOS DE LABORATORIO

- Estufa (Memmert) a 35 °C.
- Autoclave (Tuttnaver).
- Equipo de Agitación
- Baño maría (Fanem LTDA) a 45 °C.
- Microscopio (Bausch - Lomb).
- Balanza de precisión (Mettler).
- Cámara de flujo laminar.

- Refrigeradora (Hotpoint).

2.2.5. REACTIVOS

1. Alcohol antiséptico a 70°.
2. Reactivo California Mastitis Test –CMT (Lauril Sulfato de Sodio).
3. Caldo Cerebro Corazon (MERCK 13825)
4. Caldo Tioglicolato (MERCK 08190).
5. Agar Base Sangre (MERCK 10886).
6. Agar Eosina Azul de Metileno (MERCK 1342).
7. Agar Manitol Salado (MERCK 05404).
8. Agar Tripticasa Soya (MERCK 05458).
9. Agua oxigenada.
10. Agua destilada.
11. Plasma de Sangre de Conejo.
12. Colorantes para Tinción Gram (Cristal Violeta, Lugol, Decolorante y Safranina).
13. Pruebas bioquímicas.

2.3. METODOLOGÍA

2.3.1. DIAGNOSTICO DE MASTITIS BOVINA SUBCLÍNICA MEDIANTE CMT

La investigación se efectuó en todos los bovinos propiedad de la Unidad Productiva Tunshi, Programa de Bovinos de Leche, Sección Ordeño, perteneciente a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3.1.1. PROCEDIMIENTO

- Antes del ordeño, se introdujo los primeros chorros de cada uno de los cuarterones en los correspondientes pocillos de la bandeja del test (raqueta), se llenó hasta la mitad.
- Mediante inclinación de la bandeja del test, se decantó la leche sobrante de los pocillos dejando un resto de unos 2 mL (línea de señal).

- Se añadió una cantidad del líquido del test igual a 1-1 ½ veces la cantidad de leche, sin formación de espuma.
- Se mezcló el contenido de los pocillos (leche junto con el líquido del test) realizando un lento movimiento circular de la bandeja del test en posición horizontal. La reacción se produjo al cabo de unos pocos segundos efectuado el movimiento circular, en los hatos que presentaron reacción positiva.
- Se registraron todos los resultados obtenidos en cada uno de los hatos y particularmente en los cuartos de cada uno de ellos.
- Después de cada control, se vació el contenido de los pocillos y lavó la bandeja con agua, tras lo cual se volvió a utilizar.

2.3.2. TOMA DE MUESTRAS DE LECHE PARA LAS PRUEBAS DE LABORATORIO

Este procedimiento se realizó con los cuartos de los 17 bovinos de leche seleccionados que presentaron mastitis subclínica previo diagnóstico mediante la prueba de CMT.

2.3.2.1. PROCEDIMIENTO

- Se desinfectó el pezón con una solución al 70 % de alcohol.
- Se desechó el primer chorro de leche.
- Los frascos se llenaron hasta los dos tercios de su capacidad cerrándolos inmediatamente, sin tocar el borde inferior de la tapa ni tampoco el borde del frasco con el fin de evitar posibles contaminaciones.
- Se recogieron muestras de los cuarterones con resultado positivo frente al CMT.
- Inmediatamente después de la extracción, se refrigeraron las muestras hasta recoger la totalidad de las muestras, acompañado de una identificación correcta de los frascos con el código del bovino y del cuarto.
- Posterior a esto utilizando una lámpara de alcohol y un ambiente estéril se procedió a traspasar 1 mL de leche a dos tubos con medio líquido (cerebro corazón y tioglicolato), identificando cada uno con el código correspondiente.

- Los tubos con las muestras se empaquetaron en una caja térmica a una temperatura adecuada para la reproducción bacteriana (30-35 °C) hasta llevarlos al laboratorio para el correspondiente análisis.

2.3.3. ANALISIS “ *in vitro* ”

La investigación se efectuó en el Laboratorio de Microbiología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, para lo cual se tomaron las bacterias aisladas del cultivo de las muestras de leche de los bovinos con mastitis subclínica, para que mediante un conteo bacteriano valorar la efectividad de la nano plata sobre las bacterias a diferentes tiempos.

2.3.3.1.PROCEDIMIENTO.

- Con las cepas aisladas e identificadas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus* sp., se subcultivaron en caldo infusión cerebro corazón durante 6 a 8 h, a 35 °C.
- Posteriormente se inocularon mediante estriamiento las cepas subcultivadas en Agar Soya Triptica y Agar Sangre respectivamente, durante 18 a 24 h a 35 °C.
- Se tomaron de 3 a 5 colonias y se ajustaron al estándar 1 McFarland de 1.5×10^8 UFC/mL, utilizando tubos con suero fisiológico estéril.
- Luego se realizó las diluciones correspondientes de la siguiente manera:
 1. Del estándar McFarland se pasó 1 mL a otro tubo con 9 mL de suero fisiológico mezclando continuamente, obteniendo una dilución de 1.5×10^7 UFC/mL.
 2. De la dilución anterior se pasó 100 μ L a otro tubo con 10 mL de suero fisiológico, agitando y se obtuvo una dilución 1.5×10^5 UFC/mL.
 3. De esta dilución se pasaron 500 μ L a un erlenmeyer con el agitador magnético, que contenía 50 mL de Nano Plata de la correspondiente concentración (0.88, 1.75, 3.5 y 7 ppm) y se obtuvo una dilución de 1.5×10^3 UFC/mL.

- Inmediatamente depositado los 500 μ L en el erlenmeyer, se encendió el equipo de agitación junto con el cronometro, y de la mezcla hecha se tomó 1 mL a los 0, minutos de agitación indicados para cada cepa bacteriana (0, 5, 15 y 30 minutos para *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*; 0, 15, 30, 45 y 60 minutos) y se depositó en una caja petri desechable, se añadió Agar tripticasa soya conservado a 45° C, se mezclaron de manera homogénea y dejaron secar a temperatura ambiente.
- Se incubaron a 35 °C durante 24 a 48 horas, para posterior contaje bacteriano.
- Finalmente para la dilución de Control, se tomaron 500 μ L de la dilución anterior de 1.5×10^5 UFC/mL y se depositaron en un erlenmeyer con 50 mL de NaCl obteniendo 1.5×10^3 UFC/mL, de la cual se depositó 1 mL en una caja petri e incubaron a 35°C durante 24 a 48 horas.

2.3.4. ANALISIS “ *in vivo* ”

Entre el mes de Abril y Mayo del 2008 se seleccionaron 17 bovinos propiedad de la Unidad Productiva Tunshi, Programa de Bovinos de Leche, Sección Ordeño, perteneciente a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, que presentaron mastitis subclínica y que luego de haber probado una serie de tratamientos con antibióticos costosos y otras formas de combatir la enfermedad y sin tener resultados tan efectivos, las autoridades deciden someter a sus bovinos a nuestra investigación.

2.3.4.1. PROCEDIMIENTO

Se administrará la suspensión de Nano plata a los cuartos de los 17 bovinos de leche que presentaron mastitis subclínica bovina propiedad de la Unidad Productiva Tunshi, lo cual se realizó posterior al ordeño de las 16h00 pm, para lo que primeramente se desinfectó y limpió los cuartos con alcohol al 70 % , secando con material limpio y posteriormente introduciéndose la suspensión de nano plata de 7 ppm a cada uno de los cuartos durante tres días consecutivos extendiéndose hasta 5 días, en referencia a un medicamento antimastítico (SERVIMAST) y se evaluará la efectividad del tratamiento mediante CMT.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

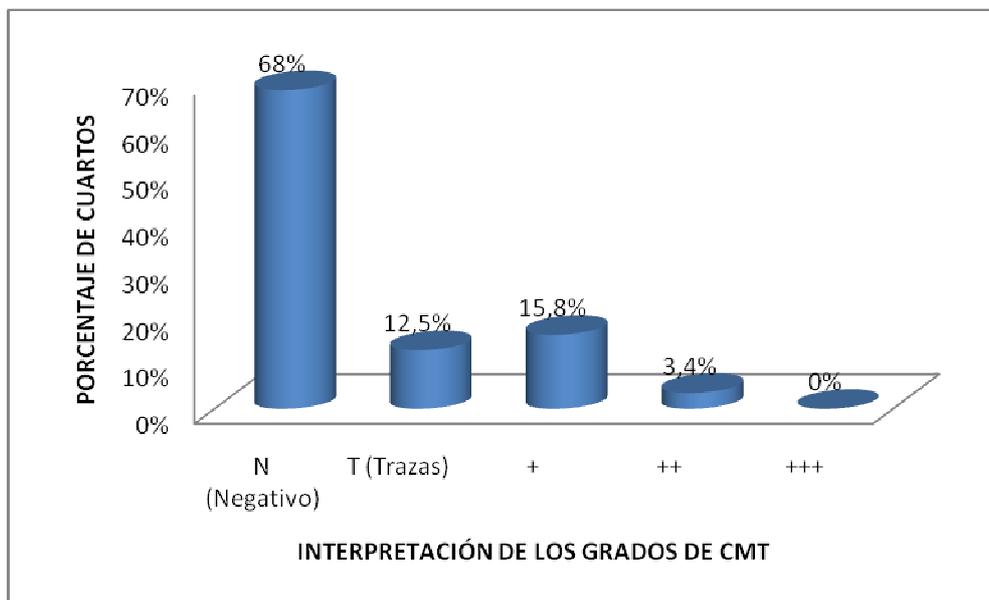


GRAFICO No.1 PORCENTAJE DE INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA DE CMT EN LOS CUARTOS DEL HATO DE VACAS LECHERAS PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE- DEL 2007.

La gráfica muestra que de un total de 152 cuartos que corresponden a 38 bovinos de leche, un 68.0% da reacción negativa a la prueba de CMT, un 12.5% dan nivel de trazas, 15.8% da positivo en (+) y 3.4% positivo en (++) . Por consiguiente se aprecia que tomando en cuenta el total de los cuartos existe una incidencia considerable de mastitis subclínica en el ganado bovino.

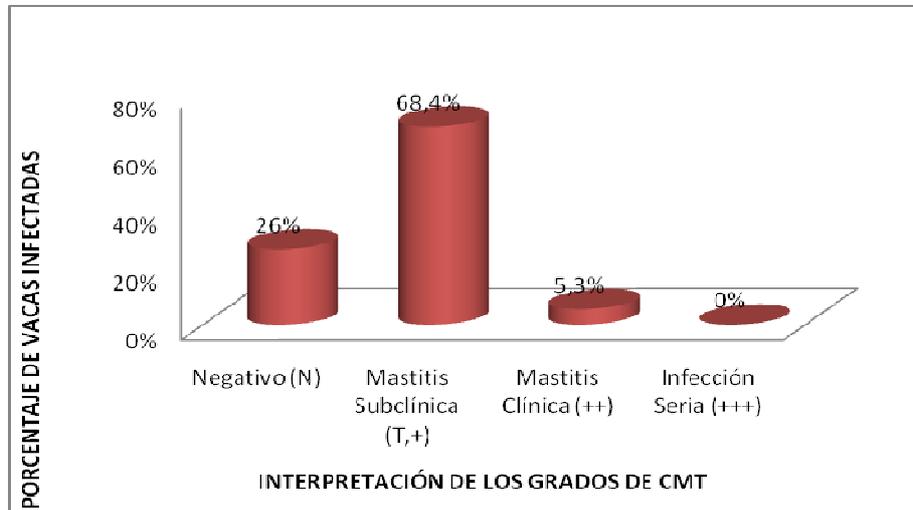


GRAFICO No. 2 PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN EL HATO DE VACAS LECHERAS PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007.

