

01621
82



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES**

**"EFICACIA DE TRES ANTISÉPTICOS UTILIZADOS EN
LA PREPARACIÓN DE VACAS AL ORDEÑO CON
BASE EN LA REDUCCIÓN DE LA POBLACIÓN
BACTERIANA SOBRE LOS PEZONES"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

FRANCISCO SILVA MARTÍNEZ

Asesores:

MVZ, MSc. Salvador Avila Téllez
MVZ, MC. Abner J. Gutiérrez Chávez
MVZ, J. Ignacio Sánchez Gómez
MVZ, MPA. Edgardo Canizal Jiménez



México, D.F.

2003

I



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcionado.

NOMBRE: FRANCISCO SILVO MARTINEZ

FECHA: 17-SEP-03

FIRMA: [Firma]

ESTE TRABAJO FORMA PARTE DE LA
LINEA DE INVESTIGACIÓN
CLAVE 85.4: MASTITIS EN RUMIANTES

Gracias a Dios y a la vida

AGRADECIMIENTOS

A mis Asesores: MVZ Salvador Ávila Téllez, MVZ Abner J: Gutierrez Chavez, MVZ Jose Ignacio Sánchez G, MVZ Edgardo Canizal J.

Al Ing. Juan Ángel Andonegui Luna y Laboratorios Andoci por el apoyo incondicional y cooperación para la realización de este trabajo.

Al MVZ Ernesto Bachtold y Laboratorios Maver por su cooperación para el desarrollo de este trabajo.

A mi Jurado: MVZ Gustavo Adolfo García Delgado, MVZ Víctor Manuel Moreno Díaz, MVZ Pedro Cano Celada, MVZ Edgar Alfonseca Silva, MVZ Salvador Ávila Téllez, por sus comentarios para un mejor desarrollo de este trabajo

MVZ. FRANCISCO SILVA MARTPINEZ.

CONTENIDO

1.0 Resumen	1
2.0 Introducción	2
2.1 Antecedentes	2
2.2 Hipótesis	3
2.3 Objetivo General	3
2.4 Objetivos Específicos	3
3.0 Material y Métodos	4
3.1 Localización de la Unidad de producción	4
3.2 Selección de la unidad de producción	4
3.3 Diseño experimental	4
3.4 Recolección y preparación de muestras	5
3.5 Preparación de diluciones	5
3.6 Análisis estadístico	5
4.0 Resultados	7
5.0 Discusión	8
6.0 Literatura citada	12
7.0 Cuadros	14
8.0 Figuras	17
9.0 Anexos	19

CUADROS

Cuadro 1. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS MESOFÍLICOS AEROBIOS EN PLACA SOBRE LA SUPERFICIE DE PEZONES DE VACAS ANTES Y DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LOS PEZONES AL ORDEÑO.	14
Cuadro 2. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA SOBRE LA SUPERFICIE DE PEZONES DE VACAS ANTES Y DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LOS PEZONES AL ORDEÑO.	15
Cuadro 3. EFICACIA PROMEDIO DE TRES ANTISÉPTICOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DE PEZONES DE VACAS PARA EL ORDEÑO, MEDIANTE LA REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS TANTO MESOFÍLICOS AEROBIOS COMO COLIFORMES TOTALES EN PLACA	16

FIGURAS

- Figura 1. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS PROMEDIO DE MICROORGANISMOS MESOFÍLICOS AEROBIOS PRESENTES EN LOS PEZONES ANTES Y DESPUÉS DE APLICAR EL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ACUERDO AL GRUPO CORRESPONDIENTE. 17
- Figura 2. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS PROMEDIO DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES PRESENTES EN LOS PEZONES ANTES Y DESPUÉS DE APLICAR EL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ACUERDO AL GRUPO CORRESPONDIENTE. 17
- Figura 3. PORCENTAJE DE EFICACIA DE TRES ANTISÉPTICOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DE PEZONES DE VACAS PARA EL ORDEÑO, MEDIANTE LA REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS TANTO MESOFÍLICOS AEROBIOS COMO COLIFORMES TOTALES EN PLACA. 18

ANEXOS

I.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
II-A	PREPARACIÓN DE MATERIAL	20
II-B	TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS	21
II-C	PROCEDIMIENTO DE CULTIVO	22
II-D	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	23

