

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICA, SANITARIA E INOCUA, DE LA
LECHE DE TANQUE EN HATOS LECHEROS DEL ORIENTE Y NORTE DE
ANTIOQUIA**

TATIANA ALEJANDRA ORTIZ RAMIREZ

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRICOLAS, PECUARIA Y DEL MEDIO AMBIENTE
ZOOTECNIA
MEDELLIN, ANTIOQUIA
2014**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICA, SANITARIA E INOCUA, DE LA
LECHE DE TANQUE EN HATOS LECHEROS DEL ORIENTE Y NORTE
ANTIOQUEÑO**

TATIANA ALEJANDRA ORTIZ RAMIREZ

**Trabajo de grados para optar al título de
ZOOTECNISTA**

Asesora

Martha Olivera Angel

M.V., Dr. Sci. Agr.

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRICOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
MEDELLIN, ANTIOQUIA
2014**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Jurado

Jurado

Medellín

A mi princesa Isabella.

A mi esposo Juan con todo mi amor y corazón.

Y a mis padres que los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

Le doy gracias a Dios por todas las bendiciones que me ha dado, por darme sabiduría e inteligencia para ser una profesional y por estar a mi lado siempre.

A mis padres, por la educación que me han dado, por apoyarme en mis decisiones, por sus consejos y por el amor que me han brindado.

A mi esposo Juan por su apoyo, su amor, paciencia y estar a mi lado.

A la Dra. Martha Olivera porque ha sido un gran ejemplo a seguir, por apoyarme en mi carrera y ayudarme permanentemente.

Agradezco a todos mis compañeros por su ayuda y sus consejos para construir un buen trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
LISTADO DE TABLAS	4
LISTADO DE FIGURAS	5
LISTADO DE ANEXOS	6
LISTADO DE ABREVIATURAS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	12
1. MARCO TEÓRICO	14
1.1. INFORMACIÓN GENERAL	14
1.2. ¿QUÉ ES LA LECHE?	14
1.3. ¿QUÉ ES CALIDAD?	15
1.4. ¿QUÉ ES CALIDAD HIGIÉNICA?	15
1.4.1. ¿CÓMO SE MIDE LA CALIDAD HIGIÉNICA?	16
1.4.2. ¿CÓMO SE PAGA LA CALIDAD HIGIÉNICA EN COLOMBIA?	16
1.4.3. FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD HIGIÉNICA	18
1.5. ¿QUÉ SON CÉLULAS SOMÁTICAS?	18
1.5.1. IMPORTANCIA DE LAS CÉLULAS SOMÁTICAS	19
1.6. ¿QUÉ ES LA MASTITIS?	19
1.6.1. ¿QUÉ ES LA MASTITIS SUBCLÍNICA?	20
1.6.1.1. Streptococcus agalactiae	21
1.6.1.2. Staphylococcus aureus	21

1.6.1.3.	Enterococcus sp.	22
1.6.2.	FORMAS DE CONTAGIO DE MASTITIS Y PROBLEMAS DE UNA MALA CALIDAD	22
1.7.	¿QUÉ SIGNIFICA CALIDAD DE LA LECHE?	23
1.8.	¿QUÉ SON COLIFORMES TOTALES?	24
1.8.	BUENAS PRACTICAS DE ORDEÑO	24
1.10.	¿CÓMO MEJORAR UFC, RCS Y EVITAR LOS RESIDUOS DE ANTIBIOTICO EN LECHE?	26
1.11.	¿QUÉ ES CMT Y CÓMO SE MIDE?	28
1.12.	¿QUÉ ES INOCUIDAD EN LA LECHE?	29
2.	IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	31
3.	OBJETIVOS	33
3.1.	OBJETIVO GENERAL	33
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4.	METODOLOGÍA	35
4.1.	SELECCIÓN DE LA MUESTRA	35
4.2.	TOMA DE MUESTRA	35
4.3.	CAPACITACIÓN EN BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO	36
4.4.	MEDICIÓN DE CALIDAD SANITARIA	37
4.5.	MEDICIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICA	37
4.6.	CULTIVO MICROBIOLÓGICO	37
4.7.	MEDICIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS	38
4.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38

5.	RESULTADOS	41
6.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	53
7.	BIBLIOGRAFÍA	60
8.	ANEXOS	64

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Bonificación o penalización Pago por calidad para Antioquia	17
Tabla 2. Grado de CMT Rango de Células Somáticas Interpretación	28
Tabla 3. Variables	38
Tabla 4. Rangos de RCS, UFC, RCT y RCF de leche de tanque de refrigeración, en los hatos muestreados en la primera fase	42
Tabla 5. Frecuencia de aislamiento de microorganismos en leche de tanque de enfriamiento por hato	44
Tabla 6. Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas del Hato 9	47
Tabla 7. Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas del hato 11	48
Tabla 8. Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas del hato 12	49
Tabla 9. Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas dela hato 13	50

LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Promedio de recuento de células somáticas por hato	42
Figura 2. Promedio de UFC, RCT y RCF por hato	43
Figura 3. Seguimientos de recuento de células somáticas de los hatos Intervenidos	45
Figura 4. Seguimientos de recuento de Unidades Formadoras de Colonia de los hatos intervenidos	46
Figura 5. Seguimientos de recuento de Coliformes Totales de los hatos intervenidos	46
Figura 6. Seguimientos de recuento de Coliformes Fecales de los hatos intervenidos	47
Figura 7. Porcentaje de cuartos afectados hato 9	48
Figura 8. Porcentaje de cuartos afectados hato 11	49
Figura 9. Porcentaje de cuartos afectados hato 12	50
Figura 10. Porcentaje de cuartos afectados hato 13	51

LISTADO DE ANEXOS

	Pág.
8.1. Anexo 1: Protocolo para análisis de recuento de Células Somáticas.	63
8.2. Anexo 2: Protocolo para análisis de Unidades Formadoras de Colonia Coliformes Totales y Coliformes Fecales.	65
8.3. Anexo 3. Protocolo para análisis de residuos de antibióticos.	69
8.4. Anexo 4. Protocolo para la prueba Mastitis California Test (CMT).	71
8.5. Anexo 5. Protocolo para cultivo bacteriológico de leches	74

LISTADO DE ABREVIATURAS

RCS	Recuento de Células Somáticas
UFC	Unidades Formadoras de Colonia
RCT	Recuento de Coliformes Totales
RCF	Recuento de Coliformes Fecales
CEL	Células Somáticas
ML	Mililitros

RESUMEN

La producción de leche de calidad beneficia al consumidor con productos finales de mejor calidad y al ganadero una mayor producción al tener su hato sano y por lo tanto, mayores ingresos por venta de la leche. El análisis de leche de tanque es un instrumento útil para evaluar la calidad de la leche y supervisar el estado de salud de ubre en un hato (Jayarao & Wolfgang, 2003, p.90). El presente estudio tiene por objetivo analizar en leche de tanque, con muestras tomadas semanalmente por cuatro semanas, la calidad sanitaria, higiénica, e inocuidad de la leche, en hatos de lechería especializada, así como realizar intervenciones de buenas prácticas de rutina en ordeño. Se determinó la calidad higiénica y sanitaria a través del cálculo de: Recuento de células somáticas (RCS), Unidades formadoras de colonia (UFC), Recuento de Coliformes totales (RCT), Recuento de Coliformes Fecales (RCF) así como los residuos de antibióticos. Se determinaron los microorganismos presentes en la leche del tanque y se evaluó la asociación con el recuento de células somáticas. Se estableció si existe asociación entre: el tipo de ordeño y las variables dependientes (RCS, UFC, RCT, RCF) y microorganismos aislados al menos tres veces consecutivas los 13 hatos. Se evaluó el efecto de la intervención en buenas prácticas de ordeño, en los hatos que permitieron ser capacitados y muestreados sus tanques de refrigeración, durante seis meses. Y se asoció de manera descriptiva el procedimiento en la rutina de ordeño, con respecto a la presentación de mastitis subclínica en cada vaca, a través de la prueba Californian Mastitis Test (C.M.T.), en los hatos que permitieron ser intervenidos, durante seis meses. En la primera fase se observó mayor RCS en los hatos (6, 7, 10, 12 y 13) con una diferencia significativa ($p < 0,05$), con respecto a los otros hatos. En cuanto a UFC, RCT y RCF no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ninguno de los hatos. Nueve hatos

presentaron frecuencias mayores a tres en el aislamiento de microorganismos específicos entre los cuales están *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus epidermidis*. Además existe asociación entre la presencia de *Streptococcus agalactiae* y el aumento de RCS ($p=0,038$; OR=5,250; IC 95% [0,998-27,609]), pero la presencia de esta bacteria no es un factor de riesgo. Se encontró que el ordeño manual es un factor de riesgo ($p=0,034$; OR=4,200; IC 95% [1,096-16,096]), para el incremento en el RCS. Ni el ordeño manual, ni el mecánico, fueron asociados con UFC, RCT Y RCF. Existe asociación entre la presencia de *Enterococcus spp.* con el ordeño mecánico ($p=0,005$; OR=0,750; IC 95% [0,595-0,945]). Cuatro hatos (9, 11, 12 y 13) aceptaron asistir a las capacitaciones y fueron muestreados nuevamente, en una segunda fase del proyecto. Se encontró una disminución significativa ($p<0.015$) del RCS en estos hatos, en los muestreos posteriores a la capacitación. En los hatos 9 y 11 no se logró disminuir el porcentaje de cuartos y vacas positivas, por lo contrario en los hatos 12 y 13 se logró una disminución de los cuartos y vacas positivas.

ABSTRACT

The production of quality milk benefits the consumer with good quality final products, and also the farmer because higher production comes from a healthy herd, therefore higher revenues from selling milk. The bulk tank analysis is a useful tool for assessing the quality of milk and monitor the health status of a herd udder (Jayarao & Wolfgang, 2003, p.90).

The present study aims to analyze in bulk tank milk samples taken weekly for four weeks, the health, sanitary, and harmless quality of milk in dairy specialized herds, and best practice interventions in milking routine. The hygienic and sanitary quality was determined by: The Somatic cell count (SCC), colony -forming units (CFU), total coliform count (RCT), fecal coliform counts (RCF) and residues of antibiotic.

Microorganisms were determined in milk tank and these were related to the somatic cell count. Partnership was established if: milking type and dependent variables (RCS, UFC, RCT, RCF) and at least three consecutive isolated microorganism exists. The effect of the intervention on good milking practices in herds that allow them to be trained and cooling tanks sampled was evaluated for 6 months. And descriptively associated procedure in the milking routine, with respect to the presentation of subclinical mastitis in individual cows through the test by Californian mastitis (CMT), in herds that allowed to be operated for six months. In the first phase higher counts of RCS was observed in herds (6, 7, 10, 12 and 13) with a significant difference $p < 0.05$, with respects to other herds.

As for UFC, RCT and RCF no significant differences between any of the herds were found. Nine herds had higher frequencies to three in the isolation of specific microorganisms among which are *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus epidermidis*. In addition there is an association

between the presences of *Streptococcus agalactiae* and an increased RCS ($p=0,038$; OR=5,250; IC 95% [0,998-27,609]), but the presence of this bacterium is not a risk factor for increasing RCS. Manual milking is a risk factor for an increased fo RCS ($p=0,034$; OR=4,200; IC 95% [1,096-16,096]). Neither hand milking nor mechanical, were associated with UFC, RCT Y RCF. There is an association between the presence of *Enterococcus spp.* with automatic milking ($p=0,005$; OR=0,750; IC 95% [0,595-0,945]). Four herds (9, 11, 12 y 13) agreed to attend training and were sampled again in a second phase of the project. A significant decrease was found ($p<0.015$) of RCS in these herds, in subsequent samplings training. In herds 9 and 11 achievement not decrease the percentage of positive quarters and cows, so contrary to the herds 12 and 13 a decrease in the quarter and positive cows was achieved.

Introducción

La leche es un producto rico en nutrientes, siendo un alimento indispensable en la dieta de los seres humanos, especialmente en los niños. Pero es un producto altamente vulnerable frente a la contaminación de microorganismos, los que pueden ser de origen mamario o del medio ambiente, provocando enfermedades en los consumidores o causando alteraciones en el producto y sus derivados, haciéndolos inadecuados para el consumo humano (actualidad Ganadera, 2013, p.1).