La grafica muestra que de un total de 38 bovinos de leche evaluados mediante la prueba de CMT un numero de 26 bovinos que corresponden a un 68.4% presentaron mastitis subclínica, en tanto que solo un 5.3% de los bovinos presentaron mastitis clínica que corresponde a 2 bovinos, un 26.3% mostraron ausencia de la mastitis subclínica que representa un total de 10 bovinos, y finalmente casos de mastitis crónica no fueron evidenciados, en comparación con otro estudio realizado en algunas haciendas de Honduras por Yader Rodríguez (2000) en la que menciona que de un total de 19 fincas evaluadas y de 521 vacas en ordeño examinadas con la prueba California Mastitis Test (CMT) un 89.5% de las fincas presentaron resultados positivos al CMT y un 19.6% de las vacas se encontraban con mastitis subclínica en uno o más cuartos al momento de practicar la prueba.

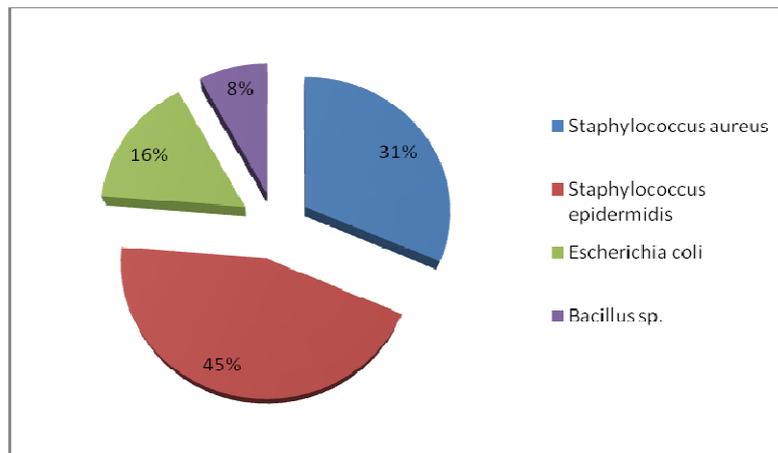


GRAFICO No 3 PORCENTAJE DE MICROORGANISMOS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN EL HATO DE VACAS LECHERAS PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007.

La gráfica muestra que la mastitis subclínica es causada principalmente por *Staphylococcus epidermidis* en un 45% seguida de *Staphylococcus aureus* con un 32%, *Escherichia coli* con un porcentaje de 16% y *Bacillus sp.* en un 8%, en comparación con otro estudio realizado en algunas haciendas de Honduras por Yader Rodríguez (2000) en el que reporta que de 462 muestras colectadas se aislaron los siguientes agentes causales: *Staphylococcus aureus* en 78.6% de los casos, *S. epidermis* en 42.9% y *Escherichia coli* en 21.4%.

CUADRO No. 1 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE EL *Staphylococcus aureus*. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.

CONCENTRACIÓN DE NANO PLATA								
TIEMPO (minutos)	0,88 ppm		1,75 ppm		3,5 ppm		7 ppm	
	log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano
C	5,74	0	5,73	0	5,72	0	5,73	0
1	5,66	16,6	5,62	22,0	5,57	29,1	5,50	41,7
15	5,55	36,2	5,49	42,6	5,39	52,8	5,36	57,5
30	5,37	57,3	5,35	58,4	5,18	70,8	5,11	76,2
45	5,15	74,6	5,14	74,1	5,05	78,7	4,92	84,6
60	4,95	83,8	4,94	83,8	4,85	86,4	4,63	92,1

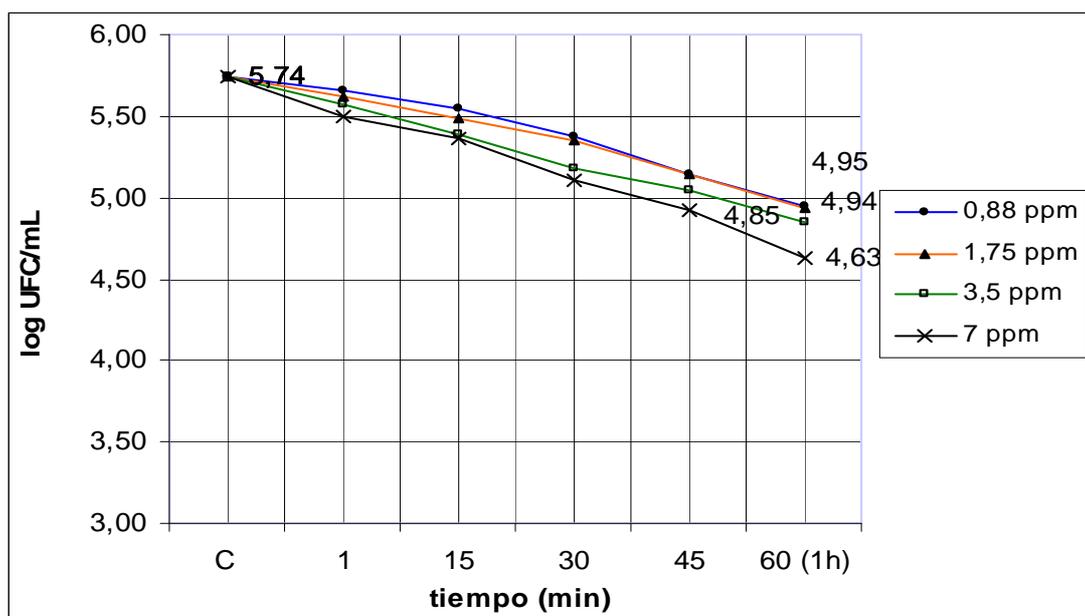
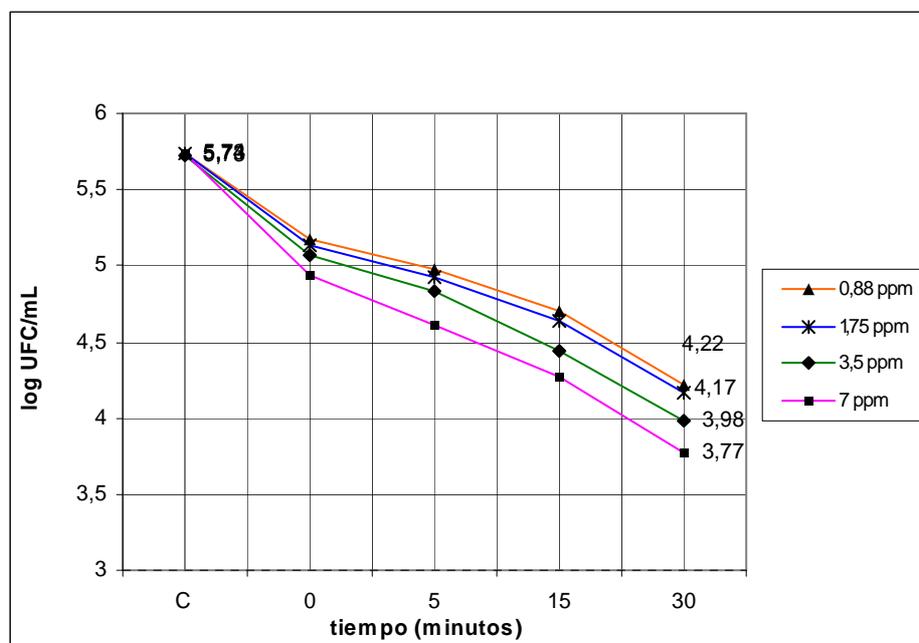


GRÁFICO No. 4 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE EL *Staphylococcus aureus*. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.

En el gráfico se indica que en un tiempo de exposición de 60 min de una suspensión de nano plata a una concentración de 7 ppm la reducción de las UFC/mL es del 92.1%, mientras que a 0.88 ppm es de 83.8%. Por lo tanto se determina que a estas concentraciones no existe una diferencia marcada en el porcentaje de reducción del crecimiento bacteriano.

**CUADRO No. 2 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE EL *Staphylococcus epidermidis*.
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.
RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.**

CONCENTRACIÓN DE NANO PLATA								
TIEMPO (minutos)	0,88 ppm		1,75 ppm		3,5 ppm		7 ppm	
	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano
C	5,74	0	5,74	0	5,73	0	5,73	0
1	5,19	71,68	5,14	74,69	5,07	77,85	4,94	83,9
5	4,99	82,35	4,93	84,57	4,84	86,99	4,62	92,3
15	4,72	90,42	4,65	91,86	4,45	94,73	4,27	96,5
30	4,23	96,88	4,18	97,25	3,99	98,18	3,78	98,9



**GRÁFICO No. 5 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE EL *Staphylococcus epidermidis*.
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.
RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.**

La siguiente gráfica muestra que a un tiempo de exposición de 30 min de la suspensión de nano plata de una concentración de 7 ppm existe una reducción en el crecimiento bacteriano del 98.9%, mientras que a 0.88 ppm es de 96.9%. Lo cual nos indica que a estas concentraciones de 7 ppm y 0.88 ppm no existe una diferencia significativa respecto al porcentaje de reducción de las UFC/mL.

CUADRO No. 3 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE EL *Escherichia coli*. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.

CONCENTRACIÓN DE NANO PLATA								
TIEMPO (minutos)	0,88 ppm		1,75 ppm		3,5 ppm		7 ppm	
	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano
C	5,73	0	5,73	0	5,72	0	5,73	0,0
1	4,99	81,72	4,99	81,65	4,82	87,51	4,72	90,1
5	4,71	90,36	4,69	90,78	4,55	46,04	4,46	94,6
15	4,40	95,31	4,37	95,60	4,26	49,65	4,15	97,4
30	3,93	98,44	3,90	98,50	3,81	63,89	3,49	99,4

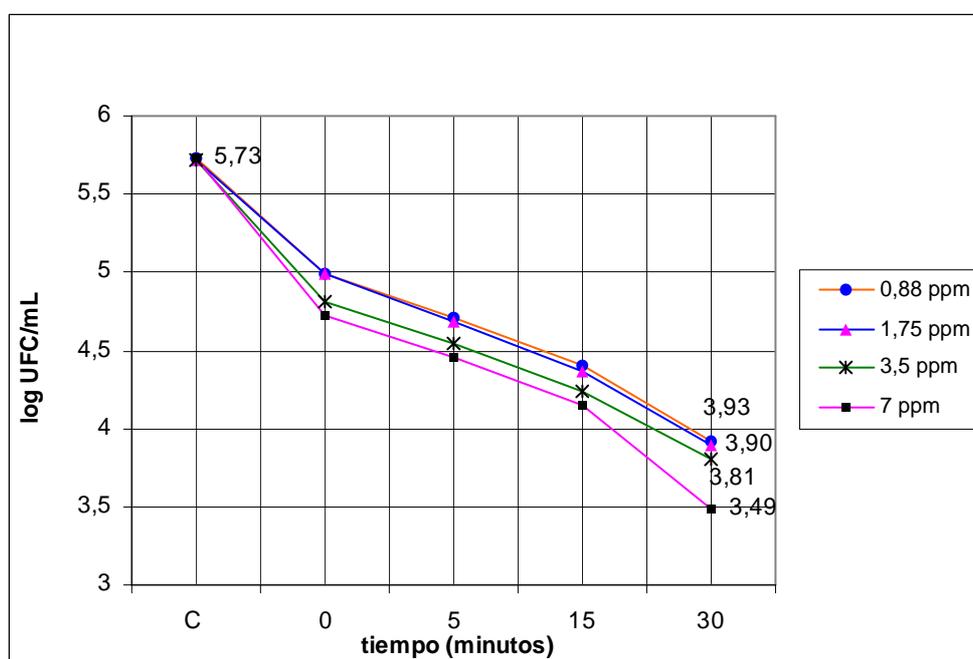


GRÁFICO No. 6 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE *Escherichia coli*. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.

La actividad “in vitro” de la suspensión de nano plata a una concentración de 7 ppm y un tiempo de exposición de 30 minutos mostró una reducción del crecimiento bacteriano del 99.4%, en tanto que a una concentración de 0.88 ppm fue de 98.4%. Mediante lo cual se establece que a estas concentraciones no existe una diferencia notable en cuanto al porcentaje de reducción de las UFC/mL.

CUADRO No. 4 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE EL *Bacillus* sp. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.