1.0 RESUMEN

SILVA MARTÍNEZ FRANCISCO. Eficacia de tres antisépticos utilizados en la preparación de vacas al ordeño con base en la reducción de la población bacteriana sobre los pezones (bajo la dirección de MVZ. Salvador Avila Téllez, MVZ. Abner Josué Gutiérrez Chávez, MVZ. José Ignacio Sánchez Gómez y MVZ. Edgardo Canizal Jiménez).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la eficacia de tres diferentes antisépticos utilizados en la preparación de pezones de vacas al ordeño, mediante la cuantificación del número de unidades formadoras de colonias presentes sobre la superficie de los pezones de vacas. Se utilizaron 20 vacas Holstein-Friesian de la cuenca lechera de Xochimilco, D.F. las cuales fueron divididas en 4 grupos con base en el método de preparación de los pezones para el ordeño: Grupo T (Testigo), comprendió la preparación de los pezones con agua y secado con una toalla desechable de papel; Grupo A, preparación de los pezones con antiséptico (Digluconato de Clorhexidina al 0.05% + Etanol) y secado con toallas desechables de papel; Grupo B, preparación de los pezones con antiséptico (Digluconato de Clorhexidina 0.05%) y secado con toallas desechables de papel; y Grupo C, preparación de los pezones con un antiséptico (Alfa-alkil 1.72%+ yodo disponible 2 g) y secado de pezones con toallas desechables de papel. Las muestras se procesaron de acuerdo a la metodología descrita en las NOM-110-SSA1-1994, NOM-092-SSA1-1994 y NOM-113-SSA1-1994. Resultó que el número promedio de unidades formadoras de colonias de microorganismos mesofílicos aerobios (MA) fue para el Grupo "T", antes 14,306 y después 45,480 ufc/ml, observándose un incremento de la población bacteriana de 3.76 veces después de la preparación; Grupo "A", antes 54,437 y después 481 ufc/ml, presentando una eficacia de 97%; Grupo "B", antes 31,620 y después 1,023 ufc/ml, con una eficacia de 95% y Grupo "C", antes 483,120 y después 582,741 ufc/ml, observándose un incremento de la población bacteriana de 0.06 veces después de la preparación, respectivamente. Con respecto a los microorganismos coliformes totales (CT), para el Grupo "T" antes 23,790 y 30,134 ufc/ml después, observándose un incremento de la población bacteriana de 10.47 veces después de la preparación; Grupo "A", antes 9,909 y después una ausencia de crecimiento de ufc/ml, logrando una eficacia del 100%; Grupo "B", antes 11,700 y después 4 ufc/ml, con una eficacia de 97% y Grupo "C", antes 13,909 y después 689 ufc/ml, presentando una eficacia de 61%. En conclusión, el antiséptico que mostró una mayor eficacia para la reducción de la población bacteriana tanto de microorganismos MA como de CT fue el perteneciente al grupo "A" (digluconato de clorhexidina al 0.05% + etanol al 70%) con un 97 y 100%, respectivamente. El segundo lugar en cuanto a eficacia fue para el grupo "B" (digluconato de clorhexidina al 0.05%) con un 95 y 97%, respectivamente. En tercer lugar y con unos resultados inconsistentes fue para el grupo "C" (Alfa-alkil 1.72%+ yodo disponible 2 g) con incluso un incremento de 0.06 veces la cantidad inicial de ufc/ml de MA y un 61% de eficacia para CT, misma que se considera baja. Finalmente el grupo "T", mostró las cuentas más elevadas de unidades formadoras de colonias (MA= incrementó 3.76 veces y CT= incrementó 10.47 veces) debido a que no se utilizaba antiséptico alguno. Por lo anterior, si la selección del antiséptico a utilizar en la preparación de pezones al ordeño se realiza con base en la reducción de la población bacteriana presente sobre los pezones, y se aplica un adecuado procedimiento de preparación de los pezones, se logrará cumplir el objetivo, el cual es que los pezones al momento del ordeño estén limpios, secos y desinfectados.

2.0 INTRODUCCIÓN

2.1 Antecedentes

La calidad microbiológica e inocuidad de la leche y sus derivados, son los principales aspectos a considerarse en la industria lechera.¹ Esta calidad variará ampliamente de acuerdo al método de producción. Independientemente del sistema de producción, existen tres principales fuentes de contaminación de la leche: 1) del interior de la glándula mamaria por microorganismos, sustancias tóxicas o agentes quimioterapéuticos, 2) del exterior de la ubre con desechos orgánicos, microorganismos y antisépticos y 3) de la limpieza del equipo para ordeño y utensilios utilizados para el manejo de la leche.^{2,3}

La higiene previa al ordeño, reduce la población de microorganismos en la ubre y esto es un componente esencial en los programas de control de mastitis y calidad de leche.^{4,5}

La preparación de la ubre previo al ordeño incluye la limpieza de los pezones, aplicación de un antiséptico y secado de los mismos con toallas limpias y preferentemente desechables, con el propósito de mejorar la calidad higiénica de la leche cruda en tanque dado por la reducción del número de microorganismos ambientales y patógenos sobre la superficie del pezón;^{6,7} además de sus efectos sobre la calidad de la leche, también reduce la incidencia de casos clínicos de mastitis en la unidad de producción.^{6,8,9} La utilización de antisépticos en las prácticas de higiene previas al ordeño tiene como objetivo principal la reducción de la población bacteriana en la superficie de los pezones y en consecuencia la reducción de microorganismos en la leche en tanque, considerando la importancia que tiene el hecho que se puedan generar por su presencia residuos del antiséptico en la leche.⁵

El efecto de la utilización de antisépticos para preparar los pezones previo al ordeño, depende de las características y cantidad de materia orgánica acumuladas sobre éstos, así como de la contaminación de los pezones. También

dependerá del tipo, concentración y métodos de aplicación del antiséptico seleccionado.^{6,10}

2.2 Hipótesis

La limpieza de los pezones con un antiséptico, reducirá el número de unidades formadoras de colonias sobre éste, registrando una variación en los resultados según la composición del producto comercial

2.3 Objetivo general

Determinar la eficacia de tres diferentes antisépticos utilizados en la preparación de pezones de vacas al ordeño, mediante la cuantificación del número de unidades formadoras de colonias presentes sobre la superficie de los pezones de vacas.

2.4 Objetivos específicos

- 2.4.1 Determinar el número de ufc/ml de microorganismos mesofílicos aerobios (MA) y coliformes totales (CT) en placa, presentes en la superficie de los pezones de vacas antes de la preparación para el ordeño.
- 2.4.2 Determinar el número de ufc/ml de microorganismos MA y CT en placa, presentes en la superficie de los pezones de vacas, posterior a la preparación para el ordeño con tres diferentes antisépticos.