Las buenas prácticas de ordeño involucran una buena planificación y realización de actividades de manejo antes, durante y después del ordeño, y todos los productores deben hacerlo rutinariamente, con el fin de producir una leche apta para el consumo humano y su adecuado procesamiento en la elaboración de productos lácteos. Esto con el fin de generar un producto de mejor calidad al productor y poder competir en mercados externos altamente exigentes (Calderón, Jiménez, & García, 2008, p.145).

Las diferentes compañías recolectoras de leche, han implementado castigos económicos para aquellos hatos que no alcancen los niveles promedio requeridos de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en la leche, motivando al dueño para que logre producir una leche de calidad, a través de la aplicación de programas de buenas prácticas de manejo en el hato. La calidad higiénica se determina en el laboratorio como la cantidad de microorganismos presentes en ella, y se evalúa por el recuento de bacterias mesófilas que se encuentren en la leche (Olivera, 2007, p.115). Internacionalmente se acepta que debe ser inferior a 100,000 UFC/ml, en Colombia los

recuentos bonificables para este recuento están por debajo de 200,000 UFC/ml (Ministerio de Agricultura & Desarrollo Rural, 2012, p.18).

La importancia del conteo de Células Somáticas (RCS), radica en que podemos conocer si la leche que se obtiene proviene de una glándula mamaria sana o por el contrario, con procesos inflamatorios (mastitis clínica y subclínica) y si los procesos mecánicos de extracción están correctamente realizados (Hernández & Bedolla, 2008, p. 2). Cuando se tiene un conteo bajo de células somáticas (<200,000), algunas acopiadoras bonifican económicamente al productor, motivándolo a producir una leche de mejor calidad, aunque esta bonificación no es obligatoria.

El análisis en tanque es muy útil para evaluar y supervisar el estado de la salud de las ubres en el hato, y ayuda a tomar decisiones cuando se analizan RCS, UFC, Coliformes Totales y Fecales (RCT y RCF), residuos de antibióticos y cultivo microbiológico repetitivamente por periodo de tiempo, la información proporciona datos con los que se puede evaluar la calidad higiénica y sanitaria de la leche (Jayarao et al. 2003, p.80). Con esto se pueden identificar algunos problemas y después hacer el análisis vaca por vaca.

1. Marco teórico

1.1. Información general

Según (Fedegan, 2012a, p.6), Colombia es el productor número 21 de leche a nivel mundial y el 4to en América Latina. El consumo de leche se ha incrementado en Colombia levemente, en el año 2004 consumían 134.9 Lt/hab y hasta el 2013 era 141 Lt/hab. En el 2012 la producción de leche cruda fue de 6518 millones de litros.

En Antioquia el total de leche producida en el año 2012 fue de 2183 millones y el autoconsumo fue de 210 mil litros (DANE, 2013, p.1).

1.2. ¿Qué es la leche?

Según (Alais, 1985) la leche es un alimento natural rico en nutrientes, contiene proteína de alta calidad, grasas, vitaminas esenciales y minerales. Sin embargo, todas estas características también hacen a la leche un medio excelente para el crecimiento bacteriano y la transmisión de enfermedades. Este líquido secretado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, tras el nacimiento de la cría, es una emulsión de materia grasa, en forma globular, que muestra analogías con el plasma sanguíneo. Es asimismo una suspensión de materias proteicas en un suero constituido por una solución neutra que contiene principalmente, lactosa y sales minerales (p.4).

Hay por lo tanto en la leche cuatro tipos de componentes importantes:

- Los lípidos, componentes esenciales de las grasas ordinarias (triglicéridos).
- Las proteínas (caseínas, albuminas y globulinas).
- Los glúcidos, esencialmente la lactosa.
- Las sales.

Y en pequeñas cantidades tiene lecitinas, vitaminas, enzimas, nucleótidos, gases disueltos, entre otros. La leche está compuesta por un 88% de agua, 61% energía, 3.4% de grasa, 3,2% de proteína 4.7% lactosa y 0.72% de minerales (Alais, 1985, p.5).

1.3. ¿Qué es calidad?

Se entiende por leche de calidad a la que proviene del ordeño de vacas sanas bien alimentadas, libre de olores, sedimentos, sustancias extrañas y con características como: cantidad y calidad apropiada de componentes sólidos (grasa, proteína, lactosa y minerales); con un mínimo de carga microbiana; libre de bacterias causantes de enfermedad (brucelosis, tuberculosis, patógenos de mastitis y toxinas); libre de residuos químicos e inhibidores y con un mínimo de células somáticas (Ministerio de Agricultura & Desarrollo Rural, 2012, p.4).

1.4. ¿Qué es calidad higiénica?

La calidad higiénica se refiere al contenido de bacterias y organismos patógenos en la leche y a la presencia de residuos de medicamentos, que pueden afectar la salud humana y el proceso de producción de algunos derivados lácteos (Fedegan, 2012b, p.115).

1.4.1. ¿Cómo se mide la calidad higiénica?

Esta se mide en Unidades Formadores de Colonia (UFC), que hace referencia al recuento de bacterias mesófilas aerobias; valores menores a 200.000 UFC/ml, el productor es bonificado según lo establecido para Antioquia y recuentos superiores a este, los productores son castigados (Ministerio de Agricultura, 2012, p.18), esta resolución es la que reglamenta el pago de la leche cruda al productor primario sobre la base de parámetros de calidad composicional e higiénica. (Tabla 1).

Este análisis es un indicador de la higiene antes de que obtenga el producto y el alto número de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) nos indica unas inadecuadas prácticas de higiene durante el ordeño.

1.4.2. ¿Cómo se paga la calidad higiénica en Colombia?

El pago de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) en Colombia se hace de la siguiente forma:

Recuentos de 0 a 175,000 UFC/ml, es una leche de muy buena calidad y es bonificado, recuentos de 175,001 a 200,000 UFC/ml, no recibe bonificación pero tampoco lo castigan, la franja neutral y recuentos superiores de 200,001 UFC/ml son castigados (Ministerio de Agricultura, 2012, p.18).

Tabla 1.

Bonificación o penalización para pago por calidad para Antioquia (Región 1 - Calidad Higiénica)

Rango (UFC/ml)	Escala de pago -recuento total de bacterias (\$/Litro)	Escala de pago – frio (\$/Litro)
0 - 25,000	74	15
25,001 - 50,000	63	15
50,001 - 100,000	50	15
100,001 - 150,000	38	10
150,001 - 175,000	24	10
175,001 - 200,000	0	0
200,001 - 300,000	-13	0
300,001 - 400,000	-24	0
400,001 - 500,000	-38	0
500,001 - 600,000	-50	0
600,001 o mas	-63	0

1.4.3. Factores que afectan la calidad higiénica

Hay varios factores que pueden afectar la calidad higiénica en la leche, como son: una ubre con mastitis, contaminantes ambientales, contaminación por recipientes, tiempo, temperatura de almacenamiento y transporte (Gaviria, 2007, p.115).

Con las buenas prácticas de higiene aplicadas a las instalaciones, al manejo de las vacas en las fases de ordeño, conservación de la leche, limpieza y desinfección, reducirán significativamente el riesgo de contaminación de la leche cruda por material extraño, microorganismos o sustancias químicas, con ello se protege de contaminaciones a los consumidores o procesadores, y además se crea una cultura de higiene en los productores para ofrecer un producto de calidad (Garzón & Nieto, 2011, p.26).

La buena calidad higiénica de la leche depende de las buenas prácticas de ordeño (FEDEGAN, 2012b, p.120).

1.5. ¿Qué son las Células Somáticas?

Las Células Somáticas son células blancas propias del organismo que le sirven como defensa a la glándula mamaria de la vaca contra organismos patógenos, estas células son epiteliales y leucocitos, los cuales actúan como respuesta defensiva contra una lesión inflamatoria general de tipo infeccioso en la glándula y es indicador de la mastitis, además se encuentran compuestas en su mayor proporción por leucocitos (Macrófagos, linfocitos y

neutrófilo) con un 98% de células somáticas y el 2% son células epiteliales (células de descamación) (Jaramillo, 2000, p.39).

1.5.1. Importancia de las células somáticas

La importancia del conteo de células somáticas en la leche es que se puede conocer si la leche que obtenemos de la glándula mamaria es de buena calidad, así mismo, conocer el estado de salud de la misma al obtener un número elevado de células somáticas. Cuando hay estímulos o enfermedades de la glándula mamaria aumenta en contenido de células somáticas, con lo cual el número de células inmunes aumenta considerablemente. El conteo de células somáticas (CCS) es el número de células por mililitro de leche, es por consiguiente un indicador útil para la concentración de leucocitos en leche (Hernández et al, 2008, p.2).

Cuando se tienen conteos de células somáticas menor a 200.000 células/ml nos indica que el 80% de los animales no está infectado y es un hato muy bueno, conteos entre 200.000 y 400.000 células/ml, nos indica la presencia de mastitis subclínica, estos hatos poseen buenas prácticas de manejo pero no hacen énfasis en el control de mastitis, conteos mayores de 400.000 células/ml nos indica que hay más del 10% de pérdidas por mastitis subclínica y que no hacen unas buenas prácticas de manejo (Hernández et al, 2008, p.15).

1.6. ¿Qué es la mastitis?

La mastitis es una enfermedad causada por microorganismos que invaden la ubre, cuando se opera mal la máquina de ordeño, o se realiza mal la rutina de ordeño manual, se produce un proceso inflamatorio leve o severo. La inflamación de la ubre se caracteriza por cambios en el tejido glandular y la leche. Cuando estos cambios son detectables mediante inspección y/o palpación, hablamos de mastitis clínica. Si no hay cambios detectables clínicamente, se recurre a métodos indirectos de campo o de laboratorio; y si éstos son positivos, hablamos de mastitis subclínica (Andresen, 2001, p.1).

1.6.1. ¿Qué es la mastitis subclínica?

La mastitis subclínica es una inflamación de la ubre sin síntomas externos reconocibles. El contenido de células somáticas está elevado en dos de tres muestreos (con un intervalo de una semana) y se observa la presencia de patógenos de mastitis, la composición química de la leche está alterada. La mastitis clínica se observa con síntomas claros de una inflamación de la ubre, hay temperatura elevada, con dolores e inflamación. La leche está muy alterada macroscópicamente y con frecuencia los animales presentan fiebre (Wolter, Kloppert, & Zschoeck, 2000, p.20).

La mastitis es la enfermedad más común del ganado de leche y la más importante bajo un punto de vista económico. Según la epidemiología de los patógenos que la inducen, mastitis se puede clasificar en dos tipos: mastitis contagiosa y mastitis ambiental. Las bacterias responsables de la mastitis contagiosa incluyen estreptococos (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*), estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus*), estafilococos

coagulasa negativos (*Staphylococcus epidermidis*) y *Corynebacterium bovis*. La mastitis contagiosa se transmite de vaca a vaca durante el proceso de ordeño, siendo el reservorio del patógeno los cuarterones infectados. Por el contrario, el reservorio de los patógenos responsables de la mastitis ambiental es el entorno de la vaca lechera. Los patógenos responsables de este tipo de mastitis son bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Serratia sp.* y *Proteus sp.*), estreptococos (*Streptococcus uberis* y *Str. dysgalactiae*) y enterococos ambientales (*Enterococcus faecalis*). (García, Martínez, & Rodríguez, 2008, p.55).

1.6.1.1. *Streptococcus agalactiae*

El *Streptococcus agalactiae* es una bacteria parásita de la ubre; es decir, que depende de la ubre para sobrevivir. Fuera de ella, en el medio ambiente, no puede mantenerse por mucho tiempo. Otra característica del *Streptococcus agalactiae* es que vive en los conductos galactóforos, lo que permite que sea alcanzado por los antibióticos en los tratamientos intramamarios. No es un invasor del parénquima mamario como el *Staphylococcus aureus*. Estas características, asociadas al hecho de que es muy sensible a la penicilina, permite que sea posible eliminarlo de las ubres de las vacas mediante estrategias simples de control (Andresen, 2001, p.59).