TIEMPO (minutos)	CONCENTRACIÓN DE NANO PLATA							
	0,88 ppm		1,75 ppm		3,5 ppm		7 ppm	
	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano	Log UFC	% Reducción Crecimiento Bacteriano
C	5,74	0	5,74	0	5,75	0	5,74	0
1	5,00	81,6	5,02	80,83	4,89	86,15	4,75	90,0
5	4,75	89,8	4,70	90,80	4,59	92,95	4,48	94,6
15	4,47	94,6	4,41	95,29	4,33	96,18	4,19	97,2
30	3,98	98,3	3,97	98,30	3,87	98,69	3,56	99,3

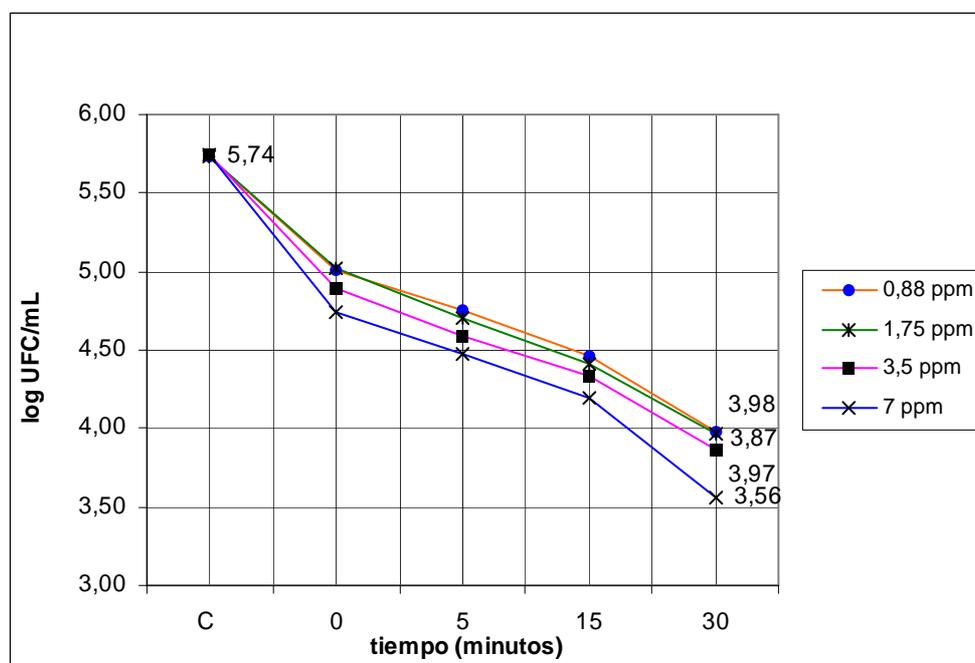


GRÁFICO No. 7 ACTIVIDAD “in vitro” DE NANO PLATA SOBRE *Bacillus* sp. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-MARZO DEL 2008.

La representación grafica de la actividad “in vitro” de la suspensión de nano plata de 7 ppm en un tiempo de exposición de 30 min muestra una reducción de las UFC/mL en un 99.3%, mientras que para la concentración de 0.88 ppm es del 98.3%. Lo cual nos permite establecer que a dichas concentraciones el porcentaje de reducción del crecimiento bacteriano no tiene una diferencia marcada.

CUADRO No. 5 ANOVA (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO PLATA SOBRE *Staphylococcus aureus*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES.

Evaluación del valor de la información originado por las variables ($H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$):					
Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	0,843	0,281	107,257	< 0.0001
Residuos	44	0,115	0,003		
Total	47	0,958			

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_1 = No todas las medias de los tratamientos son iguales

El cuadro muestra la existencia de diferencia significativa dentro de los tratamientos, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

CUADRO No. 6 TEST DE TUCKEY (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO PLATA SOBRE *Staphylococcus aureus*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES.

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95.00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
T4 ~ T1	0,329	15,772	2,670	< 0.0001	Sí
T4 ~ T2	0,099	4,745	2,670	0,000	Sí
T4 ~ T3	0,011	0,523	2,670	0,953	No
T3 ~ T1	0,319	15,250	2,670	< 0.0001	Sí
T3 ~ T2	0,088	4,222	2,670	0,001	Sí
T2 ~ T1	0,230	11,028	2,670	< 0.0001	Sí

La prueba de Tukey muestra una diferencia significativa dentro de los tratamientos excepto en los grupos T4 (0,88 ppm) y T3 (1,75 ppm) que no poseen diferencia significativa.

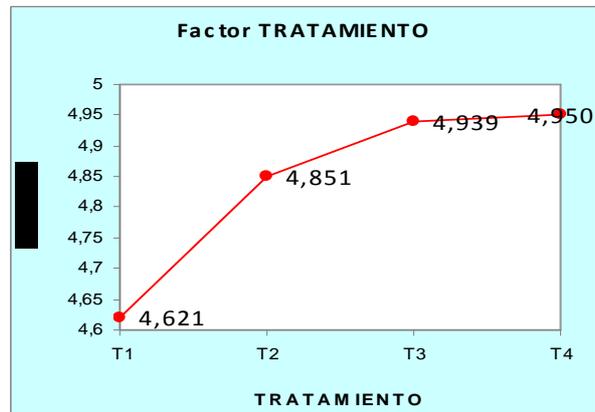


GRAFICO No. 8 MEDIAS (Software Xlstat 7.5.2) DE LOS TRATAMIENTOS DE NANO-PLATA “in vitro” SOBRE *Staphylococcus aureus*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES

El gráfico muestra claramente que el T1 (7 ppm) presenta una mayor reducción de las UFC/mL, seguido del T2 (3,5 ppm) que también muestra una inhibición significativa.

CUADRO No. 7 ANOVA (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO PLATA SOBRE *Staphylococcus epidermidis*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES.

Evaluación del valor de la información originado por las variables ($H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	2,098	0,699	68,534	< 0.0001
Residuos	64	0,653	0,010		
Total	67	2,751			

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

$H_1 =$ No todas las medias de los tratamientos son iguales

El cuadro muestra la existencia de diferencia significativa dentro de los tratamientos, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

CUADRO No. 8 TEST DE TUCKEY (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO PLATA SOBRE *Staphylococcus epidermidis*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES.

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95.00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
T4 ~ T1	0,445	12,858	2,638	< 0.0001	Sí
T4 ~ T2	0,237	6,835	2,638	< 0.0001	Sí
T4 ~ T3	0,048	1,397	2,638	0,506	No
T3 ~ T1	0,397	11,461	2,638	< 0.0001	Sí
T3 ~ T2	0,188	5,438	2,638	< 0.0001	Sí
T2 ~ T1	0,209	6,023	2,638	< 0.0001	Sí

La prueba de Tuckey muestra una diferencia significativa dentro de los tratamientos excepto en los grupos T4 (0,88 ppm) y T3 (1,75 ppm) que no poseen diferencia significativa.

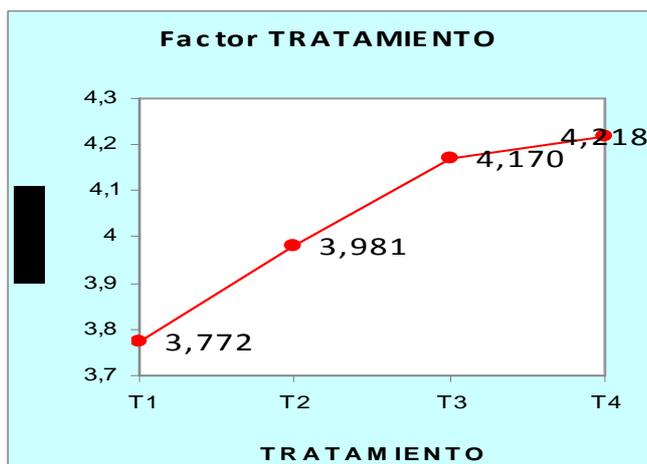


GRAFICO No. 9 MEDIAS (Software Xlstat 7.5.2) DE LOS TRATAMIENTOS DE NANO-PLATA “in vitro” SOBRE *Staphylococcus epidermidis*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES

El gráfico muestra claramente que el T1 (7 ppm) presenta una mayor reducción de las UFC/mL, seguido del T2 (3,5 ppm) que también muestra una reducción significativa.

CUADRO No. 9 ANOVA (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO PLATA SOBRE *Escherichia coli*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES.

Evaluación del valor de la información originado por las variables ($H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	0,870	0,290	19,539	< 0.0001
Residuos	20	0,297	0,015		
Total	23	1,167			

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

$H_1 =$ No todas las medias de los tratamientos son iguales

El cuadro muestra la existencia de diferencia significativa dentro de los tratamientos, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

CUADRO No. 10 TEST DE TUCKEY (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO-PLATA SOBRE *Escherichia coli*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95.00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
T4 ~ T1	0,476	6,770	2,799	< 0.0001	Sí
T4 ~ T2	0,118	1,684	2,799	0,358	No
T4 ~ T3	0,027	0,378	2,799	0,981	No
T3 ~ T1	0,450	6,392	2,799	< 0.0001	Sí
T3 ~ T2	0,092	1,306	2,799	0,570	No
T2 ~ T1	0,358	5,086	2,799	0,000	Sí

El cuadro muestra que la prueba de Tukey presenta una diferencia significativa dentro de los tratamientos T1 y T4, T1 y T3, T1 y T2; excepto entre los grupos T4 y T2, T4 y T3, T3 y T2 en las cuales no existe una diferencia significativa indicando que estas concentraciones dan una reducción del crecimiento bacteriano similar.

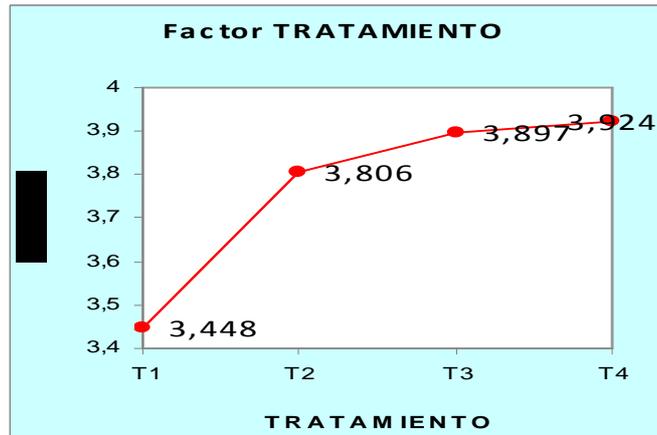


GRAFICO No 10 MEDIAS (Software Xlstat 7.5.2) DE LOS TRATAMIENTOS DE NANO-PLATA “in vitro” SOBRE *Escherichia coli*, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES

El gráfico muestra claramente que el T1 (7 ppm) presenta una mayor reducción de las UFC/mL, siendo este el tratamiento a ser aplicado puesto que el T2, T3 y T4 no presentan una reducción bacteriana significativa.

CUADRO No. 11 ANOVA (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO PLATA SOBRE *Bacillus* sp, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES.

Evaluación del valor de la información originado por las variables ($H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	0,377	0,126	7,423	0,011
Residuos	8	0,135	0,017		
Total	11	0,512			

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_1 = No todas las medias de los tratamientos son iguales

El cuadro muestra la existencia de diferencia significativa dentro de los tratamientos, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

CUADRO No. 12 TEST DE TUCKEY (Software Xlstat 7.5.2) DE LA DETERMINACIÓN “in vitro” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANO-PLATA SOBRE *Bacillus* sp, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95.00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
T4 ~ T1	0,439	4,132	3,202	0,014	Sí
T4 ~ T2	0,118	1,113	3,202	0,692	No
T4 ~ T3	0,013	0,119	3,202	0,999	No
T3 ~ T1	0,426	4,013	3,202	0,016	Sí
T3 ~ T2	0,106	0,994	3,202	0,757	No
T2 ~ T1	0,321	3,019	3,202	0,065	No

El cuadro muestra que la prueba de Tukey presenta una diferencia significativa dentro de los tratamientos T1 y T4, T1 y T3, excepto entre los grupos T4 y T2, T4 y T3, T3 y T2, T2 y T1 no existe una diferencia significativa lo que indica que concentraciones intermedias de la superior e inferior tienen el mismo poder de reducción bacteriana.