3.0 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Localización

El estudio se realizó con ganado bovino especializado en producción de leche en diferentes unidades de producción pertenecientes a la cuenca lechera de Xochimilco, D.F., ubicada al sureste de la Ciudad de México, localizada a 19° 16' latitud Norte y 99° 06' longitud Oeste, a 2,240 msnm, en una región templada con temperatura media anual de 14 a 16° C con precipitación pluvial de 700 a 800 mm anuales y clima tipo C (Wo)(w)B(I').¹¹

3.2 Selección de unidades de producción

La cuenca lechera estaba constituida por 21 unidades de producción que en promedio se integraron por 14±8 vacas. Las unidades de producción fueron seleccionadas con base en la disposición y cooperación por parte de los productores, para la realización de la investigación.

3.3 Diseño experimental

Se utilizaron 20 vacas Holstein-Friesian divididas en 4 grupos con base en el método de preparación de los pezones para el ordeño: Grupo T (Testigo), comprendió la preparación de los pezones con agua y secado con una toalla desechable de papel; Grupo A, preparación de los pezones con antiséptico (Diguconato de Clorhexidina al 0.05% + Etanol al 70%) y secado con toallas desechables de papel; Grupo B, preparación de los pezones con antiséptico (Diguconato de Clorhexidina 0.05%) y secado con toallas desechables de papel; y Grupo C, preparación de los pezones con un antiséptico (Alfa-alkil 1.72%+ iodo disponible 2 g) y secado de pezones con toallas desechables de papel.

3.4 Recolección y preparación de las muestras.

Para la obtención de las muestras para el análisis bacteriológico de los pezones de las vacas, se tomaron muestras de 4 vacas por semana, el tipo de preparación de los pezones (Grupos experimentales T, A, B, y C), se asignaron aleatoriamente. Se utilizó un frasco de vidrio de boca ancha que contenía 50 ml de Solución Amortiguadora de Fosfatos esterilizada (SAF); se utilizó un frasco diferente por cada uno de los pezones de cada vaca que correspondían a sus respectivos grupos. Se introdujo el pezón de la vaca al frasco según correspondiera al grupo, cuidando el no tocar la base del pezón con la boca del frasco; se agitó el frasco repetidas veces para que la solución entrara en contacto con el pezón y por medio del lavado se obtuvo una muestra de la superficie del pezón para cuantificar el número de ufc/ml de microorganismos mesofílicos aerobios (MA) y coliformes totales (CT) en placa.¹² Las muestras se transportaron en refrigeración al Laboratorio de Análisis Químicos y Bacteriológicos (Lab. Andocl de México).

3.5 Preparación de diluciones

Se procedió a la realización de las diluciones decimales para el cultivo de microorganismos MA y CT en placa, según el material y métodos descritos en las NOM-110-SSA1-1994, NOM-092-SSA1-1994 y NOM-113-SSA1-1994, respectivamente.^{13,14,15}

3.6 Análisis estadístico.

Los datos de las cuentas bacterianas de MA y CT, fueron transformados en una escala Log₁₀; datos a los cuales se les aplicó la prueba de Shapiro-Wilk W para determinar la distribución normal de los mismos. Posteriormente, se calculó el Índice de reducción, dado por la diferencia entre las cuentas bacterianas obtenidas antes y después de la preparación de los pezones. Finalmente para

comparar los resultados de los promedios de las cuentas bacterianas por grupo de tratamiento, se utilizó la prueba de Tukey (ver anexo I).^{16,17} Lo anterior, se realizó con la ayuda y aplicación de un paquete estadístico de cómputo (Statistica®).

4.0 RESULTADOS

La cantidad promedio de unidades formadoras de colonias de microorganismos MA antes y después del procedimiento de preparación correspondiente fue para el Grupo "T" de 14,306 y 45,480 ufc/ml, observándose un incremento de la población bacteriana de 3.76 veces después de la preparación; Grupo "A", 54,437 y 481 ufc/ml, presentando una eficacia de 97%; Grupo "B", 31,620 y 1,023 ufc/ml, con una eficacia de 95% y Grupo "C" con 483,120 y 582,741 ufc/ml, observándose un incremento de la población bacteriana de 0.06 veces después de la preparación, respectivamente (Cuadro 1) (Figura 1).

Con respecto a los microorganismos CT, para el Grupo "T" 23,790 y 30,134 ufc/ml, observándose un incremento de la población bacteriana de 10.47 veces después de la preparación; Grupo "A", 9,909 y ausencia de crecimiento de ufc/ml, logrando una eficacia del 100%; Grupo "B", 11,700 y 4 ufc/ml, con una eficacia de 97% y Grupo "C", 13,909 y 689 ufc/ml, presentando una eficacia de 61% (Cuadro 2) (Figura 2).

Los grupos "A, B y C" fueron significativamente diferentes con respecto al grupo testigo en cuanto a microorganismos MA ($P < 0.01$). En cuanto a CT, los grupos "A y B" tuvieron una diferencia significativa en comparación al grupo testigo ($P < 0.01$), sin embargo, para el grupo "C" no mostró una diferencia significativa ($P > 0.05$) (Cuadro 3) (ver anexo I).