1.6.1.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es a nivel mundial el agente patógeno contagioso más importante asociado con la glándula mamaria, que causa la mastitis. La bacteria penetra por el canal lácteo al tejido glandular muy profundamente y frecuentemente se encapsula para formar nódulos en la ubre los cuales se pueden palpar. El *S. aureus* es una bacteria que difícilmente o en muy pocas ocasiones se puede eliminar mediante una terapia medicamentosa (Wolter et al., 2000, p.12).

1.6.1.3. *Enterococcus*

Los *Enterococcus* causan en los bovinos mastitis en uno o dos animales. Su hábitat natural es el tracto gastrointestinal de los mamíferos. De ahí pueden ser evacuados a los corrales y cuando hay un animal con inmunodepresión, podrán colonizar la ubre. El curso de la mastitis es muy similar al de *S. uberis*, se debe enfatizar que los *Enterococcus* son muy resistentes a antibióticos (Wolter et al., 2000, p.30).

1.6.2. Formas de contagio de mastitis y problemas que causa una mala calidad higiénica y sanitaria.

El contagio se efectúa principalmente del ordeño, de un cuarto a otro, de una vaca a otra y son transmitidos principalmente de las siguientes formas:

Mediante la mano del ordeñador, a través de aerosoles de la leche, mediante las toallas para secar la ubre, mediante el equipo de ordeño (Wolter et al., 2000, p.27).

Cuando se produce una leche bajo malas condiciones higiénicas y sin enfriamiento, la contaminación microbiana causa generalmente la formación de ácido láctico, lo que conduce a una rápida acidificación de la leche (Wolter et al., 2000, p.9).

Si tenemos una mala calidad sanitaria en la leche se reduce la producción diaria, cambia la composición en (Cuajada del queso), el precio de la leche disminuye, y si no se le hace un buen manejo se puede convertir en una mastitis clínica la cual tiene mayores problemas como pérdida por baja producción del animal enfermo, pérdida de producción por la duración de la eliminación del medicamento, aumentan los costos por mano de obra, medicamentos y del Médico Veterinario (Wolter et al., 2000, p.5). También observamos la disminución en el rendimiento industrial que es particularmente drástica pudiendo alcanzar valores de hasta 4%. Esto significa una pérdida final de 400 Kg de queso por cada 100 000 Lts de leche procesada, si fuera considerado el rendimiento medio de un Kg de queso por cada 10 Lts de leche utilizado. Hay referencias que demuestran, el aumento del tiempo de coagulación para la fabricación de quesos, la pérdida de proteína del suero y la probabilidad de ocurrir un sabor rancio en el queso y en la mantequilla (Gaspar, Molina, & Coca, 2010, p.5).

1.7. ¿Qué significa calidad de la leche?

Hablar de calidad de la leche significa: para el consumidor, productos de buena calidad y de buena presentación; y para el ganadero, mayor producción al tener su hato sano y, por lo tanto, mayores ingresos por venta de la leche.

El análisis de leche de tanque es un instrumento útil para evaluar la calidad de la leche y supervisar el estado de salud de ubre en un hato (Jayarao et al, 2003, p.1).

Todas las personas tienen derecho a que los alimentos que consumen sean inocuos. Es decir que no contengan agentes físicos, químicos o biológicos en niveles mayores a los permitidos o de naturaleza tal, que pongan en peligro su salud. De esta manera, se concibe la inocuidad como un atributo fundamental de la calidad (Tafur Garzón, 2009, p.330).

1.8. ¿Qué son coliformes totales?

El recuento de coliformes totales tiene origen en la contaminación directa, o indirecta con materia fecal, deben ser menores de 100UFC/ml; los recuentos superiores a 700 UFC/ml, son indicadores de ordeños con pezones sucios y húmedos, es decir; malas prácticas de higiene durante el ordeño. Otros factores que inciden en los recuentos altos, están relacionados con el sistema de alojamiento de los animales, calidad del lavado y desinfección de los equipos, presencia de fango en corrales y camellones, y características microbiológicas del agua de lavado (Gaviria, 2007, p.117).

1.9. Buenas prácticas de ordeño

La rutina de ordeño, es parte del proceso de varias acciones que va desde la preparación de la vaca para el ordeño, hasta el resguardo sanitario de la glándula mamaria (ubre). Esta labor técnica es una de las etapas de mayor importancia dentro del gran complejo que es la producción

de leche. El efectuar la rutina de ordeño correctamente, está relacionado con la calidad higiénica, calidad composicional y cantidad de leche obtenida. La rutina de ordeño es la operación de mayor influencia y la más determinante en la obtención y preservación de leche en lo referente a calidad. Se inicia con el arreo de las vacas desde el potrero o patios de alimentación, con las siguientes recomendaciones:

- a) Arrear las vacas con calma, sin palos, sin perros, sin gritos y en lo posible a pie. Si se rodea a caballo, hacerlo al “tranco de las vacas y no al tranco del caballo”; es decir hacerlo con calma y al paso de la vacas.
- b) Hacer pasar a las vacas a sus puestos de ordeño con igual tranquilidad.
- c) Mojar los pezones y la base inferior de la ubre con un mínimo de agua, a objeto de hacer una limpieza superficial del barro o polvo acumulado. Se debe obviar este paso si los pezones se presentan en condiciones de limpieza adecuada.
- d) Lavarse las manos los ordeñadores y secárselas.
- e) Eliminar los 3 primeros chorros de leche de cada cuarto, empleando para ello el "recipiente de fondo oscuro". Esta operación se efectúa con el propósito de: Eliminar leche residual, detectar mastitis clínica (pus, grumos, sangre, cuartos afiebrados o duros), y estimulación para el máximo aprovechamiento del reflejo de bajada de leche.
- f) Proceder al secado de los pezones con toallas desechables en cada vaca. Es importantísimo ordeñar pezones limpios y secos, ya que si se ordeñan mojados se facilita el deslizamiento de las pezoneras y aumenta las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), presentes en la leche por efecto del agua contaminada que escurre y que absorben las pezoneras.
- g) Aplicar un presellado (yodado o clorado), y dejarlo actuar 30 segundos.

- h) Secar el presellado con toallas desechables en cada vaca.
- i) Colocar la unidad de ordeño (pezoneras) 30 a 60 segundos desde iniciada la preparación de la ubre a fin de aprovechar la acción hormonal (oxitocina), si es ordeño manual se procede a ordeñar.
- j) Puesta la unidad, debemos alinearla, impidiendo con ello pezones retorcidos, estrangulamiento de mangueras y deslizamiento o trepado de las pezoneras.
- k) Inmediatamente terminada el ordeño, retirar la unidad, cortando previamente el vacío.
- l) Aplicar el sellado con un producto yodado (Santana & Uribe, 2006, p.124).

1.10. ¿Cómo mejorar las U.F.C, R.C.S. y evitar los residuos de antibiótico en leche?

Mejorar el recuento de células somáticas a través de:

- Mantener el equipo de ordeño en buen estado de funcionamiento y con una adecuada manutención.
- Efectuar una rutina de ordeño adecuada.
- Realizar el sellado inmediatamente finalizado el ordeño de cada vaca.
- Tratar con antibiótico en presencia de mastitis clínica, previa prescripción del médico veterinario.
- Efectuar "Terapia de secado" a todas las vacas al término de su lactancia, con la excepción de aquellas que vayan a ser eliminadas, con la finalidad de tratar infecciones presentes y evitar nuevas infecciones.

- Pasar al final del ordeño las vacas con mastitis clínica y/o con alto recuento de células somáticas, evitando con ello la contaminación a través de las pezoneras.
- Eliminar vacas con "infecciones crónicas" y las que presenten altos recuentos de células somáticas de manera persistente.

Reducir las Unidades Formadoras de Colonia y Coliformes Totales y Fecales:

- Efectuar una correcta rutina de ordeño (higiene).
- Ofrecer a las vacas un ambiente limpio y seco.
- Lavar y desinfectar el equipo y utensilios que entran en contacto con la leche.
- Enfriar la leche lo antes posible después de obtenida.
- Lavar el equipo de ordeño y tanque con agua a temperatura adecuada.
- Emplear la cantidad de agua y detergente indicado por el proveedor.
- Cumplir el tiempo de acción de todos los pasos del lavado.
- Extremar el cuidado de las normas de higiene en todas las acciones del ordeño.

Normas básicas para evitar presencia de antibióticos en la leche:

- Señalar con una marca visible toda vaca en tratamiento con antibióticos. Registrar todo tratamiento efectuado.
- Registrar los tratamientos de secado "terapia de secado", para tener presente las fechas de resguardo de la lactancia de cada vaca.
- Respetar estrictamente el "período de resguardo" de los medicamentos (Santana & Uribe, 2006, p.124).

1.11. ¿Qué es C.M.T. y como se mide?

Mangandi (2008) nos dice que la prueba de California para mastitis es un método de diagnóstico que posee una sensibilidad del 97% y una especificidad del 93%. La prueba de CMT consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquilauril sulfonato de sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación de la gelatina, traduciéndose en nuestra lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación. Es decir, permite determinar la respuesta inflamatoria con base en la viscosidad del gel que se forma al mezclar el reactivo (púrpura de bromocresol) con la misma cantidad de leche en una paleta con cuatro pozos independientes permitiendo evaluar cada cuarto independientemente. (p.12)

El grado de CMT está directamente relacionado con el promedio del conteo de células somáticas. En la tabla 2 se muestra como están relacionados.

Una reacción de T (trazas) o más indica que hay mastitis subclínica en el cuarto (Mellenberger, 2004, p.3).

Tabla 2.

Grado de CMT Rango de Células Somáticas Interpretación.

Grado de C.M.T.	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

1.12. ¿Qué es inocuidad en la leche?

La inocuidad de la leche se genera en la producción primaria y comprende, entre otros aspectos, la salud de los animales, los tratamientos con medicamentos veterinarios, la alimentación, la higiene del ordeño, el almacenamiento y la conservación de la leche en la finca (Garzón et al, 2011, p.7).

La leche procedente de animales tratados con antibióticos y otros medicamentos veterinarios cuyos principios activos o metabolitos se eliminan por la leche, solo podrá darse para el consumo humano hasta tanto haya transcurrido el período de retiro especificado en el rótulo para el medicamento o insumo pecuario en Cuestión (Ministerio de la protección Social, 2006, p.8). Los residuos de los antibióticos en la leche, independientemente de acciones biológicas (alergias en consumidores, aparición de flora resistente), tienen repercusiones tecnológicas importantes en la elaboración de queso. Su acción tecnológica principal es la provocación de trastornos en la capacidad de acidificación de la leche. Los cultivos iniciadores, responsables primeramente de la acidificación de la leche y después de

los cambios bioquímicos que tienen lugar durante la maduración (transformación de la cuajada en queso), se ven inhibidos por los residuos de antibióticos, fallan, y el queso obtenido se altera, o al menos no presenta unas características organolépticas tan satisfactorias como las del queso en el que los cultivos iniciadores han actuado con normalidad (Tornadijo, Marra, Fontán, Prieto, & Carballo, 1998, p.80).

2. Identificación del problema

El análisis de la calidad higiénica, sanitaria e inocua de la leche es una herramienta diagnóstica que permite evaluar los procedimientos implementados en un hato lechero; así, la calidad sanitaria determina la presencia células somáticas lo cual indica el estado de la ubre de la vaca, es decir; ausencia o presencia de mastitis subclínica o clínica.

En la evaluación de la calidad higiénica de la leche se miden los siguientes parámetros: Unidades Formadoras de Colonias, Coliformes Totales y Fecales, lo cual indica el grado de la limpieza que se tiene en la rutina de ordeño, de ahí la importancia de realizar estas pruebas.

Por otro lado la calidad inocua analiza los residuos de sustancias nocivas para la salud humana, según la reglamentación 616 la leche debe estar libre de cualquier sustancia química entre estas los antibióticos, factor sumamente importante para su consumo.

Estos análisis son desconocidos o subvalorados por los productores lecheros, al no enviar a analizar su producción se arriesgan a sanciones y disminuciones en el precio de leche afectando su economía al incrementar los costos por tratamiento de mastitis y una baja tanto en la calidad y cantidad de la leche, además se pueden presentar riesgos para el consumidor.