GRAFICO No. 11 MEDIAS (Software Xlstat 7.5.2) DE LOS TRATAMIENTOS DE NANO-PLATA “in vitro” SOBRE *Bacillus* sp, A DIFERENTES TIEMPOS Y CONCENTRACIONES

El gráfico muestra claramente que el T1 (7 ppm) presenta una mayor reducción de las UFC/mL, siendo este el tratamiento a ser aplicado puesto que el T2, T3 y T4 no presentan una reducción bacteriana significativa.

CUADRO No. 13 ACTIVIDAD “in vivo” DEL ANTIMASTITICO (SERVIMAST) SOBRE MASTITIS SUBCLÍNICA. EN EL HATO DE VACAS LECHERAS PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL-MAYO DEL 2008.

INTERPRETACIÓN DEL CMT	PRIMER DIA	SEGUNDO DIA	TERCER DIA
(+)	66.7	0	0
T	33.3	66.7	0
N	0	33.3	100

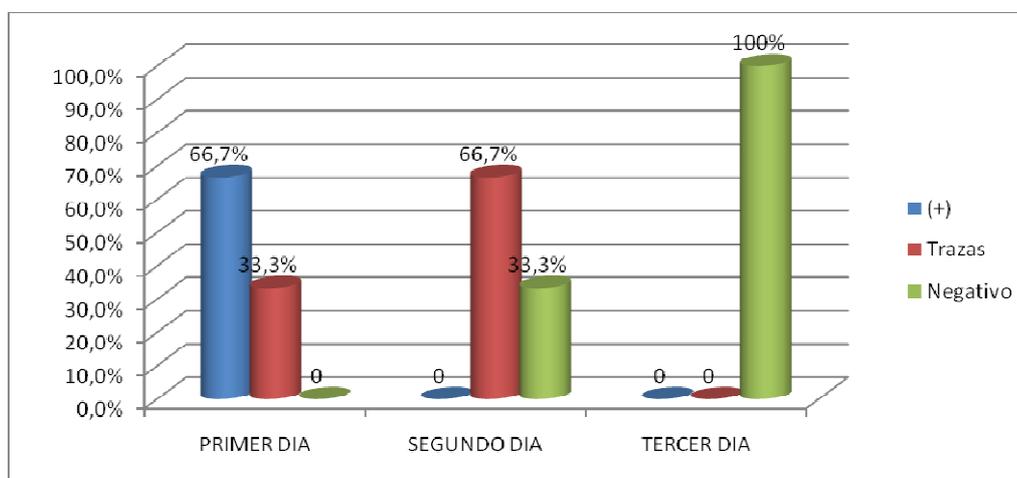


GRÁFICO No. 12. ACTIVIDAD “in vivo” DEL ANTIMASTITICO (SERVIMAST) SOBRE MASTITIS SUBCLÍNICA. EN EL HATO DE VACAS LECHERAS PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL-MAYO DEL 2008.

La grafica muestra que durante el periodo de tratamiento “in vivo” del antimastitico (SERVIMAST) aplicado a 3 de los bovinos de leche seleccionados para el efecto, mostraron que el primer día de tratamiento existió un 66,7 % de resultado (+) y un 33,3% de trazas en función de los cuartos tratados, mientras que al segundo día de tratamiento ya se observó un claro descenso de los resultados según la interpretación del CMT, mostrando un 66,7 % tan solo de trazas y un 33,3 % como resultado negativo y finalmente al tercer día de tratamiento presentaron un 100 % de ausencia de mastitis interpretado por una reacción negativa a la prueba en todos los cuartos evaluados.

CUADRO No. 14 ACTIVIDAD “in vivo” DE NANO PLATA SOBRE MASTITIS SUBCLÍNICA. EN EL HATO DE VACAS LECHERAS PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL-MAYO DEL 2008.

INTERPRETACIÓN DEL CMT	PRIMER DIA	SEGUNDO DIA	TERCER DIA	CUARTO DIA	QUINTO DIA
(+)	82.4	82.4	82.4	82.4	76.9
Trazas	17.6	17.6	17.6	17.6	15.4
Negativo	0	0	0	0	7.7

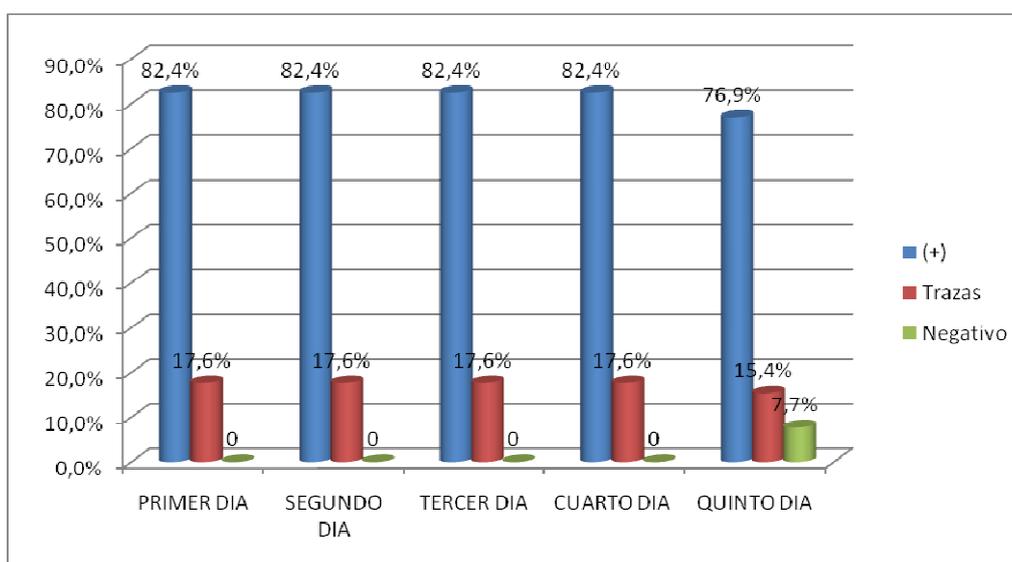


GRÁFICO 13. ACTIVIDAD “in vivo” DE NANO PLATA SOBRE MASTITIS SUBCLÍNICA. EN EL HATO DE VACAS LECHERAS PROPIEDAD DE LA UNIDAD EXPERIMENTAL TUNSHI. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL-MAYO DEL 2008.

La grafica muestra que durante el periodo de tiempo de aplicación “in vivo” del tratamiento más efectivo (7 ppm) a un total de 14 bovinos de leche con mastitis subclínica seleccionados previamente, mostraron el primer día de tratamiento un 82,4 % de resultado positivo (+) y un 17,6 % de trazas, mientras que al segundo, tercer y cuarto día de tratamiento no manifestaron variación alguna al ser evaluados mediante la prueba de CMT y tan solo al quinto día de tratamiento se evidenció un descenso en los resultados teniendo un 76,9 % de resultado positivo (+), un 15,4 % de trazas y tan solo un 7,7 % de reacción negativa a la prueba, es decir ausencia de mastitis subclínica.

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES

1. La incidencia de Mastitis Subclínica en el hato lechero del programa de Bovinos de Leche, de la Unidad Productiva Tunshi, Sección Ordeño, perteneciente a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, evaluados mediante California Mastitis Test fue de un 68.4 % que corresponde a un número de 26 bovinos mientras que tan solo un 5,3 % presentaron mastitis clínica correspondiendo a dos de los bovinos examinados de un total de 38 vacas de ordeño.(Grafico No. 2)
2. En cuanto a la incidencia de mastitis subclínica en los cuartos del hato de vacas lecheras, la mayor parte se presentaron en los cuartos posterior izquierdo y posterior derecho, debido a que están más cerca de las patas traseras y del lugar donde se realizan todas las necesidades fisiológicas las mismas que contienen un elevado porcentaje de microorganismos causales contenidos tanto en la materia fecal como en la orina constituyéndose en una enfermedad de tipo ambiental.
3. De un total de 17 bovinos de leche seleccionados con mastitis subclínica se aislaron un 45.0 % de *Staphylococcus epidermidis* seguida de *Staphylococcus aureus* con un 32.0 %, *Escherichia coli* con un 16.0 % y *Bacillus* sp. con un 8.0 %, notándose que entre los principales agentes causales de mastitis subclínica están *Staphylococcus aureus* y *epidermidis* ya que son las cepas que se aislaron en mayor cantidad, mientras que la bacteria *Streptococcus agalactiae* mencionada en bibliografía como uno de los agentes causales de mastitis subclínica no fue aislado. (Grafico N0 3)

4. Nano plata "*in vitro*" a una concentración de 7 ppm reduce el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en un 92.1 % a un tiempo de 60, *Staphylococcus epidermidis* es reducido en un 98.9% a un tiempo de 30 min, *Escherichia coli* es reducido en un 99.4% en 30 min y *Bacillus* sp es reducido en un 99.3 % a un tiempo de 30 min. De las concentraciones de 0.88, 1.75, 3.5 y 7 ppm la más efectiva y que redujo un mayor número de UFC/mL fue la de 7 ppm. El Análisis de Varianza realizado para los resultados "*in vitro*" de la actividad antimicrobiana de nano plata sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* y *Bacillus* sp, muestra la existencia de diferencia significativa dentro de los tratamientos de manera general mientras que la prueba de Tuckey muestra de forma específica una diferencia significativa dentro de los tratamientos excepto entre otros grupos de tratamiento lo que indica que concentraciones intermedias de la superior e inferior tienen el mismo poder de reducción del crecimiento bacteriano. (Cuadro No. 1, 2, 3 y 4; Grafico No. 4, 5, 6 y 7) (Cuadro No. 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12).
5. La actividad antimicrobiana "*in vivo*" de la suspensión de nano plata efectiva "*in vitro*" (7 ppm) sobre 7 bovinos de leche con mastitis subclínica, mostraron tan solo al quinto día de tratamiento un descenso en los resultados teniendo un 76,9 % de resultado positivo (+), un 15,4 % de trazas y un 7,7 % de negativo. El antimastítico (SERVIMAST) aplicado a 2 de los bovinos de leche seleccionados para el efecto, mostró un 100 % de ausencia de mastitis subclínica al tercer día de tratamiento. (Cuadro No 13 y 14; Grafico No.12 y 13).
6. Debido a que la suspensión de nano plata de 7 ppm posee actividad antimicrobiana "*in vitro*" en un 97.43% en un tiempo menor a 60 minutos; la actividad "*in vivo*" realizada por un período de 5 días con una aplicación diaria de nano plata a una concentración de 7 ppm produjo una efectividad del 7.7%, se confirma la hipótesis planteada. (Cuadro No.6, 8, 10,12 y 14; Grafico No. 13).

CAPITULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Efectuar nuevas investigaciones utilizando la suspensión de nano plata a mayores concentraciones y extendiendo el tiempo de aplicación a las bacterias causantes de mastitis subclínica bovina.
2. Complementar el tratamiento con buenas prácticas de ordeño, ya que practicas inadecuadas junto con el ambiente influyen en la efectividad del mismo.
3. Buscar medios adecuados que ayuden a controlar la mastitis subclínica bovina ya que este tipo constituye uno de los más importantes debido a que se puede convertir en una forma mucho más grave o crónica pudiendo terminar con la pérdida del bovino y por ende una disminución en la producción láctea.

CAPITULO VI

6. RESUMEN

El incremento de mastitis subclínica bovina y la resistencia microbiana hacia los antibióticos convencionales ocasiona pérdidas al sector lechero y da lugar a la búsqueda de nuevos antimicrobianos, es por eso que se determinó la actividad antimicrobiana de nano plata sobre esta enfermedad. El estudio se realizó en los hatos lecheros de la Unidad Productiva Tunshi de la Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Se aplicó método experimental a muestras de leche de 38 vacas determinándose el grado de mastitis mediante prueba de CMT, observándose que el 68.4 % presentaron mastitis subclínica, 5,3 % mastitis clínica y el 26.3 % presentó reacción negativa a la prueba. En las muestras que presentaron mastitis subclínica se procedió a aislar e identificar los microorganismos causantes de ésta para posteriormente realizar pruebas “*in vitro*” e “*in vivo*” agregando suspensión de nano plata en concentraciones de 0.88, 1.75, 3.5 y 7 ppm. Los microorganismos aislados e identificados fueron *Staphylococcus epidermidis* 45 %, *Staphylococcus aureus* 32 %, *Escherichia coli* 16 % y *Bacillus* sp. 8 %. En el análisis “*in vitro*” con la suspensión de nano plata a una concentración de 7 ppm, se logró inhibir una gran cantidad de microorganismos así: *Staphylococcus aureus* 92.1 % en 60 minutos, en tanto que: *Staphylococcus epidermidis* 98.9%, *Escherichia coli* en 99.4% y *Bacillus* sp en 99.3 % en 30 minutos. Mientras que en el análisis “*in vivo*” con esta misma concentración de nano plata (7 ppm) se logró un 7.7 % de efectividad.