5.0 Discusión.

En este trabajo se encontró que en el grupo testigo (ordeñador aplica el procedimiento de rutina para preparar a los pezones), el número de UFC para MA y CT, incrementó significativamente en comparación a las cantidades cuantificadas antes de iniciar esta tarea sobre la piel del cuerpo y ápice de los pezones, ya que para el caso de CT el incremento de ufc/ml fue de 10.4 veces y para MA de 3.7 veces mayor comparativamente a lo registrado antes de que el trabajador interviniera sobre los pezones. Esto se puede atribuir a que las manos estuvieran sucias, a una contaminación del agua utilizada; a un mal procedimiento aplicado en la preparación de los pezones o en ciertos casos a inadecuada preparación del antiséptico.

En estos casos esta población microbiana presente en la superficie de los pezones, representa un factor de riesgo en la contaminación de la leche obtenida por ordeño y puedan los microorganismos ser diseminados entre vacas durante el desarrollo de esta práctica de manejo, poniendo en riesgo la salud de las ubres de los otros animales ordeñados.¹⁸

Cuando los pezones se prepararon usando un antiséptico, en general la reducción en el número de unidades formadoras de colonias tanto para MA como CT, variaron entre 61 y 100%, la excepción fue en el grupo C donde para MA se dió un incremento en comparación a la cantidad identificada en el muestreo inicial.

Bedard y cols (2001), realizaron un estudio cuyo objetivo fue comparar la eficacia de 4 métodos de preparación pre-operatorios en bovinos utilizando una solución de gluconato de clorhexidina y una solución de iodo-povidona, resultando en ambos grupos una eficacia en la reducción de la población bacteriana satisfactoria.¹⁹

No obstante cuando se realizó la preparación simplemente con agua, se observó un incremento importante con relación a la cantidad inicial de unidades formadoras de colonias tanto de MA como de CT (3.76 y 10.47 veces, respectivamente) (Cuadro 3) (Figura 3).

A partir del análisis de la eficacia de los antisépticos utilizados en los cuatro grupos experimentales (Incluyendo al grupo testigo) de esta investigación; sobresalen los resultados obtenidos del antiséptico del grupo A, donde se observó una reducción satisfactoria (100 y 97%) de la población bacteriana tanto de CT como de MA. El antiséptico del grupo "A" mostró una diferencia en comparación al antiséptico del grupo "B" de 3 y 2 unidades porcentuales para CT y MA, respectivamente, no resultando significativas ($P > 0.05$). Cuando se compararon los resultados obtenidos del antiséptico del grupo "A" contra el antiséptico utilizado en el grupo "C", estas diferencias fueron para CT de 39 unidades porcentuales menos contra el grupo A y de 36 contra el grupo B (Figura 3).

Cabe señalar que la diferencia que obtuvo de ventaja el grupo A con respecto al grupo B, dado que en ambos grupos el principio activo base fue digluconato de clorhexidina al 0.05%, cuyo mecanismo de acción es romper la membrana celular de las bacterias, puede estar dado por la acción bactericida complementaria del etanol quien actúa desnaturalizando las proteínas de las bacterias, y además se conoce que la concentración al 70% es la más eficaz para la destrucción de los microorganismos. Por lo anterior, el digluconato de clorhexidina combinado con etanol al 70%, es una mezcla con un efecto bactericida potencializado e incluso se menciona que actúa sobre formas vegetativas.

En un estudio realizado con 403 pacientes a quienes se les practicó una flebotomía para un hemocultivo, se observó que cuando se utilizó una solución alcohólica de clorhexidina al 0.5% en la preparación del área para la toma de la muestra, la presencia de agentes contaminantes en el cultivo, tuvo una reducción significativa en comparación cuando se utilizó una solución acuosa de iodo-povidona.²⁰

También, es necesario mencionar que el digluconato de clorhexidina tiene una afinidad muy fuerte con los carbonatos, por lo que al utilizar agua cuya dureza sea alta, se puede provocar el secuestro del principio activo y de esta manera verse afectada la actividad bactericida de la solución.²¹

Por lo anterior y considerando la importancia que tiene la correcta preparación de los pezones de las vacas para el ordeño, sobresale el hecho de comprobar la eficacia a nivel de campo de los productos comerciales existentes en el mercado indicados para la desinfección de pezones de vacas para el ordeño, en donde el digluconato de clorhexidina en general presentó una eficacia muy aceptable en la reducción del número de unidades formadoras de colonias presentes en la superficie del cuerpo y ápice de los pezones.¹⁰

En conclusión, el antiséptico que mostró una mayor eficacia para la reducción de la población bacteriana tanto de microorganismos MA como de CT fue el perteneciente al grupo "A" (digluconato de clorhexidina al 0.05% + etanol al 70%) con un 97 y 100%, respectivamente. El segundo lugar en cuanto a eficacia fue para el grupo "B" (digluconato de clorhexidina al 0.05%) con un 95 y 97%, respectivamente. En tercer lugar y con unos resultados muy variables fue para el grupo "C" (Alfa-alkil 1.72%+ Iodo disponible 2 g) con incluso un incremento promedio de 0.06 veces la cantidad inicial de ufc/ml de MA y un 61% de eficacia para CT, misma que se considera baja; esto se puede deber a que se recomienda que el Iodo tenga por lo menos 120 segundos de contacto con la superficie a desinfectar, situación que en la práctica de ordeño es inapropiada de llevar a cabo. Es necesario resaltar que en los muestreos de este grupo, en 4 de las 20 observaciones se registró un aumento en la cantidad de ufc/ml con respecto al muestreo inicial (ver cuadro 1), esto puede ser atribuido a que al momento del muestreo haya sufrido una contaminación ambiental. Finalmente en el grupo "T", se encontraron las cantidades más elevadas de unidades formadoras de colonias (MA= incrementó 3.76 veces y CT= incrementó 10.47 veces) debido a que además de utilizarse material y equipo inadecuado para la preparación de los pezones al ordeño tales como el tipo de contenedor y/o aplicador del antiséptico ya sea por aspersión o inmersión, los diferentes materiales de toallas colectivas para limpiar y posteriormente secar los pezones, así como la mala calidad del agua (dureza) utilizada para dicho fin, misma que generalmente no contenía antiséptico alguno. Por lo anterior, si la selección del antiséptico a utilizar en