Es necesario que los productores sean conscientes de la calidad de la leche que producen en sus hatos, realizando unas buenas rutinas y prácticas antes, durante y después del ordeño con la finalidad de producir una leche con óptimas condiciones: UFC < 200.000, Células Somáticas < 400.000, Coliformes Totales < 100.000 y ausencia de Coliformes Totales y antibióticos. Para esto, se hace indispensable realizar capacitaciones, seguimientos e intervenciones para poder hacer los correctivos necesarios y producir una leche inocua.

Es por esto que este es un escenario ideal para realizar estudios diagnósticos para saber a ciencia cierta cómo es la situación actual de ordeño en un hato y poder aplicar acciones preventivas, correctivas o de mejoras. Este trabajo se centró en caracterizar y analizar las prácticas de ordeño realizadas en diferentes hatos con el fin de determinar los riesgos y poder implementar programas de buenas prácticas de ordeño por medio de diversas intervenciones.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Analizar la calidad sanitaria, higiénica, e inocuidad de la leche de tanque, en hatos de lechería especializada en el Norte y Oriente de Antioquia; sometidos a una intervención de buenas prácticas de rutina en ordeño.

3.2. Objetivos específicos

Determinar los valores de Recuento de Células Somáticas (RCS), Unidades Formadoras de Colonia (UFC), Recuento de Coliformes Totales (RCT), Recuento de Coliformes Fecales (RCF) y detección de residuos antibióticos, en leches provenientes de tanques de refrigeración de 13 hatos del Norte y oriente de Antioquia.

Determinar los microorganismos presentes, por medio de cultivo microbiológico, en las muestras de leche provenientes de tanques de refrigeración de los 13 hatos del Norte y oriente de Antioquia.

Evaluar la asociación entre el tipo de patógeno aislado y el aumento en el Recuento de Células Somáticas en los 13 hatos del Norte y oriente de Antioquia.

Establecer si existe asociación entre tipo de ordeño y las variables dependientes RCS, UFC, RCT, RCF y microorganismos de los 13 hatos del Norte y oriente de Antioquia.

Evaluar el efecto de la intervención en buenas prácticas de ordeño, en los hatos que permitan ser capacitados y muestreados sus tanques de refrigeración, durante seis meses.

Asociar de manera descriptiva el procedimiento en la rutina de ordeño, con respecto a la presentación de mastitis subclínica en cada vaca, a través de la prueba Californian Mastitis Test (C.M.T.), en los hatos que permitan ser intervenidos, durante seis meses.

4. Metodología

4.1. Selección de la muestra:

La selección de la muestra se realizó a conveniencia, ya que este proyecto fue financiado en el marco de otro macroproyecto, y dependía entonces, de la partida presupuestal del mismo. Los hatos seleccionados fueron los que previamente estaban vinculados al macroproyecto titulado “Leche sin antimicrobianos residuales”, aprobado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2008 – 2011), al grupo de investigación Biogénesis, de la Universidad de Antioquia.

Los criterios de inclusión de los hatos fueron: pertenecer a la zona Norte y Oriente de Antioquia, tener tanque de enfriamiento de leche y, realizar ordeño manual o mecánico.

En total se seleccionaron 13 hatos de lechería especializada en: San Pedro de los Milagros (n = 10), Don Matías (n = 1) y Rionegro (n = 2).

4.2. Toma de muestras.

En una primera fase, se tomaron muestras de leche del tanque de enfriamiento, una vez a la semana, durante cuatro semanas, en cada uno de los hatos. La muestra se tomó directamente del tanque, el cual contenía el total de leche recolectada de un ordeño, a 4°C (una a dos horas de refrigeración). La leche fue homogenizada por agitación durante cinco

a diez minutos. Se recolectó una muestra con un cucharón de aluminio limpio, desinfectado con alcohol, la cual se envasó en un recipiente plástico estéril, con taparrosca, de aproximadamente 40 mL. Las muestras fueron identificadas con la fecha de muestreo, el nombre del hato, el municipio, la vereda, la hora de muestreo, el número de vacas en producción, el número de ordeños, el tipo de ordeño, los litros de leche totales en tanque y el responsable; se colocaron inmediatamente en una cava con gel refrigerante congelado ($4 - 6^{\circ}\text{C}$), y se llevaron al laboratorio. Las pruebas específicas se realizaron en un tiempo menor a 24 horas posrecolección, y las muestras siempre permanecieron a 4°C .

En la segunda fase de toma de muestras, posterior a la capacitación en buenas prácticas de ordeño, se seleccionaron hatos ($n = 4$) para ser intervenidos según los siguientes criterios de inclusión: que los productores estuviesen dispuestos a continuar con las mediciones, que tuvieran >200.000 RCS y >200.000 UFC. Se realizaron CMT individualmente a todas las vacas en ordeño de los hatos, una vez al mes, durante seis meses. El mismo día, terminado el ordeño, se tomaron muestras de la misma manera que en la primera fase.

4.3. Capacitación en buenas prácticas de ordeño

Después de las cuatro semanas de muestreo en la primera fase, se realizaron dos capacitaciones a los productores y sus empleados en los temas de: buenas prácticas de rutina de ordeño, calidad higiénica, sanitaria y residuos de antibióticos en la leche; lavado y desinfección de equipos, utensilios ordeño y tanque de leche; prueba de mastitis california test (CMT) para detectar las vacas con mastitis subclínica; y flameado de ubre y desborle de cola. La metodología

para el desarrollo de las capacitaciones fue: en la primera, se ofreció una conferencia magistral de dos horas de duración, a cargo de un médico veterinario especialista, donde se trataron las temáticas, y se respondieron las preguntas de los asistentes a manera de foro; en la segunda, se realizaron actividades prácticas en uno de los hatos, dirigida por un médico veterinario especialista, que abarcaron las mismas temáticas y dónde los asistentes podían ejecutar los procedimientos luego de la demostración.

4.4. Medición de calidad sanitaria

Se estimó midiendo el recuento de células somáticas (RCS) por medio del kit Portachek® (Ver protocolo, anexo 1).

4.5. Medición de la calidad higiénica

Se estimó midiendo el recuento de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) (Rida Count® mesófilos), recuento de Coliformes Totales (RCT) y fecales (RCF) (Rida Count® coliformes) (ver protocolos, anexo 2).

4.6. Cultivo microbiológico.

Se identificaron las bacterias presentes en las muestras de leche de tanque utilizando un protocolo convencional (ver protocolo, anexo 4). Solamente se realizó en la primera fase de toma de muestras.

4.7. Medición de residuos de antibióticos

Se determinó la presencia de residuos de antibióticos betalactámicos utilizando el kit Delvotest® (ver protocolo, anexo 3)

4.8. Análisis estadístico.

Los resultados de las pruebas fueron tabulados en una hoja de cálculo (Excel®, versión 2010). Los análisis se realizaron con el programa SPSS versión 18®, e igualmente se tabularon los datos obtenidos a través del CMT por cuarto de cada vaca en el programa de CMT-Bayer®.

A las variables dependientes que se midieron, se les asignaron categorías como se describen en la tabla 3.

Tabla 3

Variables

Variable	Categoría	Valor	Significado
Tipo de ordeño	0	Manual	
	1	Mecánico	
RCS	0	<200.000 célula somáticas/mL	Buena calidad sanitaria
	1	200.001 - 400.000 célula somáticas/mL	Mastitis subclínica moderada

	2	>400.001 célula somáticas/mL	Mastitis subclínica severa
UFC	0	<175.000 UFC/mL	Buena calidad higiénica (puede bonificar)
	1	175.001 – 200.000 UFC/mL	Buena calidad higiénica (sin bonificación)
	2	>200.001 UFC/mL	Mala calidad higiénica (susceptible de penalización)
RCT	0	Ausencia de coliformes totales	Buena calidad higiénica
	1	Presencia de coliformes totales	Mala calidad higiénica
RCF	0	Ausencia de coliformes fecales	Buena calidad higiénica
	1	Presencia de coliformes fecales	Mala calidad higiénica
Aislamiento microbiano	0	Ausencia	No se obtuvieron aislamientos de microorganismos
	1	Presencia	En tres cultivos repetidos se obtuvo aislamiento
Tipo de microorganismo aislado	0	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Asociadas a mastitis
	1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Asociadas a mastitis
	2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Asociadas a mastitis
	3	<i>Enterococcus spp</i>	Asociadas a mastitis
	4	<i>Staphylococcus aureus</i>	Asociadas a mastitis
	5	<i>Escherichia coli</i>	Asociadas a mastitis

6	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Asociadas a mastitis
7	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Asociadas a mastitis
8	<i>Enterobacter hafnie</i>	Asociadas a mastitis
9	<i>Enterobacter agglomerans</i>	Asociadas a mastitis
10	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Asociadas a mastitis
11	<i>Klebsiella ozaenae</i>	Asociadas a mastitis
12	<i>Corynebacterium spp</i>	Asociadas a mastitis
13	<i>Streptococcus uberis</i>	Asociadas a mastitis
14	<i>Candida spp</i>	Asociadas a mastitis

Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Se elaboró una tabla descriptiva de los resultados obtenidos de cada hato y gráficos de dispersión, tanto en la primera como en la segunda fase de muestreo.

Se analizaron los valores (RCS, UFC, RCT y RCF) de la primera fase de muestreo por medio de un análisis de varianza ANOVA, para comparar las diferencias entre hatos, con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Para saber cuáles hatos específicamente presentaban diferencia estadística, se realizó una prueba post-hoc (Bonferroni).

Se determinó la frecuencia de cultivos con aislamiento de microorganismos en cada uno de los hatos, solo se tuvieron en cuenta los microorganismos aislado en tres o más cultivos.

Se realizó un análisis bivariado, con una prueba de chi cuadrado (χ^2), para encontrar la asociación entre: (a) cada tipo de microorganismo y los RCS, (b) tipo de ordeño y los RCS, UFC,

RCT y RCF y tipo de microorganismo. Para determinar si había asociación, resultado de χ^2 de Pearson debía ser mayor a 3.84, con un $p < 0.05$, y con un intervalo de confianza (IC) de 95%. Para determinar si primera variable es un factor de riesgo para la segunda, el Odds Ratio (OR) y el IC debían ser superiores a 1; o si ambos eran inferiores a 1, se consideraba un factor protector.

Los resultados de CMT de los hatos intervenidos en la segunda fase, poscapacitación, fueron analizados únicamente de forma descriptiva usando el programa Manejo de la salud de la ubre (MASALUBRE, v. 3ª, Abril 2007, Bayer®). Las muestras se clasificaron por cruces según la aglutinación que presentaron: (a) Traza o +, poca aglutinación; ++, aglutinación moderada; +++, aglutinación severa; -, sin aglutinación (Mellenberger, 2004, p.1) (ver anexo 4).

Los resultados de RCS, UFC, RCT y RCF, obtenidos en la segunda fase de muestreo, fueron comparados con los de la primera fase usando una T de Student.

5. RESULTADOS

De los 13 hatos muestreados en la primera fase, siete (53,84%) usaban ordeño manual y seis (46,16%) ordeño mecánico. Se determinaron los rangos de RCS, UFC, RCT, RCF en los cuatro muestreos de los 13 hatos (tabla 4), al igual que sus promedios (figuras 1 y 2).

Tabla 4.

Rangos de RCS, UFC, RCT Y RCF de leche de tanque de refrigeración, en los hatos muestreados en la primera fase.