En conclusión la actividad antimicrobiana “*in vitro*” presentó una efectividad del 97.43% con lo que se logró controlar tan solo 7.7 % de la mastitis subclínica bovina, por lo que se recomienda realizar nuevas investigaciones a mayores concentraciones de esta suspensión.

SUMMARY

The sub-clinic bovine mastitis increase and the microbial resistance to conventional antibiotics causes losses to the dairy sector resulting in a search for the new anti-microbial treatments. This is why the anti-microbial activity of nano-silver for this disease was determined. The study was carried out in the dairy herds of the Productive Unit Tunshi of the Cattle and Livestock Science Faculty, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. The experimental method was applied to the milk samples of 38 cows determining the mastitis degree through the CMT test observing that 68.4% presented sub-clinic mastitis, 5.3% clinic mastitis and 26.3% presented negative reaction to the test. In the samples presenting sub-clinic mastitis the micro-organisms causing it were isolated and identified to carry out “*in vitro*” and “*in vivo*” tests adding nano-silver suspension in concentrations of 0.88, 1.75, 3.5 and 7 ppm. The identified and isolated micro-organisms were 45% *Staphylococcus epidermidis*, 32% *Staphylococcus aureus*, 16% *Escherichia coli* and 8% *Bacillus* sp. In the “*in vitro*” analysis with the nano-silver suspension at a 7 ppm concentration it was possible to inhibit a number of micro-organisms: 92.1% *Staphylococcus aureus* in 60 minutes, 98.9% *Staphylococcus epidermidis*, 99.4% *Escherichia coli* and 99.3% *Bacillus* sp in 30 minutes. In the “*in vivo*” analysis with the same nano-silver concentration (7 ppm) 7.7% effectiveness was attained. As a conclusion, the anti-microbial activity presented 97.43% effectiveness to control only 7.7% sub-clinic bovine mastitis. It is therefore recommended to conduct new investigations at higher concentrations of this suspension.

CAPITULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ÁLVAREZ, M. y colab.** 1995. Manual de Técnicas en Microbiología Clínica. Barcelona: Graficart. pp. 50-53.
2. **ARMENTEROS AMAYA, M.** 1997. Prevención de la Mastitis Bovina: La Desinfección de los Pezones Post-ordeño. La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

<http://www.monografias.com/trabajos36/prevencionmastitis/prevencionmastitis.shtml>

20071023
3. **ARTÍCULO DE NANOPLATA**
http://www.buenasiembra.com.ar/salud/articulos/plata_coloi.htm
20070512
4. **ÁVILA, S.** 1984. Producción Intensiva de Ganado Lechero. México. Primera Edición: Continental. pp. 139-155.
5. **CALVINHO, L. y colab.** 2004. Susceptibilidad en Estafilococos Coagulasa Positivos. Buenos Aires: Departamento de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral.
http://www.vet-uy.com/articulos/artic_bov/150/0111/bov111.htm
20070722

6. **CANAVESIO, R.** 2005. .Prevalencia de Microorganismos Patógenos de Mastitis Bovina y Evolución del Estado de Salud de la Glándula Mamaria en Argentina en los últimos 25 años. Buenos Aires.

http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/anuario2005/a2005_p066.htm
20071021

7. **COMO ELABORAR LA PRUEBA DE CALIFORNIAN MASTITIS TEST**
http://www.mundopecuario.com/tema189/tutoriales_agropecuarios/california_mastitis_test-1043.html
20080219

8. **COTRINO, VÍCTOR.** 2000. Diagnóstico de Mastitis. Bogota. Publicación del Laboratorio Médico Veterinario LMV Ltda.
<http://www.lmvltda.com/cms/index.php?section=30>
20070321

9. **DIAZ, R. y col.** 2003. Manual Práctico de Microbiología. Madrid. Segunda Edición: Masson. pp. 4-68.

10. ***EL TEST DE CALIFORNIA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS MASTITIS***

<http://www.capraispana.com/enfermedades/mastitis/california.htm>
20080610

11. **ETC GROUP.** 2006. Medicina Nanológica: Aplicaciones Médicas de las Nanotecnologías. USA. 10 p.
www.etcgroup.org
20071021

12. **FARÍA, J. y colab.** 2007. Aislamiento de Bacterias Gram Positivas de Leche Cruda con Residuos de Antimicrobianos. Caracas: Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. pp. 3-6.

13. **J.R. NANOTECH Plc.** What is Nanotechnology and Nano-silver?
http://www.jrnanotech.com/acatalog/More_Info.html
20071021.
14. **KARLOS, J.** Plata Coloidal.
<http://www.josekarlos.com/productos-plata.htm>
20071021
15. **KIRK, J. H.** 1997. Prevención de la Mastitis basada en Principios. California. USA.
http://www.vetnet.ucdavis.edu/vetext/INFDA_PrinMastitisSpa.html.
20080513
16. **KLEINSCHRTOTH, E. y colab.** 1991. La Mastitis. Madrid. 2^a edición: Ediciones Médicas. pp.7-39, 77.
17. **LA CALIDAD HIGIÉNICA Y SANITARIA DE LA LECHE PAGA**
<http://www.lmvltda.com/index.php?section=27>
20080524
18. **LAS CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA CALIDAD DE LA LECHE.**
<http://74.125.113.132/search?q=cache:jH4TxEje8J:www.webveterinaria.com/virbac/news8/bovinos.pdf+celulas+somaticas&hl=es&ct=clnk&cd=8&gl=ec&client=firefox-a>
20071123
19. **MARECHAL, G.** Diagnostico y Tratamiento de la Mastitis.
<http://www.solomamitis.com/articulos/http>.
20051023
20. **MARIN, L.** 1997. Determinación de la presencia de Antibióticos y Bacterias Patógenas con su Antibiograma en la LECHE FRESCA DE LA

COMUNIDAD “SAN NICOLAS y LOS CANTONES DE PENIPE, GUANO Y CHAMBO” DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO. Ing. Zootecnista: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias Pecuarias. Escuela de Ingeniería Zootecnista. pp. 44, 53-56,70.

21. **MASTITIS**

http://www.mundo-pecuario.com/tema39/aparato_reproductor/mastitis-169.html
20081004

22. **MASTITIS. LA ENFERMEDAD Y SU TRANSMISIÓN**

<http://www.infocarne.com/bovino/mastitis2.asp#inicio>
20080721

23. **MASTITIS EN GANADO BOVINO. 2005.**

<http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Mastitis%20en%20Ganado%20Bovino.doc>
20071018

24. **MELCHIZEDEK, D.** Nanosilver.

<http://www.teohua.org/nanosilv.htm#top>.
20071003

25. **MELLENBERGER, R.** 2004. Hoja de Información de la Prueba de Mastitis California (CMT). Estados Unidos: Depto. de Ciencia Animal, Universidad del Estado de Michigan.

<http://www.uwex.edu/MilkQuality/PDF/CMT%20spanish.pdf>
20080412

26. **MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MASTITIS BOVINA**

<http://en.scientificcommons.org/23584410>
20071018

27. **MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA DEL ECUADOR.** 1991.
Situación de la Pequeña y Mediana Explotación Pecuaria en el Ecuador.
Quito. pp. 20, 80.

28. **NANO PLATA:** Cuál es la Dosis Usual?
http://www.naturesbounty.com/vf/healthnotes/HN_Live/Spanish/EsSupp/Colloidal_Silver.htm
20070826

29. **NANO PLATA:** La Plata coloidal es un Poderoso Destructor de Gérmenes
<http://www.agapea.com/PODER-CURATIVO-nanoplata-.htm>
20070826

30. **NANOSAFE**
<http://www.tau.ac.il/research/eu/europe/nano/.pdfnanoparticles>
20070314

31. **NANO PLATA**
<http://www.nanoplata7.tripod.com>
20070622

32. **NOGUERA, E.** 1998. La Mejor Manera de Controlar la Mastitis Bovina. Caracas.
Revista FONAIAP-CIAE.
<http://www.fonaiap.gov.ve/publica/divulga/fd59/mastiti.html>
20070917

33. **PLATA**
<http://plata7.tripod.com>
20070206

34. **PINZÓN, JAIME.** 2000. Tratamiento en el Control de la Mastitis. Caracas. Revista de difusión de tecnología agrícola y pesquera del FONAIAP. Artículo No. 31.
<http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd32/texto/mastitis.htm>
20070611

35. **PREVALENCIA DE LOS PRINCIPALES MICROORGANISMOS CAUSANTES DE MASTITIS EN VACAS LECHERAS DEL CENTRO DEL VALLE DEL CAUCA EN LOS AÑOS 2003 A 2006.** 2006.
<http://www.monografias.com/trabajos59/microorganismos-mastitis-vacas-lecheras/microorganismos-mastitis-vacas-lecheras2.shtml>
20070611

36. **PURESTCOLLOIDS**
<http://www.purestcolloids.com/mesoworld.htm>
20070225

37. **QUE DICE LA FDA SOBRE LA PLATA**
http://www.buenasiembra.com.ar/salud/articulos/plata_colio.htm
20070225

38. **RODRÍGUEZ, R.** 2001. Vademécum Académico de Medicamentos. México. Tercera Edición: McGraw-Hill Interamericana, S.A. pp. 751-753.

39. **RODRIGUEZ, Y.** 2000. Determinación de Mastitis Bovina en Catacamas y Santa Maria del Real. Olancho, Honduras. Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ingeniería Agronómica. Escuela Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho- Honduras. pp. 15-19, 41.
[http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592005004000003&lng=es&nrm=iso.](http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592005004000003&lng=es&nrm=iso)

40. **SILVER COLLOIDAL**
<http://www.silvermedicine.org/colloidal-silver.htm>
20070622
41. **SILVERMEDICINE.** 2006. Nano-Silver.
<http://www.silvermedicine.org/newtosilver.html>
20070622
42. **SOLÓRZANO, H.** Un Antibiótico Universal Nano plata.
<http://www.hector.solorzano.com/articulos/platac.html>
20070810
43. **SUSZKIW, J.** 2006. Nuevo Método para combatir Mastitis en las Vacas Lecheras.
Estados Unidos: Departamento de Agricultura.
<http://www.ars.usda.gov/is/espanol/pr/2006/060213.es.htm>
20070810
44. **TERAPEUTICAS DE LA PLATA**
<http://www.medenergetica.com.ar/content/view/6/2/>
20070622
45. **TRATAMIENTO Y MANEJO DEL REBAÑO CON MASTITIS**
<http://ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/FonaiapDivulga/fd32/texto/mastitis.htm>
20080915
46. **VERA, JULIO E.** Plata Coloidal.
<http://www.plata-coloidal.com/>
20070813
47. **WOLTER, W. y colab.** 2002. La Mastitis Bovina. Alemania. 2º edición: Hessen.
pp. 53-55.

48. **YAN, J. CHENG, J.** 2002. Nanosilver containing antibacterial granules and methods for preparing and using the same. Pub. no.: US 6,379,712 B1. USA. 14 p. Abril
<http://www.freepatentsonline.com/6379712.html>.
20070813

49. **YAN, J. CHENG, J.** 2003. Colloidal nanosilver solution and method for making the same. Pub. no.: US 2003/0185889 A1. USA. 14 p. Octubre
<http://www.freepatentsonline.com/20030185889.html>.
20070813

50. **YAN, J. CHENG, J.** 2003. Antimicrobial yarn having nanosilver particles and methods for manufacturing the same. Pub. No.: US 2003/0190851 A1. USA. 14 p. Octubre
<http://www.freepatentsonline.com/20030190851.html>.
20070813

CAPITULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO 1. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE MASTITIS SUBCLÍNICA MEDIANTE CMT EN LOS BOVINOS DE LECHE PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI.