la preparación de pezones al ordeño se realiza con base en la reducción de la población bacteriana presente sobre los pezones, y se aplica un adecuado procedimiento de preparación de los pezones, se logrará cumplir el objetivo, el cual es que los pezones al momento del ordeño estén limpios, secos y desinfectados.

6.0 Literatura citada

1. Vasavada PC and White CH. Symposium: Developing Methodology for microbial evaluation of milk and dairy products. *J Dairy Sci.* 1993;76:3099-3100.
2. Robinson RK. Microbiología lactológica. Zaragoza, España, Acribia, 1987.
3. Adams MR y Moos OM. Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España, Acribia, 1997.
4. Galton DM, Adkinson RW, Thomas CV and Smith TW. Effects of premilking udder preparation on environmental bacterial contamination of milk. *J Dairy Sci.* 1982;65:1540-1543.
5. Philpot WN. Calidad de la leche y control de mastitis. Memorias del Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche, 1997 mayo 30-31; León (Gto.) México, México (D.F.). Asociación Iberoamericana de Médicos Veterinarios Especialistas en Producción Animal, AC. 1997.
6. Galton DM, Petersson LG, Merrill WG, Bandler DK and Shuster DE. Effect of premilking udder preparation on bacterial population, sediment, and iodine residue in milk. *J Dairy Sci.* 1984;67:2580-2589.
7. Mckinnon CH, Fulford RJ and Cousins CM. Effect of teat washing on the bacteriological contamination of milk from cows kept under various housing conditions. *J Dairy Res.* 1983;50:153-162.
8. Ingawa KH, Adkinson RW and Gough RH. Evaluation of a gel teat cleaning and sanitizing compound for premilking hygiene. *J Dairy Sci.* 1992;75:1224-1232.
9. Blowey RW and Collis K. Effect of premilking teat disinfection on mastitis incidence, total bacterial count, cell count and milk yield in three dairy herds. *Vet Rec.* 1992;130:175-178.
10. Bushnell RB. The importance of hygienic procedures in controlling mastitis. *Vet Clin North Am Large Anim Pract.* 1984;6:361-370.
11. García E. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Koppen, 4ª Ed. Instituto de Geografía, UNAM. México, D.F. 1989.
12. Gutiérrez CAJ. Evaluación de la calidad fisicoquímica y bacteriológica de la leche producida en una región tropical con ganado bovino, considerando prácticas de ordeño y salud animal

- (tesis de maestría). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 2001
13. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Preparación y Dilución de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
 14. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias Mesofílicas en Placa.
 15. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Determinación de la Cuenta de Coliformes Totales en Placa.
 16. Daniel WW. Biostatística. Base para el análisis de las ciencias de la salud, 3ª ed. Limusa-Noriega Editores, México, D.F. 1993.
 17. Jerrold HZ. Biostatistical Analysis, 3ª ed. Upper Saddle river, New Jersey, USA: Prentice Hall 1996.
 18. Wilson DJ, Das HH, Gonzalez RN, Sears PM. Association between management practices, dairy herd characteristics, and somatic cell count of bulk tank milk. J Am Vet Med Assoc. 1997;210:1499-1502.
 19. Bedard S, Desrochers A, Fecteau G, Higgins R. Comparison of four protocols for preoperative preparation in cattle. Can Vet J. 2001;42:199-203.
 20. Mimoz O, Karim A, Mercat A, Cosseron M, Falissard B, Parker F, Richard C, Samii K, Nordmann P. Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture. A randomized, controlled trial. Ann Intern Med. 1999;131:834-837.
 21. Odore R, Colombatti VV, Re G. Efficacy of chlorhexidine against some strains of cultured and clinically isolated microorganisms. Vet Res. 2000;24:229-238.

CUADROS

Cuadro 1. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS MESOFÍLICOS AEROBIOS EN PLACA SOBRE LA SUPERFICIE DE PEZONES DE VACAS ANTES Y DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LOS PEZONES AL ORDEÑO.