Hato	Rangos de RCS/mL	Rangos de UFC/mL	Rangos RCT/mL	Rangos RCF/mL
1	49.000 - 60.000	1.000 - 5.000	90 - 500	0
2	160.000 - 470.000	1.000 - 13.000	150 - 600	0 - 70
3	49 - 350.000	2.000 - 138.000	150 - 2.800	0 - 50
4	210.000 - 490.000	2.000 - 6.000	30 - 150	0 - 30
5	49.000 - 550.000	3.000 - 7.000	100 - 1390	0 - 10
6	590.000 - 1.560.000	16.000 - 60.000	50 - 480	0 - 20
7	590.000 - 1.320.000	2.000 - 33.000	460 - 2.000	0
8	49.000 - 440.000	1.000 - 10.000	20 - 120	0
9	49.000 - 560.000	5.000 - 198.000	500 - 11.400	0 - 10
10	470.000 - 1.770.000	5.000 - 1.040.000	80 - 4.400	890 - 2.100
11	140.000 - 580.000	1.000 - 120.000	90 - 740	0 - 40

12	1.480.000 - 3.000.000	5.000 - 86.000	320 - 3.220	0 - 40
13	930.000 - 1.990.000	59.000 - 935.000	10 - 1.200	10 - 20

Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

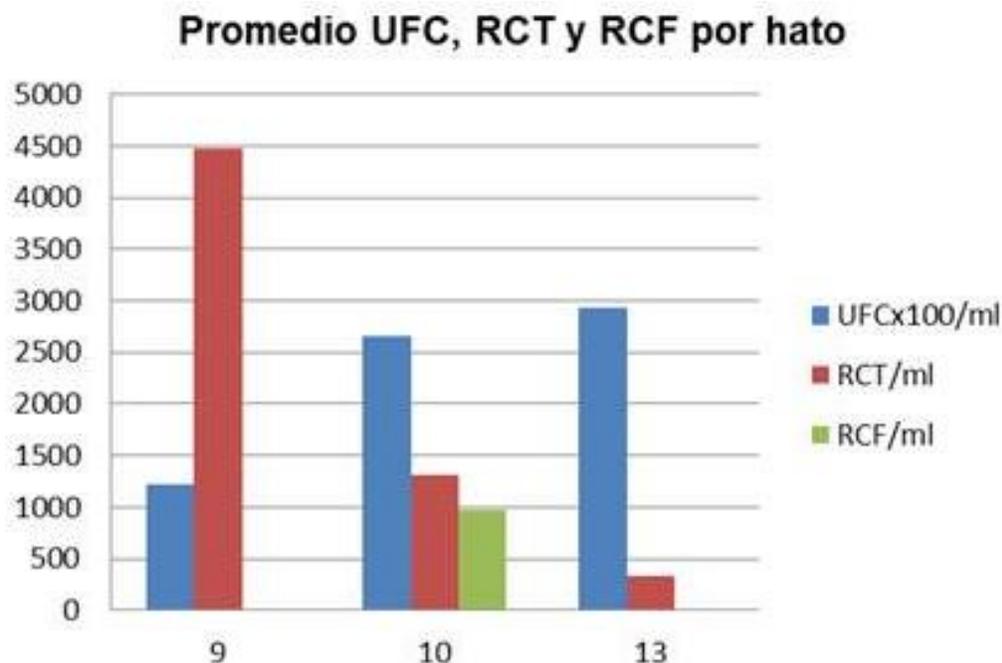
Los hatos 6, 7, 10, 12 y 13 presentaron un promedio de RCS superior a 400.001 células/mL (Figura 1).



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 1. Promedio de recuento de células somáticas por hato. Se muestra el valor promedio de los 4 muestreos de cada uno de los hatos y su respectiva desviación estándar

En los hatos 9, 10 y 13 las UFC presentaron un promedio entre 121.500 y 292.500 UFC/mL. En RCT estuvieron en un promedio entre 332,5 y 4.475 RCT/mL y en RCF estuvieron en un promedio entre 5 y 975 RCF/mL (Figura 2).



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 2. Promedios de UFC, RCT Y RCF en los hatos más afectados. Se muestran los valores promedios de los hatos más afectados.

Se observó mayor RCS en los hatos 6, 7, 10, 12 y 13 con diferencia significativa ($p < 0,05$), respecto a los otros hatos. En cuanto a UFC, RCT y RCF, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ninguno de los hatos.

Únicamente el hato 10 fue positivo a presencia de antibióticos en leche. Por un error de manejo, un animal que estaba en tratamiento antibiótico no fue identificado correctamente (posterior a la prueba se logró identificar) y la leche ordeñada se mezcló en el tanque de enfriamiento.

Nueve hatos presentaron frecuencias mayores a tres en el aislamiento de microorganismos específicos (Tabla 5).

Tabla 5.

Frecuencia de aislamiento de microorganismos en leche de tanque de enfriamiento por hato

Identificación del hato	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Candida spp.</i>
1						3
2		4				
3			4			
4					3	
6	4					
10				4		
11		3				
12	3					
13	4					

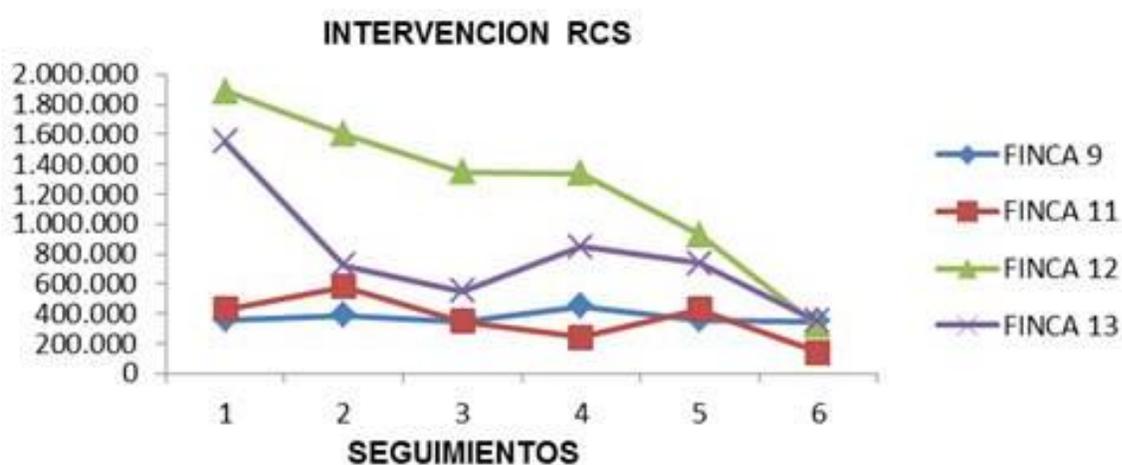
Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Existe asociación entre la presencia de *Streptococcus agalactiae* y el aumento de RCS ($p=0,038$; $OR=5,250$; $IC\ 95\% [0,998-27,609]$), pero la presencia de esta bacteria no es un factor de riesgo.

Se encontró que el ordeño manual es un factor de riesgo ($p=0,034$; $OR=4,200$; $IC\ 95\% [1,096-16,096]$), para el incremento en el RCS. Ni el ordeño manual, ni el mecánico, fueron asociados con UFC, RCT Y RCF.

Existe asociación entre la presencia de *Enterococcus spp.* con el ordeño mecánico ($p=0,005$; $OR=0,750$; $IC\ 95\% [0,595-0,945]$).

Cuatro hatos (9, 11, 12 y 13) aceptaron asistir a las capacitaciones y fueron muestreados nuevamente, en una segunda fase del proyecto. Se encontró una disminución significativa ($p<0.015$) del RCS en estos hatos, en los muestreos posteriores a la capacitación (ver Figura 3).



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 3: Seguimientos de Recuento de Células Somáticas de los hatos intervenidos

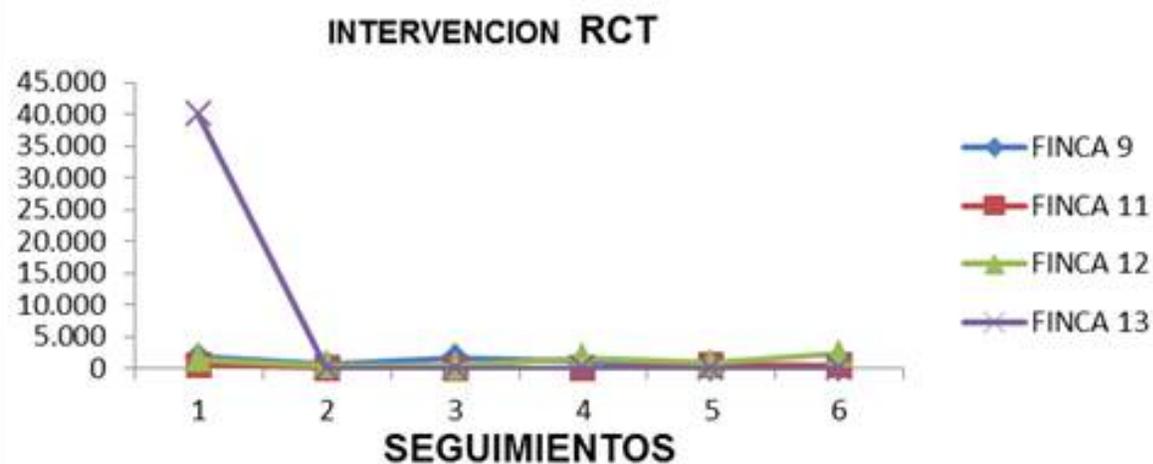
No se encontró ninguna diferencia estadística en las UFC en los muestreos posteriores a la capacitación, aunque se observa una disminución aparente (figura 4) que posiblemente indique

una mejora en las prácticas de ordeño. Igual comportamiento presentaron los RCT y RCF (Figuras 5 y 6).



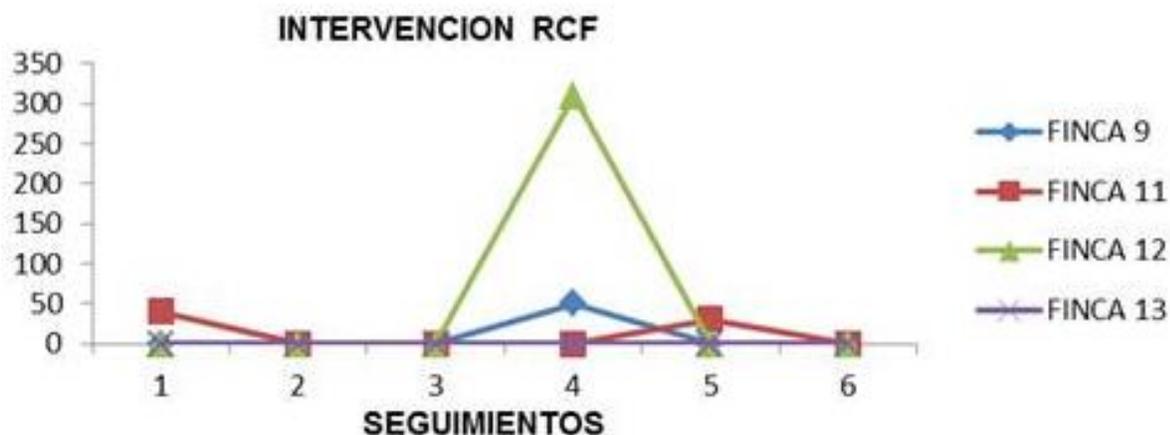
Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 4. Seguimiento de Unidades Formadoras de Colonia de los hatos intervenidos.



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 5. Seguimiento de Recuento de Coliformes Totales de los hatos intervenidos.



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 6. Seguimiento de Recuento de Coliformes Fecales de los hatos intervenidos.

Los resultados de los seis muestreos de CMT en los hatos intervenidos, se presentan en las tablas 5-8 y en las figuras 7-10. En los hatos 9 y 11, luego de la capacitación, inicialmente se encontró bajo porcentaje de cruces y vacas positivas, pero durante los otros cinco CMT se observó un aumento gradual de estos (Tablas 6 y 7; figuras 7 y 8). Los hatos 12 y 13 tuvieron vacas que presentaba mastitis clínica en alguno de sus cuartos.

Tabla 6.

Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas del hato 9

C.M.T.	n	Vacas positivas		Cuartos afectados (%)	+		++		+++	
		Total	%		Cuartos	%	Cuartos	%	Cuartos	%
1	11	4	36,4	22,7	5	11,4	3	6,8	2	4,5
2	12	7	58,3	31,3	0	0,0	6	12,5	9	18,8
3	11	7	63,6	27,3	6	13,6	3	6,8	3	6,8
4	13	11	84,6	53,8	12	23,1	4	7,7	12	23,1
5	12	9	75,0	43,8	11	22,9	3	6,3	7	14,6
6	12	10	83,3	39,6	13	27,1	5	10,4	1	2,1

Fuente: Tatiana Ortiz. 2014



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 7. Porcentaje de cuartos afectados hato 9

Tabla 7.

Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas hato 11

C.M.T.	n	Vacas positivas		Cuartos afectados (%)	+		++		+++	
		Total	%		Cuartos	%	Cuartos	%	Cuartos	%
1	31	6	20,0	7,5	5	4,2	3	2,5	1	0,8
2	39	11	37,9	23,2	14	12,1	11	9,5	2	1,7
3	28	11	39,3	16,1	10	8,9	4	3,6	4	3,6
4	27	9	33,3	18,5	13	12,0	5	4,6	2	1,9
5	25	14	56,0	29,0	20	20,0	9	9,0	0	0,0
6	24	11	45,8	24,0	13	13,5	7	7,3	3	3,1

Fuente: Tatiana Ortiz. 2014



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 8: Porcentaje de cuartos afectados hato 11

El hato 12 se encontró en el primer CMT un 47.5% de cuartos afectados y un 80% de vacas positivas al CMT, en el último CMT se logró disminuir los cuartos afectados en un 28.1% y las vacas positivas un 62.5%. (Tabla 8 y figura 9). En este hato la bacteria presente era *Streptococcus agalactiae*.

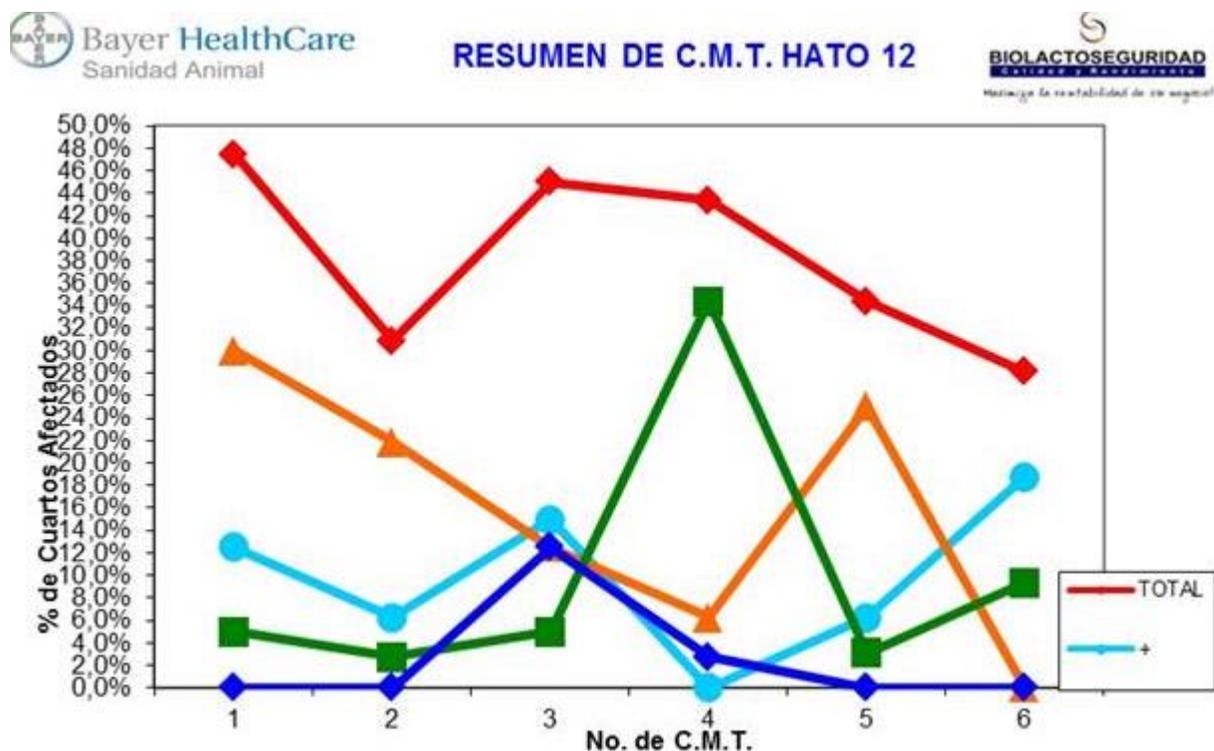
Tabla 8.

Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas Hato 12

C.M.T.	n	Vacas positivas		Cuartos afectados (%)	+		++		+++		Mastitis clínica	
		Total	%		Cuartos	%	Cuartos	%	Cuartos	%	Cuartos	%
1	10	8	80,0	47,5	5	12,5	12	30,0	2	5,0	0	0,0
2	8	5	62,5	30,9	2	6,3	7	21,9	1	2,8	0	0,0
3	10	8	80,0	45,0	6	15,0	5	12,5	2	5,0	5	12,5
4	8	6	75,0	43,4	0	0,0	2	6,3	11	34,4	1	2,8

5	8	6	75,0	34,4	2	6,3	8	25,0	1	3,1	0	0,0
6	8	5	62,5	28,1	6	18,8	0	0,0	3	9,4	0	0,0

Fuente: Tatiana Ortiz. 2014



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 9. Porcentaje de cuartos afectados hato 12

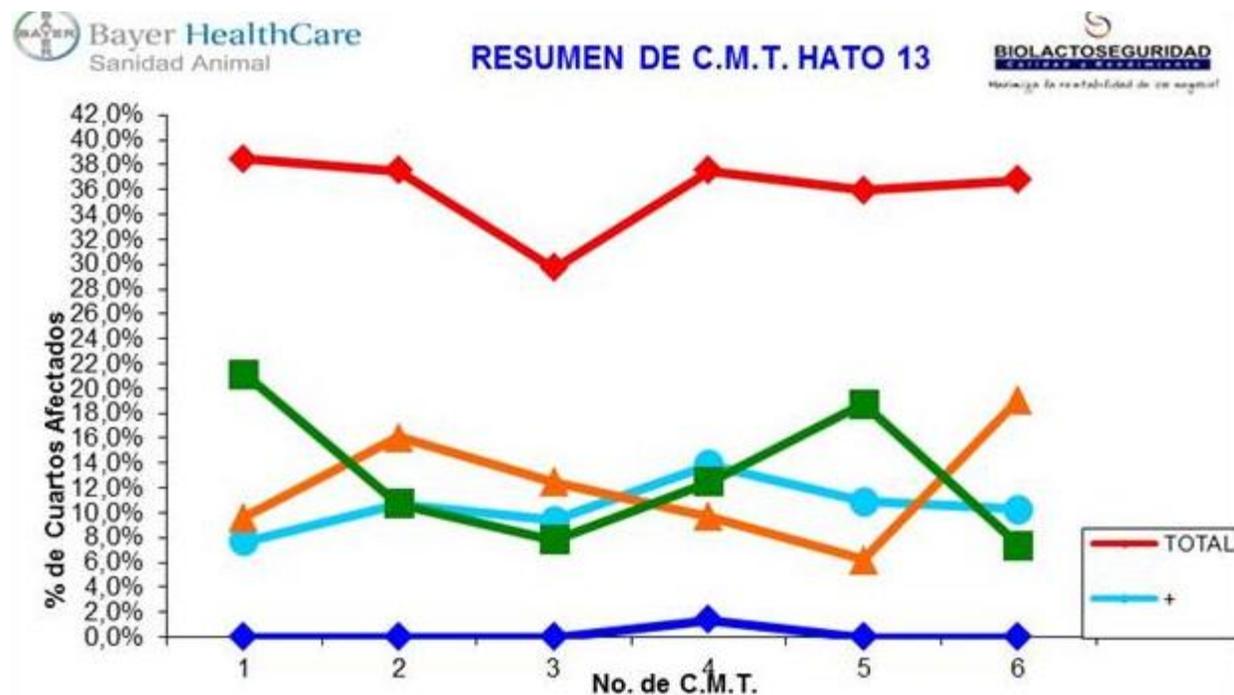
El hato 13 inicialmente tenía un 38.5% de cuartos afectados y 92.3% de vacas positivas, y en el 6 CMT se logró disminuir los cuartos afectados en un 36.8% y un 70.6% de vacas positivas teniendo en cuenta que habían más vacas que al inicio de los CMT. (Tabla 9 y figura 10). En este hato la bacteria presente repetidamente en el tanque fue el *Streptococcus agalactiae*.

Tabla 9:

Porcentaje de cruces de los cuartos afectados y vacas positivas en el hato 13

C.M.T.	n	Vacas positivas		Cuartos afectados (%)	+		++		+++		Mastitis clínica	
		Total	%		Cuartos	%	Cuartos	%	Cuartos	%	Cuartos	%
1	13	12	92,3	38,5	4	7,7	5	9,6	11	21,2	0	0,0
2	14	12	85,7	37,5	6	10,7	9	16,1	6	10,7	0	0,0
3	16	10	62,5	29,7	6	9,4	8	12,5	5	7,8	0	0,0
4	18	13	72,2	37,5	10	13,9	7	9,7	9	12,5	1	1,4
5	16	12	75,0	35,9	7	10,9	4	6,3	12	18,8	0	0,0
6	17	12	70,6	36,8	7	10,3	13	19,1	5	7,4	0	0,0

Fuente: Tatiana Ortiz. 2014



Fuente: Tatiana Ortiz. 2014

Figura 10. Porcentaje de cuartos afectados hato 13

6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En la primera fase de este estudio, encontramos que únicamente los hatos 1 y 3 presentaron valores inferiores a 400.000 RCS/mL durante los cuatro muestreos, y que los hatos, 2, 4, 5, 8, 9, 11, tienen un valor promedio inferior a la misma cifra. Las ubres sanas usualmente tienen valores de células somáticas por debajo de 200.000 RCS/ml, valores superiores están usualmente asociados con una infección de la glándula mamaria (Caraviello, 2004, p.1). Las reglamentaciones internacionales permiten recepción de leche con diferentes recuentos, en la Unión Europea el conteo límite permitido es de 400.000 RCS/mL (Van Schaik, Lotem, & Schukken, 2002, p.782); igualmente en Noruega, Nueva Zelanda, Suiza y Australia (Norman, Miller, Wright, & Wiggans, 2000, p.2782). En Colombia no hay una reglamentación al respecto, pero algunas empresas acopiadoras bonifican voluntariamente basándose en estas reglamentaciones internacionales. Para los hatos analizados en este estudio, el 15% (2/13) tenía valores <400.000 RCS/mL, y el 38% (5/13) valores >1.000.000 RCS/mL; esto es similar con datos encontrados en el norte de Antioquia donde el 23% (101/434) de los hatos tenían valores <400.000 RCS/mL, y el 35% (153/434) valores >1.000.000 RCS/mL. Estos resultados sugieren la existencia de problemas serios de mastitis subclínica en los hatos (Reyes, Villar, & Olivera, 2010, p.5). De la misma manera, estos resultados son similares a un estudio realizado en Córdoba, donde encontraron un promedio del RCS de 345.133 RCS/mL y en el 47% (n=7) de los hatos el RCS fue mayor a 250.000 RCS/mL; ello indica que estos resultados se asocian a la presencia de vacas con mastitis subclínica (Calderón, Rodríguez, Arrieta, Martínez, & Vergara, 2012, p.402). Podemos suponer que en esta primera fase, los hatos 6, 7, 10, 12 y 13, los cuales

presentaron los mayores valores de RCS, tenían problemas relacionados con mastitis subclínica en una población considerable de sus vacas.

Las muestras de todos los hatos obtenidas durante la primera fase, presentan un bajo número de UFC, lo que indica que la rutina de ordeño es apropiada, hay limpieza y desinfección tanto en los hatos que hacen ordeño manual, como en los de ordeño mecánico. Según la resolución 000017 de 2012 del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, la mayoría de los hatos (excepto el 9, 10 y 13) son susceptibles de bonificación ya que están dentro de un rango de 1.000 – 138.000 UFC/mL. Hatos con similar nivel de UFC se encontraron en el norte de Antioquia en el 2012 (Ruiz, Orozco, Rodríguez, Idárraga, & Olivera, 2012, p150). Por el contrario, Ramón et al (2011), en un ordeño mecánico, encontraron un promedio mayor a 218.000 UFC, y el factor de riesgo encontrado fue la falta de limpieza de los pezones antes del ordeño, ya que cuando el pezón entra en contacto con las pezoneras se contaminan (Ramón, Restrepo, Ruiz, & Olivera, 2011, p.12).

En el norte de Antioquia en un hato con ordeño manual se encontró que aunque la leche se obtiene con muy pocas UFC al momento del ordeño, el tiempo que transcurre desde el inicio del ordeño hasta el enfriamiento de la leche hace que se incrementen los Mesófilos hasta niveles de penalización en el pago de la leche (Posada, Loaiza, Restrepo, & Olivera, 2010, p.43).