CUARTOS					
No. Bovino	Código Bovino	Anterior Derecho	Anterior Izquierdo	Posterior Derecho	Posterior Izquierdo
1	157	+	+	-	-
2	234	-	-	+	+
3	238	T	-	-	-
4	341	T	-	T	-
5	242	+	-	-	-
6	244	-	+	-	-
7	273	T	T	+	+
8	278	-	-	-	-
9	280	-	-	T	T
10	282	-	-	-	-
11	291	+	+	-	-
12	296	-	+	-	-
13	305	-	-	+	-
14	312	++	++	T	++
15	314	+	T	-	-
16	336	-	-	+	-
17	347	+	-	+	-

18	365	-	-	-	-
19	367	-	-	+	-
20	371	-	-	-	+
21	372	-	-	-	-
22	380	-	-	-	-
23	386	T	-	-	-
24	388	-	-	-	-
25	394	T	T	-	-
26	395	-	T	-	-
27	396	-	-	-	-
28	398	-	-	-	-
29	405	-	-	-	+
30	406	-	-	-	-
31	413	-	-	-	-
32	417	+	-	-	-
33	422	+	-	+	-
34	423	++	++	-	-
35	424	-	-	-	-
36	427	+	+	T	T
37	433	-	-	-	-
38	436	T	T	T	T

ANEXO 2. RESULTADOS DE DIAGNOSTICO DE MASTITIS RESPECTO A LOS CUARTOS EVALUADOS.

RESULTADOS	CUARTOS				TOTAL	% TOTAL	# VACAS
	ANT. DERECHO	ANT. IZQUIERDO	POST. DERECHO	POST. IZQUIERDO			
-	22	26	26	30	104	68,42	26
T (trazas)	6	5	5	3	19	12,50	5
+	8	5	7	4	24	15,79	6
++	2	2	0	1	5	3,29	1
+++	0	0	0	0	0	0,00	0
TOTAL	38	38	38	38	152	100,00	38

ANEXO 3. RESULTADOS DE INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLINICA EN LOS BOVINOS DE LECHE PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI.

RESULTADOS	NUMERO DE HATOS	PORCENTAJE
Negativo (N)	10	26,32
Mastitis Subclínica (T,+)	26	68,42
Mastitis Clínica (++)	2	5,26
Infección Seria (+++)	0	0
TOTAL	38	

ANEXO 4. BOVINOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA SELECCIONADOS PARA LAS PRUEBAS “*in vitro*” E “*in vivo*”.

No.	CODIGO BOVINO	CUARTOS			
		Anterior Derecho	Anterior Izquierdo	Posterior Derecho	Posterior Izquierdo
1	157	+	+	-	-
2	234	-	-	+	+
3	242	+	-	-	-
4	244	-	+	-	-
5	273	T	T	+	+
6	291	+	+	-	-
7	296	-	+	-	-
8	305	-	-	+	-
9	314	+	T	-	-
10	336	-	-	+	-
11	347	+	-	+	-
12	367	-	-	+	-
13	371	-	-	-	+
14	405	-	-	-	+
15	417	+	-	-	-
16	422	+	-	+	-
17	427	+	+	T	T

ANEXO 5. MICROORGANISMOS AISLADOS DE LAS MUESTRAS DE LECHE TOMADAS DE LOS BOVINOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI.

No	CODIGO BOVINO	COD. BACT.	CUARTOS			
			Anterior Derecho (AD)	Anterior Izquierdo (AI)	Posterior Derecho (PD)	Posterior Izquierdo (PI)
1	157	A	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		
2	234	B			<i>Escherichia coli</i>	1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2) <i>Escherichia coli</i> s
3	242	C	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			
4	244	D		1) <i>Escherichia coli</i> 2) <i>Staphylococcus aureus</i>		
5	273	E	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2) <i>Staphylococcus aureus</i>	1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2) <i>Staphylococcus aureus</i>
6	291	F	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		
7	296	G		1) <i>Bacillus sp</i> 2) <i>Staphylococcus aureus</i>		
8	305	H			<i>Escherichia coli</i>	
9	314	I	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		
10	336	J			<i>Staphylococcus aureus</i>	
11	347	K	<i>Bacillus sp</i>		<i>Bacillus sp.</i>	
12	367	L			<i>Staphylococcus aureus</i>	
13	371	M				1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2) <i>Escherichia coli</i>

14	405	N				<i>Staphylococcus aureus</i>
15	417	O	1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2) <i>Escherichia coli</i>			
16	422	P	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			<i>Staphylococcus epidermidis</i>
17	427	Q	1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2) <i>Staphylococcus aureus</i>	1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2) <i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>

ANEXO 6. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS “in vitro” DE *Staphylococcus aureus*.

XLSTAT 7.5.2 - ANOVA

Variable(s) dependiente(s): libro = estadisticas.xls

Ponderación uniforme (predeterminado)

Variables cualitativas: libro = estadisticas.xls /

Ningún dato omitido detectado

Restricciones: a1 = 0

Tipo I SS, III SS

Efectuar pruebas de comparaciones múltiples

Intervalo de confianza (%): 95,00

Modelización de la variable LOG UFC:

Resumen para la variable dependiente:

Variable	Núm. total de valores	Núm. de valores utilizados	Núm. de valores ignorados	Suma de los pesos	Media	Desviación típica
LOG UFC	16	16	0	16	4,840	0,143

Resumen para las variables cualitativas:

Variable	Número de categorías	Categorías	Frecuencias
TRATAMIENTO	4	T1 ~ T2 ~ T3 ~ T4	4 ~ 4 ~ 4 ~ 4

Coefficientes de ajuste:

R (coeficiente de correlación)	0,955
R ² (coeficiente de determinación)	0,911
R ² aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,889
SCR	0,027

Evaluación del valor de la información originado por las variables (H0 = Y=Moy(Y)):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	0,281	0,094	41,046	< 0,0001
Residuos	12	0,027	0,002		
Total	15	0,308			

Análisis del modelo (Tipo I SS):

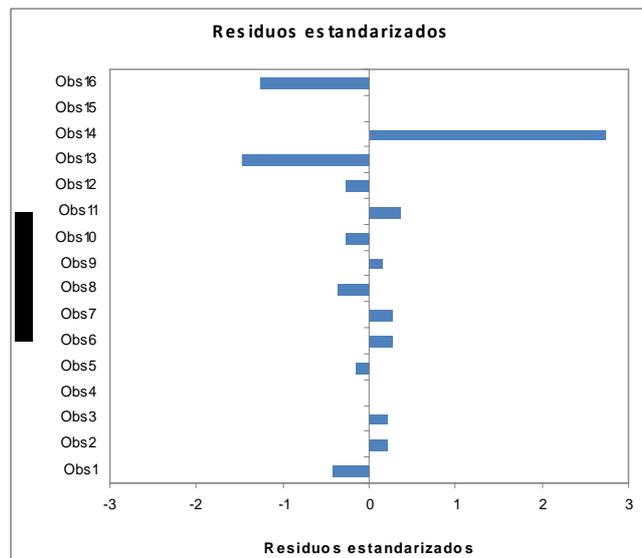
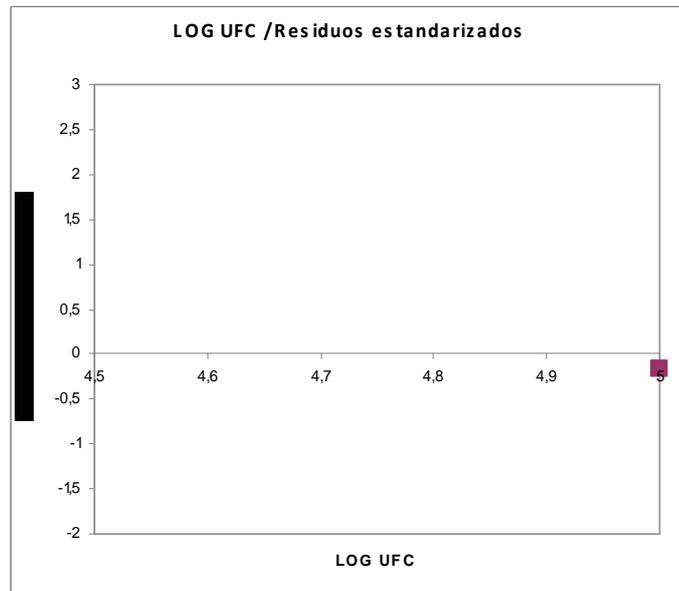
Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
TRATAMIENTO	3	0,281	0,094	41,046	< 0,0001

Análisis del modelo (Tipo III SS):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
TRATAMIENTO	3	0,281	0,094	41,046	< 0,0001

Parámetros del modelo:

Parámetro	Valor	Desviación típica	t de Student	Pr > t	Límite inferior 95 %	Límite superior 95 %
Intersección	4,950	0,024	207,371	< 0,0001	4,898	5,002
TRATAMIENTO-T1	0,000	-	-	-	-	-
TRATAMIENTO-T2	-0,012	0,034	-0,370	0,718	-0,086	0,061
TRATAMIENTO-T3	-0,097	0,034	-2,888	0,014	-0,171	-0,024
TRATAMIENTO-T4	-0,330	0,034	-9,776	< 0,0001	-0,404	-0,256



Pruebas de comparaciones múltiples para la variable TRATAMIENTO:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95,00 %:

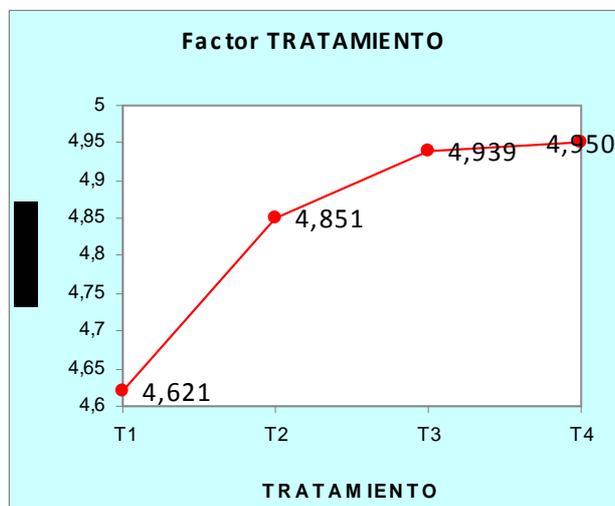
Categorías	Diferencia	Diferencia		Pr. > Dif	Significativo
		estandarizada	Valor crítico		
T1 ~ T4	0,330	9,776	2,969	0,000	Sí
T1 ~ T3	0,098	2,888	2,969	0,057	No
T1 ~ T2	0,013	0,370	2,969	0,982	No
T2 ~ T4	0,318	9,405	2,969	0,000	Sí
T2 ~ T3	0,085	2,518	2,969	0,107	No
T3 ~ T4	0,233	6,887	2,969	0,001	Sí

Valor crítico del *d* de Tukey: 4,199

Ordenación y agrupamientos de los grupos no significativamente diferentes:

Categorías	Media	Agrupamientos
T1	4,950	A
T2	4,938	A
T3	4,853	A
T4	4,620	B

Gráfico de las medias:



ANEXO 7. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS “*in vitro*” DE *Staphylococcus epidermidis*

XLSTAT 7.5.2 - ANOVA -

Variable(s) dependiente(s): libro = estadisticas.xls

Ponderación uniforme (predeterminado)

Ningún dato omitido detectado

Restricciones: $\alpha = 0$

Tipo I SS, III SS

Efectuar pruebas de comparaciones múltiples

Intervalo de confianza (%): 95,00

Modelización de la variable LOG UFC:

Resumen para la variable dependiente

Variable	Núm. total de valores	Núm. de valores utilizados	Núm. de valores ignorados	Suma de los pesos	Media	Desviación típica
LOG UFC	68	68	0	68	4,035	0,203

Resumen para las variables cualitativas

Variable	Número de categorías	Categorías	Frecuencias
TRATAMIENTO	4	T1 ~ T2 ~ T3 ~ T4	17 ~ 17 ~ 17 ~ 17

Coefficientes de ajuste:

R (coeficiente de correlación)	0,873
R ² (coeficiente de determinación)	0,763
R ² aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,751
SCR	0,653

Evaluación del valor de la información originado por las variables (H0 = Y=Moy(Y)):

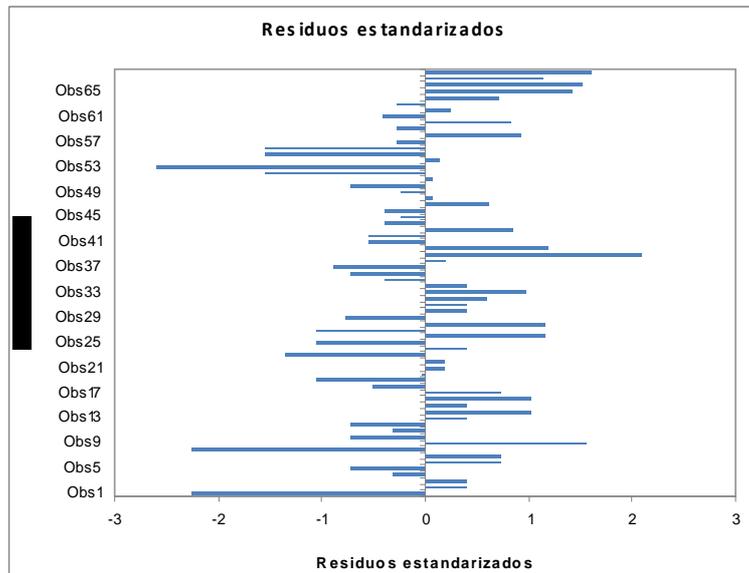
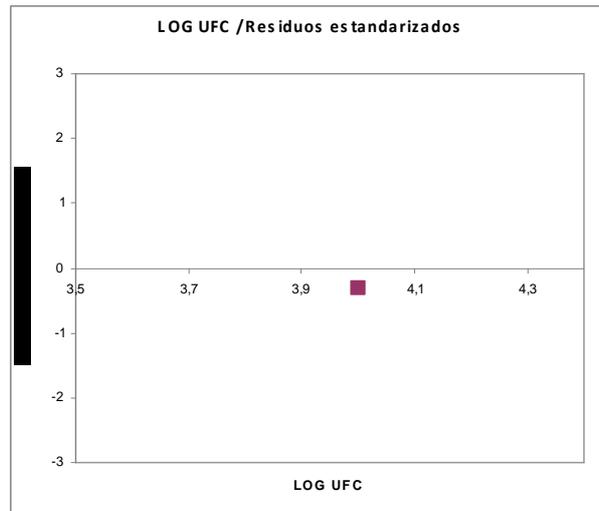
Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	2,098	0,699	68,534	< 0.0001
Residuos	64	0,653	0,010		
Total	67	2,751			

Análisis del modelo (Tipo I SS):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
TRATAMIENTO	3	2,098	0,699	68,534	< 0.0001

Parámetros del modelo:

Parámetro	Valor	Desviación típica	t de Student	Pr > t	Límite inferior 95 %	Límite superior 95 %
Intersección	3,772	0,024	153,992	< 0.0001	3,724	3,821
TRATAMIENTO-T1	0,000	-	-	-	-	-
TRATAMIENTO-T2	0,209	0,035	6,023	< 0.0001	0,139	0,278
TRATAMIENTO-T3	0,397	0,035	11,461	< 0.0001	0,328	0,466
TRATAMIENTO-T4	0,445	0,035	12,858	< 0.0001	0,376	0,515



Pruebas de comparaciones múltiples para la variable TRATAMIENTO:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95.00 %:

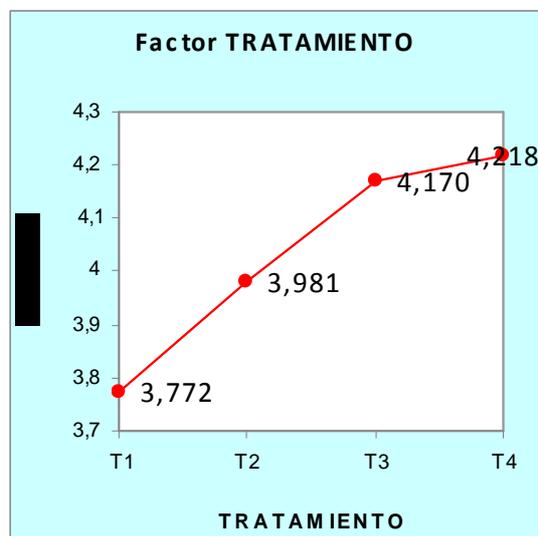
Categorías	Diferencia	Diferencia		Pr. > Dif	Significativo
		estandarizada	Valor crítico		
T4 ~ T1	0,445	12,858	2,638	< 0.0001	Sí
T4 ~ T2	0,237	6,835	2,638	< 0.0001	Sí
T4 ~ T3	0,048	1,397	2,638	0,506	No
T3 ~ T1	0,397	11,461	2,638	< 0.0001	Sí
T3 ~ T2	0,188	5,438	2,638	< 0.0001	Sí
T2 ~ T1	0,209	6,023	2,638	< 0.0001	Sí

Valor crítico del *d* de Tukey: 3.730

Ordenación y agrupamientos de los grupos no significativamente diferentes:

Categorías	Media	Agrupamientos
T4	4,218	A
T3	4,170	A
T2	3,981	B
T1	3,772	C

Gráfico de las medias:



ANEXO 8. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS “*in vitro*” DE *Escherichia coli*.

XLSTAT 7.5.2 - ANOVA

Variable(s) dependiente(s): libro = estadisticas.xls

Ponderación uniforme (predeterminado)

Variables cualitativas: libro = estadisticas.xls

Ningún dato omitido detectado

Restricciones: $\alpha_1 = 0$

Tipo I SS, III SS

Efectuar pruebas de comparaciones múltiples

Intervalo de confianza (%): 95.00

Modelización de la variable LOG UFC:

Resumen para la variable dependiente:

Variable	Núm. total de valores	Núm. de valores utilizados	Núm. de valores ignorados	Suma de los pesos	Media	Desviación típica
LOG UFC	24	24	0	24	3,769	0,225

Resumen para las variables cualitativas:

Variable	Número de categorías	Categorías	Frecuencias
TRATAMIENTO	4	T1 ~ T2 ~ T3 ~ T4	6 ~ 6 ~ 6 ~ 6

Coefficientes de ajuste:

R (coeficiente de correlación)	0,863
R ² (coeficiente de determinación)	0,746
R ² aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,707
SCR	0,297

Evaluación del valor de la información originado por las variables (H0 = Y=Moy(Y)):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	0,870	0,290	19,539	< 0.0001
Residuos	20	0,297	0,015		
Total	23	1,167			

Análisis del modelo (Tipo I SS):

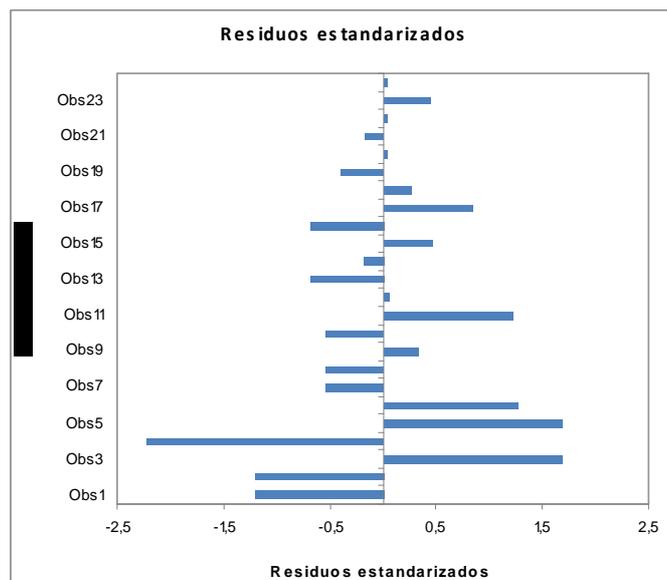
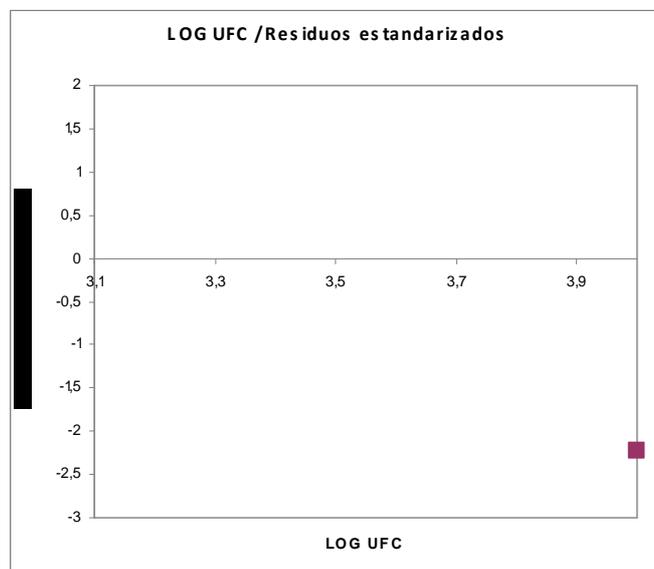
Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
TRATAMIENTO	3	0,870	0,290	19,539	< 0.0001

Análisis del modelo (Tipo III SS):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
TRATAMIENTO	3	0,870	0,290	19,539	< 0.0001

Parámetros del modelo:

Parámetro	Valor	Desviación típica	t de Student	Pr > t	Límite inferior 95 %	Límite superior 95 %
Intersección	3,448	0,050	69,311	< 0.0001	3,344	3,552
TRATAMIENTO-T1	0,000	-	-	-	-	-
TRATAMIENTO-T2	0,358	0,070	5,086	< 0.0001	0,211	0,505
TRATAMIENTO-T3	0,450	0,070	6,392	< 0.0001	0,303	0,596
TRATAMIENTO-T4	0,476	0,070	6,770	< 0.0001	0,330	0,623



Pruebas de comparaciones múltiples para la variable TRATAMIENTO:

Tuckey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95.00 %:

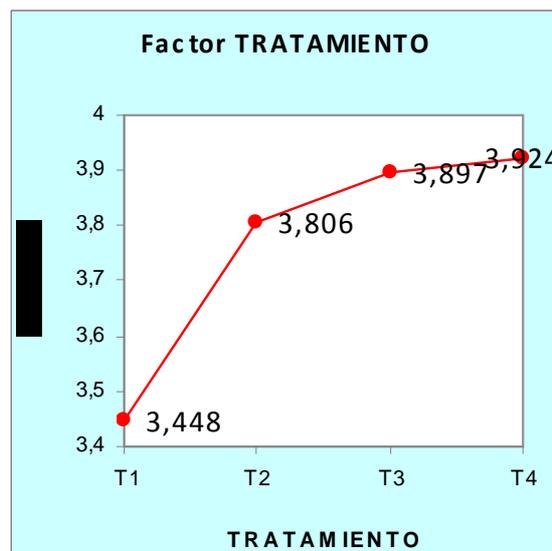
Categorías	Diferencia	Diferencia		Pr. > Dif	Significativo
		estandarizada	Valor crítico		
T4 ~ T1	0,476	6,770	2,799	< 0.0001	Sí
T4 ~ T2	0,118	1,684	2,799	0,358	No
T4 ~ T3	0,027	0,378	2,799	0,981	No
T3 ~ T1	0,450	6,392	2,799	< 0.0001	Sí
T3 ~ T2	0,092	1,306	2,799	0,570	No
T2 ~ T1	0,358	5,086	2,799	0,000	Sí