No.	MESOFÍLICOS AEROBIOS											
	Grupo "A"			Grupo "B"			Grupo "C"			Grupo "T"		
Observación	ANTES	DESPUES	DIFER	ANTES	DESPUES	DIFER	ANTES	DESPUES	DIFER	ANTES	DESPUES	DIFER
1	11000	0	1	600	50	0.917	60000	240000	-3.00	300	5000	-15.667
2	8000	1000	0.88	5500	170	0.969	11000	35000	-2.182	15000	87000	-4.80
3	18000	680	0.96	36000	1000	0.972	5600000	5600000	0	2000	14000	-6.00
4	25000	500	0.98	33000	1000	0.970	20000	54000	-1.70	12000	3500	0.708
5	13000	100	0.99	150000	2000	0.987	5000	732	0.854	1000	5000	-4.00
6	54000	890	0.98	6000	200	0.967	624000	5600000	-7.974	25000	74000	-1.960
7	560000	0	1.00	6000	100	0.983	560000	301	0.999	34000	44000	-0.294
8	8000	0	1.00	66000	600	0.991	25000	642	0.974	43000	37000	0.140
9	39000	340	0.99	97000	470	0.995	88000	3530	0.960	8800	29000	-2.295
10	25000	60	1.00	6000	700	0.883	64000	1760	0.973	5000	106000	-20.200
11	19000	80	1.00	52000	8800	0.831	11000	5000	0.545	5000	9000	-0.800
12	120000	660	0.99	6000	400	0.933	12000	3400	0.717	12000	8000	0.333
13	10000	1500	0.85	9000	110	0.988	26000	1200	0.954	9000	39000	-3.333
14	34000	580	0.98	8000	650	0.919	1040000	4000	0.996	1020	1100	-0.078
15	17000	350	0.98	500	0	1.00	6400	700	0.891	14000	13000	0.071
16	12000	1800	0.85	6800	400	0.941	30000	850	0.972	23000	54000	-1.348
17	440	0	1.00	16000	2100	0.869	112000	210	0.998	33000	154000	-3.667
18	2300	10	1.00	25000	300	0.988	800000	70000	0.913	18000	153000	-7.50
19	9000	800	0.91	50000	600	0.988	540000	30000	0.944	9000	40000	-3.444
20	104000	266	1.00	53000	800	0.985	28000	3500	0.875	16000	34000	-1.125
Promedio	54437	480.8	0.97	31620	1022.5	0.95	483120	582741.3	-0.06	14306	45480	-3.76

Cuadro 2. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA SOBRE LA SUPERFICIE DE PEZONES DE VACAS ANTES Y DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LOS PEZONES AL ORDEÑO.

No.	COLIFORMES TOTALES											
	Grupo "A"			Grupo "B"			Grupo "C"			Grupo "T"		
Observación	ANTES	DESPUES	DIFER	ANTES	DESPUES	DIFER	ANTES	DESPUES	DIFER	ANTES	DESPUES	DIFER
1	3000	0	1	30000	0	1.00	30	6	0.793	110	0	1
2	110	0	1	20	0	1.00	4000	800	0.800	960	352	0.63
3	22	0	1	4.6	0	1.00	540	108	0.800	130	48	0.63
4	99	0	1	20	10	0.50	1	2	-1.300	10	10	0
5	19	0	1	4	0	1.00	1	1	0.000	300	60.2	0.80
6	6	0	1	900	9	0.99	80	1	0.988	500	270	0.46
7	20	0	1	4.2	0	1.00	50	1	0.980	800	10000	-11.5
8	14000	0	1	2800.2	0	1.00	9000	150	0.983	460	240	0.48
9	107	0	1	21.6	0	1.00	78000	360	0.995	15672	0	1
10	463	0	1	92.8	0	1.00	850	1	0.999	170	0	1
11	596	0	1	100	0	1.00	90000	5000	0.944	410	1000	-1.44
12	47	0	1	80	2	0.98	56000	2200	0.961	290	200	0.31
13	190	0	1	400	16	0.96	1900	1	0.999	40	4000	-99
14	200	0	1	6000	2	1.00	15000	1000	0.933	150	6100	-39.67
15	800	0	1	8000	0	1.00	2000	1	1.000	6000	384000	-63
16	18000	0	1	800	0	1.00	20000	4000	0.800	2800	10000	-2.57
17	48000	0	1	150000	12	1.00	100	23	0.774	90000	30000	0.67
18	72000	0	1	28000	20	0.999	20	8	0.590	200000	6400	0.97
19	500	0	1	5800	0	1	600	120	0.800	52000	85000	-0.63
20	40000	0	1	960	11	0.9885	1	3	-1.598	105000	65000	0.38
Promedio	9908.95	0	1	11700.37	4.1	0.97	13909	689.33	0.61	23790.13	30134.01	-10.47

Cuadro 3. EFICACIA PROMEDIO DE TRES ANTISÉPTICOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DE PEZONES DE VACAS PARA EL ORDEÑO, MEDIANTE LA REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS TANTO MESOFÍLICOS AEROBIOS COMO COLIFORMES TOTALES EN PLACA

Grupo	Mesofílicos Aerobios			Coliformes Totales		
	Antes	Después	Eficacia	Antes	Después	Eficacia
"A"	54,437	481	97% ^a	9,909	Sin/crec.	100% ^a
"B"	31,620	1,023	95% ^a	11,700	4	97% ^{a,b}
"C"	483,120	582,741	↑*0.06 ^b	13,909	689	61% ^b
"T"	14,306	45,480	↑*3.76 ^{a,b,c}	23,790	30,134	↑*10.47 ^c

Grupo "A": Digluconato de clorhexidina 0.05%+ Etanol 70%

Grupo "B": Digluconato de clorhexidina 0.05%

Grupo "C": Alfa-alkil 1.72%+ iodo disponible 2 g

Grupo "T": Control

(*) Número de veces de incremento de la cantidad inicial de ufc/ml.

^{a,b,c} Letras diferentes en la misma columna para las variables Eficacia de Mesofílicos aerobios y Coliformes totales, indican una diferencia estadística significativa P<0.05.

FIGURAS

Figura 1. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS PROMEDIO DE MICROORGANISMOS MESOFÍLICOS AEROBIOS PRESENTES EN LOS PEZONES ANTES Y DESPUÉS DE APLICAR EL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ACUERDO AL GRUPO CORRESPONDIENTE.