Con respecto a la detección de residuos de antibióticos en leches, solo se detectó en el hato 10 una sola vez, lo que nos indica que en los demás hatos hacen un buen tiempo de retiro en leche como lo indica el decreto 616. Por el contrario a otro autor que encontraron en un estudio

realizado en el municipio de Santa Rosa en 4 muestreo 7.3%, 19.6%, 4.6% y 4.7% de residuos de antimicrobiano, lo que indica que se incumple la norma por factores que pueden ser el tiempo de retiro y la no identificación de la vaca (Reyes et al, 2010, p.6). Vásquez y col encontraron como factores de riesgo el uso de medicamentos sin prescripción médico veterinaria y la ausencia de registro de tratamientos (Vásquez & Olivera, 2012, p.161).

Streptococcus agalactiae es un patógeno contagioso causantes de mastitis que puede persistir dentro de la glándula mamaria, el método de propagación es por contacto horizontal (vaca a vaca), y se transmite por medio de las manos de los ordeñadores y equipos de ordeño contaminados, la falta de uso del presellado y sellado (Keefe, 2012, p.204). En las muestras de tres hatos (ver tabla 4), el *Streptococcus agalactiae* fue el microorganismo predominante, y como lo reporta Jayarao (2003) “si su frecuencia de presentación en muestreos repetidos es igual o mayor a tres, puede considerarse el patógeno responsable de la infección en el hato” p.80. Es importante anotar que cuando aparece esta bacteria, se considera que en el hato realizan malas prácticas de prevención y control de la mastitis, es el principal agente asociado con la mastitis bovina y altamente contagioso (Wolter et al, 2000, p.27).

Staphylococcus epidermidis se ha convertido en un importante patógeno de mastitis que no debe ser descuidado (Oliveira et al, 2006, p.139). Esta bacteria causa infecciones intramamarias, aumentan el RCS en la leche y se considera perjudicial para la calidad de la leche y el rendimiento. Se encuentra en la piel, las mucosas y los pezones, son generalmente considerados como patógenos oportunistas originadas a partir de piel

de bovino (Piessens et al, 2012, p.70). Por otra parte, el encontrar dos hatos con *Staphylococcus epidermidis* se demuestra que la contaminación por parte del ser humano, a través de malas prácticas de ordeño, tiene mucho que ver en las mastitis subclínicas (Oliveira et al, 2006, p.133). y cada vez es más frecuente encontrar este tipo de patógeno asociado a la mastitis subclínica. Esta asociación también fue encontrada principalmente en vacas multíparas con mastitis subclínica y altos RCS, que en vacas primíparas (Thorberg, Danielsson-Tham, Emanuelson, & Persson Waller, 2009, p.4965).

En el 2001, Ramírez y col encontraron que el principal patógeno en cuartos con >500.000 RCS/mL fue *Streptococcus agalactiae* con una incidencia del 47%, mientras que el *Staphylococcus epidermidis* estaba presente en un 14.6% (Ramírez, Gaviria, Arroyave, Sierra, & Benjumea, 2001, p.81). Estos mismos autores en 2011, en vacas con >200.000 RCS/mL, encontraron que *Streptococcus agalactiae* tenía una incidencia del 34%, mientras que las bacterias coagulasa negativo (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprofiticus*) se presentaban en un 13% (Ramírez et al, 2011, p.37).

Estos resultados no se pueden comparar con este estudio, ya que los aislamientos bacterianos se realizaron directamente de cada vaca, no de leche de tanque de refrigeración. Podemos decir que el cultivo microbiológico de muestras de leche en tanque puede ser una herramienta para tener una aproximación del estado sanitario de las ubres del hato, a un menor costo.

Como se determinó en este estudio ($p=0.038$, $OR=5.250$, $IC\ 95\% (0.998-27.609)$) el riesgo de tener aumentado el RCS por realizar ordeño manual, es alto. No se pudo determinar por observación, ni analizando la rutina, cual sería el factor o factores que hacen que se aumenten estas células por el ordeño manual, podría decirse que al hacer ordeño manual, el riesgo de mastitis subclínica por *Staphylococcus epidermidis* es mayor, debido al contacto permanente de la mano del ordeñador. Estos resultados se contradicen a los reportados en Brasil, donde el ordeño mecánico presentó mayor prevalencia de mastitis subclínica, tanto para el diagnóstico por CMT, como para RCS y cultivo bacteriológico (Ruiz et al, 2011, p.62).

Se encontró asociación entre el ordeño mecánico y la presencia de *Enterococcus sp.*, esto puede deberse a las siguientes malas prácticas de ordeño: incorrecta limpieza y desinfección de las pezoneras o del sistema de recirculación; inadecuado uso de los productos de limpieza en términos de calidad o en tiempos de espera reducidos durante su aplicación; y el uso de agua de mala calidad. En Costa Rica se encontró un 38% de *Enterococcus sp.* en muestras de leche cruda de ordeño mecánico, atribuido probablemente a la contaminación fecal directa o indirecta, es decir; por medio del ambiente, ya que las vacas generalmente están en contacto con otros animales de granja como gallinas, perros, caballos y cerdos o incluso, del ser humano; por otro lado, la contaminación puede deberse a la mala limpieza del equipo de ordeño y con la pureza del agua que se utiliza para el proceso (Araya, Davidovich, Chaves, & Arias, 2005, p.165).

En los cuatro hatos que participaron en la intervención y en la segunda fase de muestreo, se logró una disminución de los análisis de RCS (ver figura 3); esto nos indica que las capacitaciones en buenas prácticas de ordeño que se realizaron fueron efectivas y los ordeñadores acataron las recomendaciones que se les dio para que logran mejorar la calidad de la leche. Las buenas prácticas de ordeño son aspectos de manejo que todos los productores deben utilizar rutinariamente, con el fin de generar beneficios para la obtención de leche de mejor calidad (Calderón et al, 2008, p.144).

En un estudio que se realizó en Paipa Boyacá, se logró una leve disminución en UFC, RCT Y RCF después de las capacitaciones que se realizaron, pero no se logró mejores resultados debido a que los ordeñadores no tenían buena actitud frente a los cambios que debían de hacer para mejorar su leche (Niera & Silvestri, 2006, p.168). Los porcentajes de cuartos afectados por mastitis subclínica se logró disminuir en el 50% de los hatos intervenidos, posiblemente porque esto depende de que los ordeñadores se esfuercen o no, en seguir las recomendaciones dadas durante las capacitaciones, y que el propietario tenga la voluntad de seguirlas también.

Con respecto a UFC se observó una leve disminución no significativa ya que los hatos estaban por debajo de 200.000 UFC/mL (ver figura 4) que es lo permitido de acuerdo a la resolución (Ministerio, 2012, p.18). En los resultados RCT y RCF no se encontró diferencia significativa debido a que tenían recuentos bajos, a excepción del hato 13 en el segundo seguimiento que tuvo un RCT alto y en el hato 12 en el cuarto seguimiento un RCF alto, pero no se logró identificar la causa debido a que los demás seguimientos fueron bajos (ver figuras 5 y 6) estos recuentos son permitidos de acuerdo al decreto 616 (Ministerio, 2006, p.16).

En un estudio que realizaron se determinó que el principal problema que causa la presentación de mastitis obedece a la rutina de ordeño y la incorrecta implementación de buenas prácticas ganaderas, el ordeñador es la fuente principal ya que debe mostrar interés por mejorar y además debe tener las herramientas necesarias, para poder obtener una mejora en la calidad de la leche (Trujillo, Vásquez, & Martínez, 2009, p.34).

Se concluye que hacer un análisis de muestras de leche de tanque de UFC, RCS, RCT, RCF y microorganismos, nos ayuda a saber cómo se encuentra el hato en general y de esta forma tomar medidas preventivas y correctivas si es necesario y a partir de los resultados que se obtengan, se identifican los animales afectados por medio del CMT y con unas buenas prácticas de ordeño y una debida intervención se puede obtener una leche de mejor calidad.

Estos concuerdan con otros estudios realizados en tanque los cuales concluyen que el análisis de muestras a partir del mismo sirve como indicador y facilita el seguimiento de la salud de la ubre y la calidad de la leche del hato, además dicen que es una herramienta útil es menos caro, más conveniente, y más rápido que el análisis de muestras de leche de animales individuales o grupos de vacas (Jayarao et al, 2003, p.90).

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alais, C. (1985). *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera*. Barcelona: Reverte.
- Andresen, H. (2001). Mastitis: prevención y Control. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 12(2), 55–64.
- Actualidad Ganadera. (2013). Buenas prácticas de ordeño para producir leche de calidad. Lima, Perú. Recuperado de <http://www.actualidadganadera.com/articulos/buenas-practicas-de-ordenio-para-producir-leche-de-calidad.htm>
- Araya, M., Davidovich, G., Chaves, C., & Arias, M. L. (2005). Identificación de *Enterococcus* sp. en muestras de leche cruda del Area Metropolitana de Costa Rica y evaluación del patrón de sensibilidad a antibióticos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55(2), 161–166.
- Calderón, A., Rodríguez, V., Arrieta, G., Martínez, N., & Vergara, O. (2012). Physicochemical and microbiological quality of raw milk in livestock enterprises dual purpose system in montería (Cordoba). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15(2), 399–407.
- Calderón, A., Jiménez, G., & García, F. (2008). Determinación de buenas prácticas de ordeño en un grupo de gestión empresarial de ganaderos del altiplano cundiboyacense. *Revista U.D.C.A*. 11(1), 143–152.
- Caraviello, D. (2004). Selección para Mastitis Clínica y Conteo de Células Somáticas. *Novedades Lácteas*, 613, 6.
- DANE. (2013). Estadística; IPC; IPP. Medellín. Colombia. Recuperado de <https://www.dane.gov.co/index.php/agropecuario-alias/estadisticas-agricolas-y-pecuarias-ena>
- FEDEGAN. (2012a). Federación Colombiana de ganaderos. Producción Colombia. Inventario Bovino Nacional. Consumo. Bogotá D.C. Colombia. Recuperado de <http://www.fedegan.org.co/estadisticas/produccion-0>
- FEDEGAN. (2012b). Producción de leche de buena calidad. Manual práctico del ganadero. Fedegan. (pp.111-120). Bogotá D.C. Colombia. Enciclopedia ganadera.
- García, P., Martínez, B., & Rodríguez, A. (2008). Nuevas alternativas en el tratamiento de las mamitis en el ganado vacuno. Tecnología Agroalimentaria. Recuperado de <http://serida.org/publicacionesdetalle.php?id=2211&anyo=>
- Garzón, M. T., & Nieto, A. (2011). Las buenas prácticas ganaderas en la producción de leche. Bogotá D.C. Colombia.

- Gaspar, G., Molina, B., & Coca, R. (2010). Calidad de la leche cruda. Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz. Veracruz.
- Gaviria, B. C. (2007). Calidad higienica y sanitaria de la leche cruda. Olivera, M (Ed). Buenas Prácticas de Producción Primaria de Leche (pp. 115–122). Medellin, Colombia, Editorial Biogenesis.
- Hernández, J., & Bedolla, J. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 1695-7504*, IX(9), 34.
- Jaramillo, M. (2000). Células somáticas y calidad de leche. *Despertar Lechero*, 17, 39–48.
- Jayarao, B., & Wolfgang, D. (2003). Bulk-tank milk analysis. A useful tool for improving milk quality and herd udder health. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 19(1), 75–92.
- Keefe, G. (2012). Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 28(2), 203–16.
- Mangandi, V. (2008). Determinación de mastitis subclínica en vacas lecheras por medio del recuento de células somáticas en el tanque. Universidad de el salvador.
- Mellenberger, R. (2004). Hoja de Información de la Prueba de Mastitis California (CMT). Universidad de Wisconsin-Mádison. Recuperado de http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/hoja-de-informacion-de-la-prueba-de-mastitis-california_spanish.pdf
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2012), Resolucion 000017: Sistema de pago de leche cruda al productor. Bogotá, Colombia.
- Ministerio de la proteccion Social. (2006), Decreto 616 de 2006 Lácteos. Bogotá, Colombia.
- Niera, E., & Silvestri, J. (2006). Analisis del proceso de ordeño y de la calidad higienica de la leche utilizada en la fabricacion de queso Paipa. *Revista Lasallista de Investigación*, 6(002), 163–170.
- Norman, H. D., Miller, R. H., Wright, J. R., & Wiggans, G. R. (2000). Herd and state means for somatic cell count from dairy herd improvement. *Journal of Dairy Science*, 83(12), 2782–8.
- Oliveira, M., Bexiga, R., Nunes, S. F., Carneiro, C., Cavaco, L. M., Bernardo, F., & Vilela, C. L. (2006). Biofilm-forming ability profiling of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* mastitis isolates. *Veterinary Microbiology*, 118(1-2), 133–40.
- Olivera, M. (2007). Buenas Prácticas de Producción Primaria de Leche. Medellin, Colombia. Editorial Biogenesis.