Valor crítico del d de Tuckey: 3.958

Ordenación y agrupamientos de los grupos no significativamente diferentes:

Categorías	Media	Agrupamientos
T4	3,924	A
T3	3,897	A
T2	3,806	A
T1	3,448	B

Gráfico de las medias:



ANEXO 9. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS “in vitro” DE *Bacillus* sp

XLSTAT 7.5.2 - ANOVA

Variable(s) dependiente(s): libro = estadisticas.xls

Ponderación uniforme (predeterminado)

Variables cualitativas: libro = estadisticas.xls

Ningún dato omitido detectado

Restricciones: a1 = 0

Tipo I SS, III SS

Efectuar pruebas de comparaciones múltiples

Intervalo de confianza (%): 95.00

Modelización de la variable LOG UFC:

Resumen para la variable dependiente:

Variable	Núm. total de valores	Núm. de valores utilizados	Núm. de valores ignorados	Suma de los pesos	Media	Desviación típica
LOG UFC	12	12	0	12	3,832	0,216

Resumen para las variables cualitativas:

Variable	Número de categorías	Categorías	Frecuencias
TRATAMIENTO	4	T1 ~ T2 ~ T3 ~ T4	3 ~ 3 ~ 3 ~ 3

Coefficientes de ajuste:

R (coeficiente de correlación)	0,858
R ² (coeficiente de determinación)	0,736
R ² aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,637
SCR	0,135

Evaluación del valor de la información originado por las variables (H0 = Y=Moy(Y)):

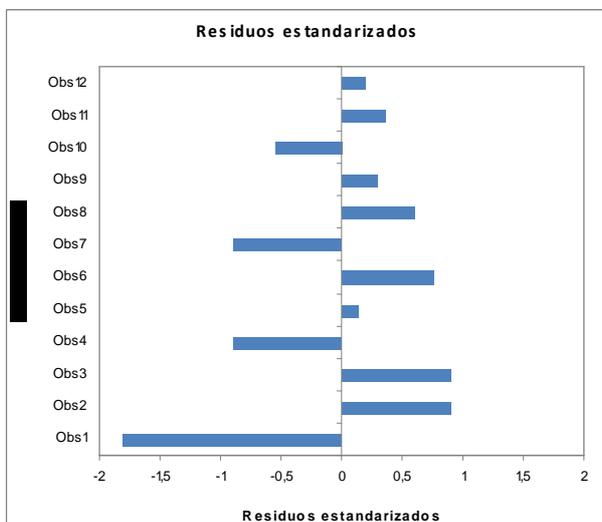
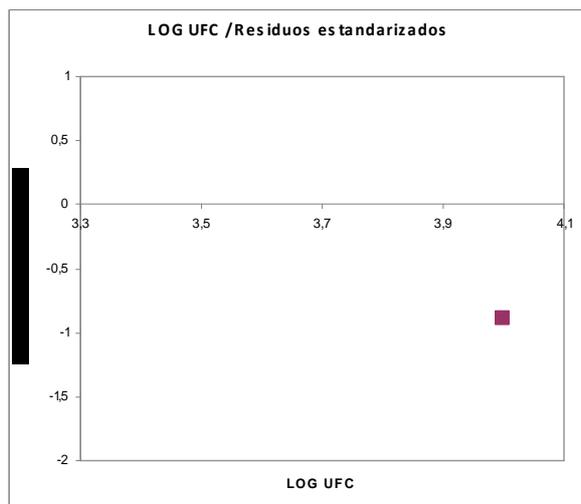
Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
Modelo	3	0,377	0,126	7,423	0,011
Residuos	8	0,135	0,017		
Total	11	0,512			

Análisis del modelo (Tipo I SS):

Fuente	GDL	Suma los cuadrados	Cuadrado medio	F de Fisher	Pr > F
TRATAMIENTO	3	0,377	0,126	7,423	0,011

Parámetros del modelo:

Parámetro	Valor	Desviación típica	t de Student	Pr > t	Límite inferior 95 %	Límite superior 95 %
Intersección	3,536	0,075	47,072	< 0.0001	3,363	3,709
TRATAMIENTO-T1	0,000	-	-	-	-	-
TRATAMIENTO-T2	0,321	0,106	3,019	0,017	0,076	0,566
TRATAMIENTO-T3	0,426	0,106	4,013	0,004	0,181	0,671
TRATAMIENTO-T4	0,439	0,106	4,132	0,003	0,194	0,684



Pruebas de comparaciones múltiples para la variable TRATAMIENTO:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95.00 %:

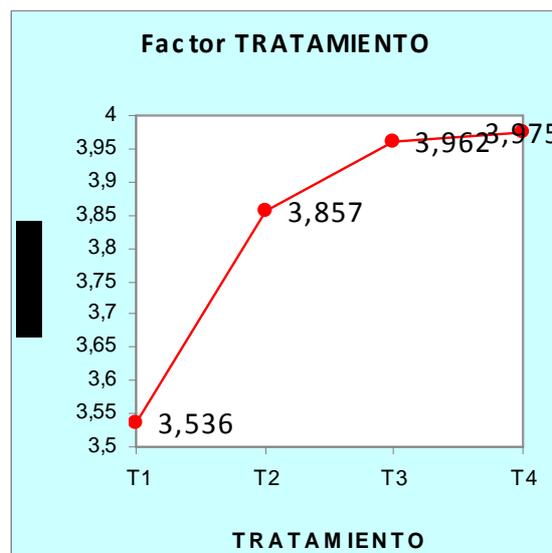
Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
T4 ~ T1	0,439	4,132	3,202	0,014	Sí
T4 ~ T2	0,118	1,113	3,202	0,692	No
T4 ~ T3	0,013	0,119	3,202	0,999	No
T3 ~ T1	0,426	4,013	3,202	0,016	Sí
T3 ~ T2	0,106	0,994	3,202	0,757	No
T2 ~ T1	0,321	3,019	3,202	0,065	No

Valor crítico del d de Tukey: 4.529

Ordenación y agrupamientos de los grupos no significativamente diferentes:

Categorías	Media	Agrupamientos
T4	3,975	A
T3	3,962	A
T2	3,857	A B
T1	3,536	B

Gráfico de las medias:



ANEXO 10. FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No 1. INSTALACIONES DE LA SECCIÓN ORDEÑO DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007



FOTOGRAFÍA No 2. PROCESO DE ORDEÑO DE LOS BOVINOS DE LECHE PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007



FOTOGRAFÍA No 3. DIAGNOSTICO DE MASTITIS MEDIANTE LA PRUEBA DE CMT (CALIFORNIA MASTITIS TEST) EN LOS BOVINOS DE LECHE PROPIEDAD DE LA UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007



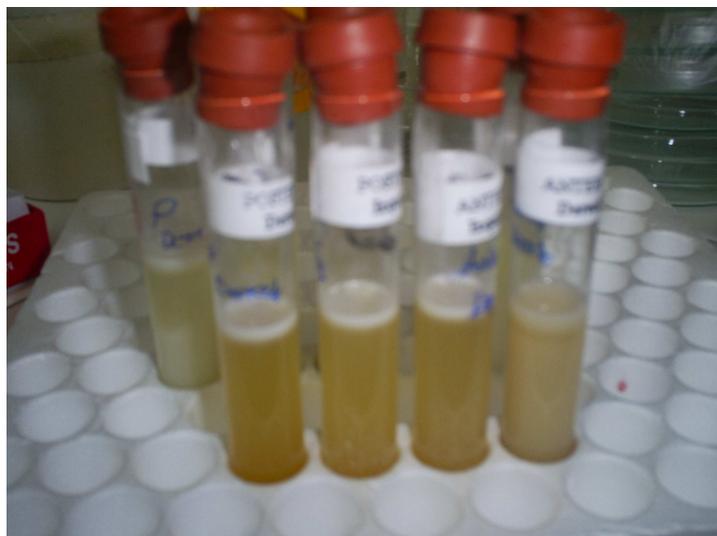
FOTOGRAFÍA No 4. TOMA DE MUESTRAS DE LECHE DE LOS BOVINOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA PROPIEDAD DE UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007



FOTOGRAFÍA No 5. TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS DE LECHE LOS BOVNOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA PROPIEDAD DE UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007



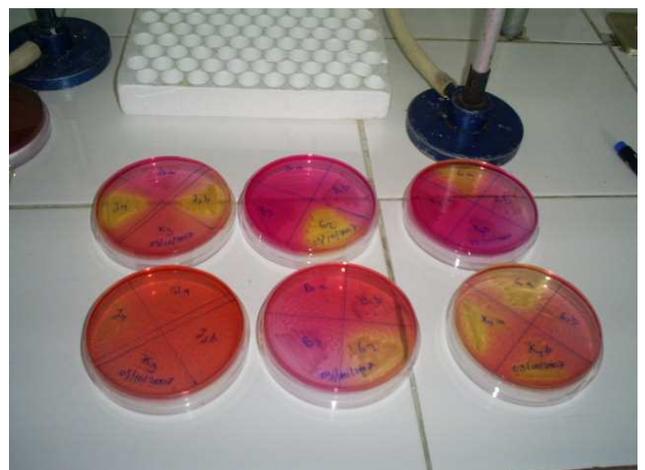
FOTOGRAFÍA No 6. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE LECHE LOS BOVINOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA PROPIEDAD DE UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO-OCTUBRE DEL 2007



FOTOGRAFÍA No 7. AISLAMIENTO DE LAS BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-2008



FOTOGRAFÍA No 8. IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. NOVIEMBRE-2008



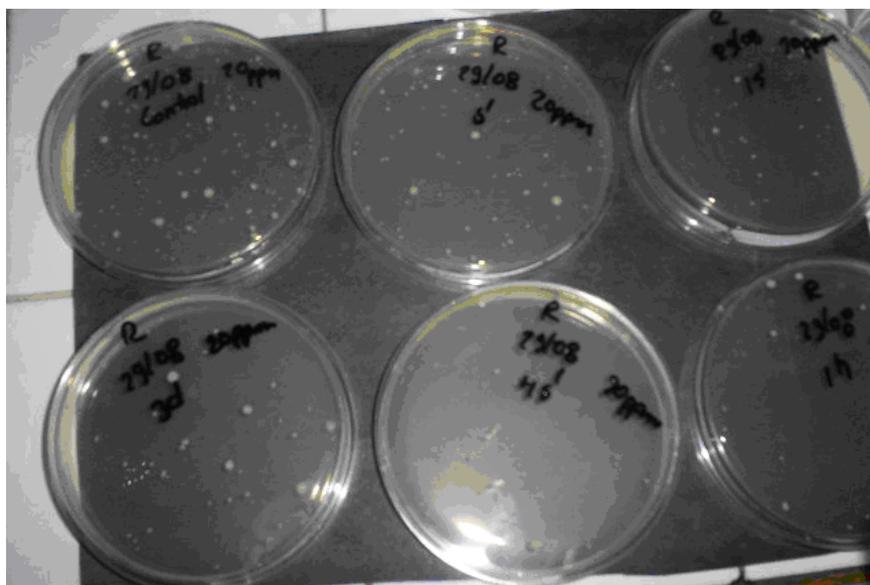
FOTOGRAFÍA No 9. PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE BACTERIAS PARA LAS PRUEBAS "IN VITRO". LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2007-MARZO 2008.



FOTOGRAFÍA No 10. SIEMBRA A PROFUNDIDAD CON AGAR SOYA TRIPTICA DE LAS DILUCIONES DE BACTERIAS MÁS NANO-PLATA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA. LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2007-MARZO 2008.



FOTOGRAFÍA No 11. CONTAJE DE LAS UFC/mL PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA. LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2007-MARZO 2008.



FOTOGRAFÍA No 12. TRATAMIENTO "in vivo" DE NANO PLATA SOBRE LOS BOVINOS DE LECHE CON MASTITIS SUBCLÍNICA PROPIEDAD DE UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL-MAYO 2008



FOTOGRAFÍA No 13. EVALUACIÓN CON CMT POST TRATAMIENTO “in vivo” DE NANO PLATA SOBRE LOS BOVINOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA PROPIEDAD DE UNIDAD PRODUCTIVA TUNSHI FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL-MAYO 2008