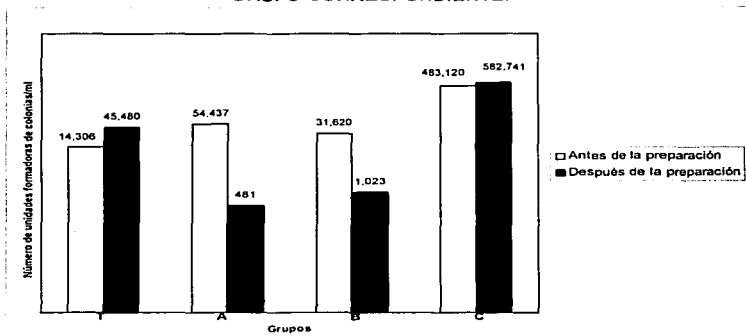
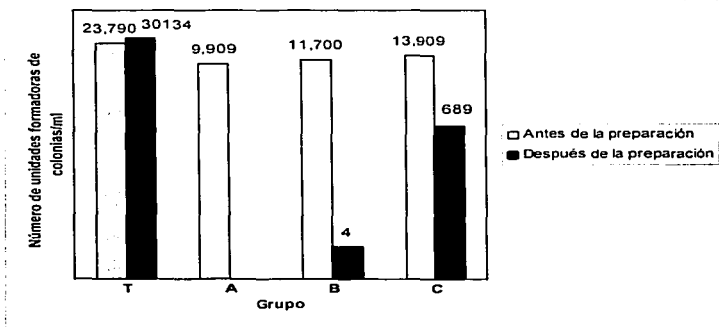
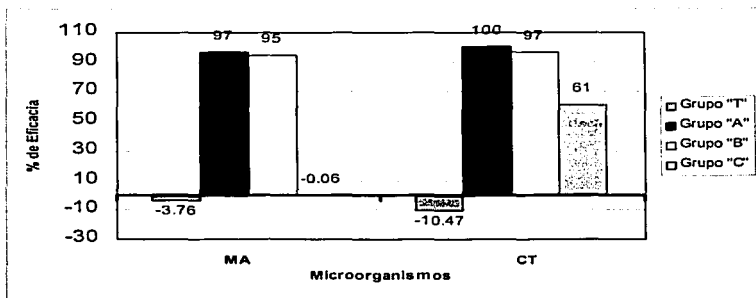


Figura 2. NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS PROMEDIO DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES PRESENTES EN LOS PEZONES ANTES Y DESPUÉS DE APLICAR EL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ACUERDO AL GRUPO CORRESPONDIENTE.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 3. PORCENTAJE DE EFICACIA DE TRES ANTISÉPTICOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DE PEZONES DE VACAS PARA EL ORDENO, MEDIANTE LA REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS TANTO MESOFÍLICOS AEROBIOS COMO COLIFORMES TOTALES EN PLACA.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

ANEXO I

Análisis estadístico

H_0 $\mu_B = \mu_A$
 H_a $\mu_B \neq \mu_A$

Microorganismos Mesófilicos Aerobios						
Comparación B vs A	Diferencia (R _B - R _A)	SE	q	q _{0.05, 4}	Resultado	
					H ₀	H _a
A vs T	1240-396.5	103.92	8.11	3.633		X
A vs C	1240-561.5	103.92	6.52	3.633		X
A vs B	1240-1042	103.92	1.90	3.633	X	
B vs T	1042-396.5	103.92	6.21	3.633		X
B vs C	1042-561.5	103.92	4.62	3.633		X
C vs T	561.5-396.5	103.92	1.58	3.633	X	
Microorganismos Coiliformes Totales						
Comparación B vs A	Diferencia (R _B - R _A)	SE	q	q _{0.05, 4}	Resultado	
					H ₀	H _a
A vs T	1207-263	103.92	9.08	3.633		X
A vs C	1207-749	103.92	4.40	3.633		X
A vs B	1207-1021	103.92	1.78	3.633	X	
B vs T	1021-263	103.92	7.29	3.633		X
B vs C	1021-749	103.92	2.81	3.633	X	
C vs T	749-263	103.92	4.62	3.633		X

H_0 =Hipótesis nula, H_a =Hipótesis alterna, SE=Error estándar, (B y A)=Grupo, (R_B y R_A)=Rangos por grupo
 q=valor calculado, q_{0.05, 4}=Valor de tabla

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

ANEXO II

A) PREPARACIÓN DE MATERIAL

Frascos de vidrio de boca ancha de 50 ml, tubos de ensaye c/tapón de baquelita, vaso de precipitado, matraz erlenmeyer, probeta graduada, pipetas serológicas de 1, 2, 10 ml, agua bidestilada, peptona en polvo, cloruro de sodio, detergente biodegradable, cepillo y escobetilla.

LAVADO DE MATERIAL

Todo el material de cristalería se debe de lavar con agua corriente y un detergente biodegradable (Dextran) y finalmente se enjuagan con agua bidestilada.

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Las soluciones que se utilizan para la dilución de muestras para cultivo bacteriológico son: a) Solución Amortiguadora de Fosfatos (SAF) y b) Solución Peptonada (SP).

LLENADO DE FRASCOS

En los frascos de vidrio de boca ancha se agregan 50 ml de SAF o SP y en los tubos de ensaye c/tapón de baquelita se agregan 9 ml de las mencionadas soluciones.

ESTERILIZACIÓN

Se cierran tanto los frascos como los tubos y se procede a su esterilización en una autoclave a 15 lb de presión, 121°C de temperatura durante 15 min de tiempo efectivo.

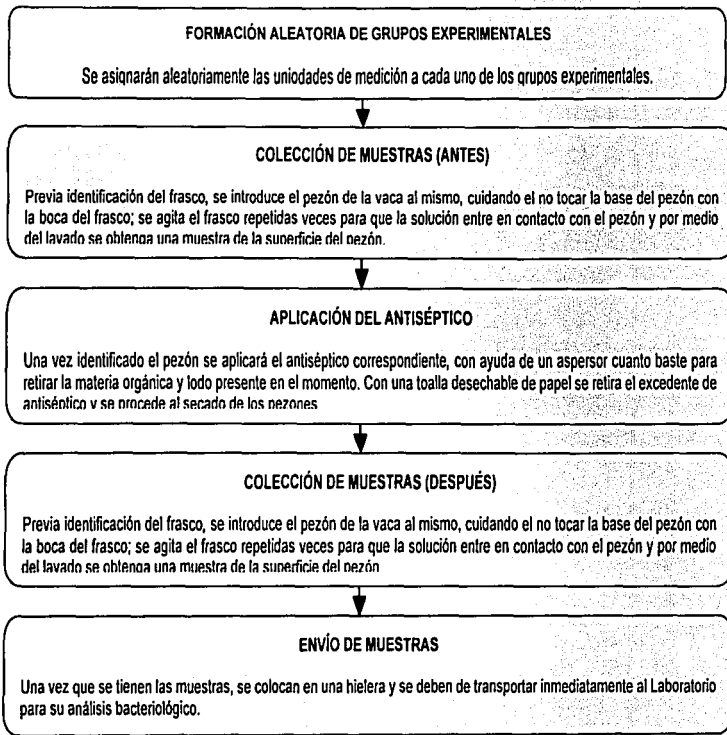
CONSERVACIÓN DE MATERIAL

Una vez que los frascos y tubos adquieren temperatura ambiente, se deben de mantener en refrigeración (4°C) por no mas de 30 días a partir de su elaboración.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B) TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS

Frascos de boca ancha con 50 ml de SAF o SP, atomizador con antiséptico, toallas desechables de papel, plumón indeleble, hielera transportadora



C) PROCEDIMIENTO DE CULTIVO

- Tubos de ensaye c/tapón de baquelita, vaso de precipitado, matraz erhlenmeyer, probeta graduada, pipetas serológicas de 1, 2 y 10 ml, agua bidestilada, peplona en polvo, fosfato monobásico de potasio, cloruro de sodio, detergente biodegradable, cepillo y escobetilla, cajas de petri, medios de cultivo (CT=Agar Rojo Violeta Bilis y MA=Agar para Cuenta Estándar).
- Baño maría, balanza analítica, mechero de Bunsen, autoclave, soporte universal, potenciómetro

PREPARACIÓN DEL MATERIAL

El laboratorio debe de estar limpio y desinfectado. Los vasos de precipitado, probetas, matraces, etc. deben de estar limpios y ser enjuagados con agua bidestilada inmediatamente antes de su uso.

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Fundir los medios de cultivo con un calentamiento rápido y homogéneo. Se introducen al autoclave para su esterilización (15 min a 121°C bajo 15 lb de presión). Sumergir los medios en un baño de agua a 45±1°C para mantenerlos fundidos. Los medios no deben conservarse por mas de tres horas en estas condiciones. Se distribuyen las cajas de petri sobre la mesa de trabajo previamente identificadas

PREPARACIÓN DE DILUCIONES

Se deben de agitar vigorosamente cada uno de los tubos que contienen 9 ml de SAF o SP estéril. Con una pipeta estéril se toma 1 ml de la muestra y se transfiere a uno de los tubos para dilución. Esto constituye una dilución 1:10. Las diluciones decimales restantes se efectúan en la misma forma, utilizando una pipeta para cada dilución. En cada transferencia, dejar que el líquido salga espontáneamente de la pipeta. Agitar los tubos vigorosamente de arriba abajo durante 7 seg en un arco de 30 cm, después de cada transferencia.

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA

Mesofílicos aerobios. Transferir 1 ml de cada una de las diluciones decimales con pipeta de 2 ml a cajas de petri. Sembrar diluciones en batería de tres, colocando la punta de la pipeta en el fondo de la caja de petri, mientras escurre el líquido. Agregar de 12 a 15 ml de agar para métodos estándar fundido y mantenido a una temperatura de 45±1°C. Mezclar con movimientos rotatorios, verticales y horizontales cuidando el no mojar la tapa de la caja. Incubar las cajas en posición invertida a 35°C durante 48 h.

Coliformes totales. Igual que los MA, pero una vez solidificado el agar con la muestra, se deben de agregar 5 ml de agar rojo violeta bilis fundido (doble capa). dejar solidificar e incubar a 35°C durante 18 a 24 h)

D) INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Cajas con cultivos, contador de placas, marcador indeleble, hojas de registro

MESOFÍLICOS AEROBIOS

Se deben seleccionar las cajas donde aparezcan entre 25 y 250 colonias para efectuar el recuento respectivo. Se multiplica por el inverso de la dilución para obtener el número de unidades formadoras de colonias por mililitro



COLIFORMES TOTALES

Contar como coliformes las colonias de color rojo púrpura que exhiban un halo de precipitación típico y generalmente de tamaño aproximado de 0.5 mm en placas con escaso desarrollo. Cuando las placas están muy llenas, las colonias se presentan en una forma un tanto atípicas, con menos de 0.5 mm de diámetro.