- Piessens, V., De Vliegher, S., Verbist, B., Braem, G., Van Nuffel, A., De Vuyst, L., & Van Coillie, E. (2012). Intra-species diversity and epidemiology varies among coagulase-negative Staphylococcus species causing bovine intramammary infections. *Veterinary Microbiology*, 155(1), 62–71.
- Posada, S., Loaiza, E., Restrepo, J., & Olivera, M. (2010). Characterization of manual milking and identification of critical control factors for the hygienic quality of milk in a farm located at the North of the Antioquia province. *Revista Lasallista de Investigación*, 7(2), 35–46.
- Ramírez, N., Gaviria, G., Arroyave, O., Sierra, B., & Benjumea, J. (2001). Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14, 76-87.
- Ramírez, N., Henao, O. A., Cerón-Muñoz, M., Jaramillo, M., Cerón, J., & Palacio, L. G. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 22, 31–42.
- Ramón, J., Restrepo, J., Ruiz, T., & Olivera, M. (2011). Detection of contamination risks with environment microorganisms in a mechanical milking system in the north of Antioquia. *Revista Lasallista de Investigación*, 8(1), 7–15.
- Reyes, J., Villar, D., & Olivera, M. (2010). Evaluación de residuos de antimicrobianos por la prueba Delvotest en una cuenca lechera de Antioquia con alto índice de mastitis subclínica. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(12), 1–10.
- Ruiz, A., Ponce, P., Gomes, G., Mota, R., Elizabeth, S., Lucena, E., & Benone, S. (2011). Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en pernambuco, brasil. *Revista de Salud Animal*, 33(1), 57–64.
- Ruiz, T., Orozco, S., Rodríguez, L. S., Idárraga, J., & Olivera, M. (2012). Factors that affect colony forming units in bulk milk of north antioquia-colombia dairy farms. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15(1), 147–155.
- Santana, R., & Uribe, C. (2006). Manual de producción de leche para pequeños y medianos productores. (pp. 165). Chile.
- Tafur, M. (2009). La inocuidad de alimentos y el comercio. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 22(3), 330-338.
- Thorberg, B., Danielsson, M., Emanuelson, U., & Persson, K. (2009). Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 4962–70.
- Tornadijo, M., Marra, A., Fontán, M., Prieto, B., & Carballo, J. (1998). La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso: calidad química milk quality for cheese production:

chemical quality a calidade da leite destinada á fabricación de queixo: calidade química. *Ciencia Y Tecnologia Alimentaria*, 2(2), 79–91.

Trujillo, A., Vásquez, F., & Martínez, G. (2009). Efectos de la mastitis subclínica en algunos hatos de la cuenca lechera del Alto Chicamocha (departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria*, 17, 23-35

Van Schaik, G., Lotem, M., & Schukken, Y. (2002). Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000. *Journal of Dairy Science*, 85(4), 782–9.

Vásquez, J., & Olivera, M. (2012). B-lactam residues in raw milk and factors associated with its presentation. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15(1), 157–165.

Wolter, C., Kloppert, B., & Zschoeck, M. (2000). La mastitis bovina. Universidad de Guadalajara, Guadalajara Nogales.

8. ANEXOS

8.1. Anexo 1 : Protocolo para análisis de recuento de células Somáticas

Técnica PortaCheck®

Este lector se utiliza para analizar el RCS en la leche, el cual se hace de forma manual y es práctico y fácil de utilizar.

Se toma la muestra de leche cruda ya sea de tanque o de Cuarto y se recoge la muestra en un envase limpio e identificarla.



Procedimiento:

Se agita la muestra de leche, se le agrega una gota de leche al pocillo de la tira utilizando una pipeta del kit, dejar que la leche se absorba completamente en el pocillo.

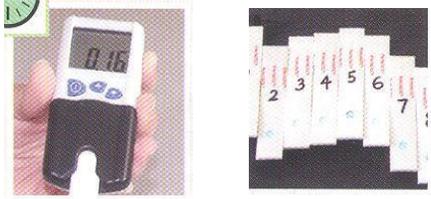


Luego se agrega 3 gotas de solución activadora al pocillo de la tira.



Lectura:

Después de 45 minutos se hace la lectura con el lector digital, se presiona el botón azul de la izquierda, luego esperar hasta que el número 543 aparezca en la pantalla.



Se coloca una tira de calibración dentro del lector (el pocillo de la tira abajo y hacia adelante).

Se remueve la tira de calibración cuando aparezca un símbolo de una tira con una gota. Coloque la tira de prueba (el pocillo abajo y hacia adelante).

Se lee el resultado multiplicando el número que aparece por 1.000.000 (ej: $0.16 = 160.000$ células somáticas/ml)

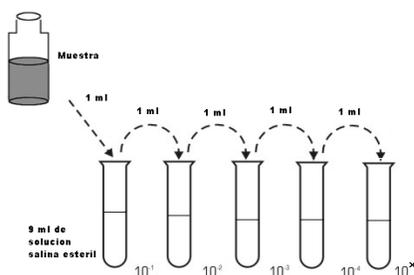
8.2. Anexo 2. Protocolo para análisis de Unidades Formadoras de Colonia, Coliformes Totales y Coliformes Fecales

Técnica RIDA Count total®

Este kit nos ayuda analizar la cantidad de UFC en la leche.

Procedimiento y preparación de las diluciones seriadas:

Realizar diluciones seriadas 10-1,10-2,10-3...10-x, dependiendo de los antecedentes previos de la muestra, en caso de que no se tenga historial de recuentos previos se recomienda trabajar hasta la dilución 10-4, se tomaran tubos de ensayo estériles según el número de diluciones que vayamos a realizar, cada uno con 9 ml de solución salina fisiológica estéril, se rotularan 10-1,10-2,10-3...10-x, una vez rotulados se procede a tomar 1 ml de la muestra de leche, y dispensar en el tubo 10-1, se homogeniza con la misma micropipeta, pipeteando y liberando varias veces hasta lograr una buena homogenización para tener la dilución 1:10, partiendo de esta, se toma 1 ml de la dilución 10-1 y se traspasan al tubo 10-2, se realiza el mismo procedimiento de homogenización, y sucesivamente se van realizando las demás diluciones de la misma forma como lo muestra la gráfica.



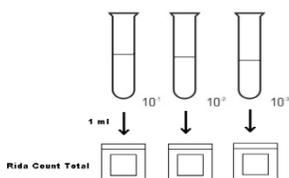
Criterios de dilución:

Antecedentes de recuentos entre 100 y 100.000 UFC se trabajaran con diluciones de 10-1, 10-2, 10-3.

Antecedentes de recuentos entre 100.000 y 1.000.000 UFC se trabajaran con diluciones de 10-4, 10-5, 10-6.

Siembra:

Una vez realizadas las diluciones, de cada una, se tomará 1 ml para sembrar en las placas de Rida count total debidamente marcadas con el nombre de la muestra y el número de la dilución, se debe retirar el papel adhesivo y verter la muestra de forma vertical suavemente en el centro de la almohadilla, se espera un momento hasta que la muestra se distribuya y se procede a cerrar la placa asegurándose que no quede ningún contacto con el exterior, sellando muy bien el adhesivo por los bordes sin ejercer presión en el centro.



Incubación:

Una vez las muestras se hayan sembrado en las placas de Rida Count total, estas serán incubadas a 37°C por un periodo de 48 horas, realizando una lectura previa a las 24 horas.

Lectura:

Una vez realizada la incubación procedemos a realizar la lectura, de las muestras que hayamos sembrado, observando que el crecimiento de las colonias debe disminuir entre mayor sea la dilución obteniendo un mayor conteo en la dilución 10⁻¹ y un menor conteo en la mayor dilución que hayamos sembrado, si esto no ocurre se podría pensar en una posible contaminación en el procedimiento y se entraría a buscar posibles fallas o fuentes de contaminación, como la solución salina, puntas, tubos, etc.

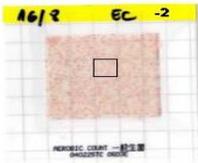
Conteo de colonia:

Se realiza en la última dilución que haya presentado crecimiento, las colonias se observaran de color rojo debido al colorante indicador del medio, estas se contarán y se multiplicarán por el inverso de la dilución.



Ejemplo: Si se tiene una muestra la cual se sembraron en las diluciones 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ después de 48 horas de incubación vemos que 10⁻¹, 10⁻² tiene un crecimiento incontable de colonias, la placa ideal para realizar el conteo es la de 10⁻³, en esta se contarían el número de colonias suponiendo que son 96 colonias, estas se multiplican por el inverso de la dilución en este caso 10⁻³ = 1.000 para un total de 96.000 UFC/ml. Si el recuento es elevado pero la distribución de las colonias en la placa es homogénea, se cuenta 1 de los 20 cuadros en los que está dividida la placa, se multiplica x 20 (número de cuadros de la placa) y el resultado se multiplica por el inverso de la dilución

Ejemplo: Tenemos un recuento de colonias muy elevado como para contar toda la placa, pero la distribución de las colonias es homogénea, con lo cual podemos contar uno solo de los 20 recuadros en los que viene dividida la placa. Supongamos que el conteo de este recuadro nos da 57 colonias, multiplicamos por 20 que es el número total de recuadros de la placa y este resultado lo multiplicamos por el inverso de la dilución, como en este caso utilizamos la dilución 10^{-2} multiplicaríamos por 100. $57 \times 20 \times 100 = 114.000$ UFC/ml.



8.3. Anexo 3. Protocolo para análisis de residuos de antibióticos

Prueba DELVOTEST

Este kit nos ayuda a detectar residuos de antibióticos en la leche.

Procedimiento en campo

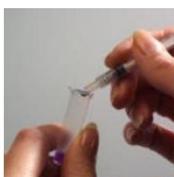
Identifique la muestra, use un control positivo y uno negativo cada vez que se corra un juego de muestras.

Dependiendo del número de muestras a correr, tome el suficiente número de platos multi-tubos o corte con tijeras el número de tubos necesarios.

Evite dañar la cubierta de aluminio de los tubos que no vaya a utilizar.



Abra el tubo haciendo presión con la punta de la jeringa. Marque el tubo con la identificación de la muestra.



Empate una punta estéril en la jeringa, hunda el émbolo completamente. Sumerja la punta en la muestra de leche y permita al émbolo regresar lentamente bajo la presión del resorte.



Vacíe lentamente el contenido de la jeringa en el tubo correspondientemente marcado. Use una punta estéril por cada muestra.



Chequee la temperatura de la incubadora (64°C). Coloque los tubos en la incubadora. Registre la hora de comienzo y coloque el timer para 3 horas.

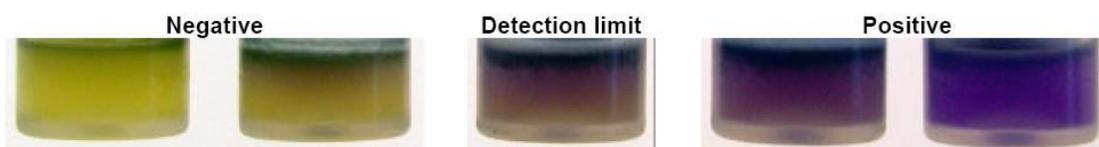


Después del tiempo requerido de incubación, lea el resultado en los 2/3 inferiores del agar sólido contenido en el tubo.

Color amarillo significa residuos NO ENCONTRADOS y color púrpura significa PRESUNTO POSITIVO.



Colores de Lectura del DELVOTEST.



8.4. Anexo 4. Protocolo para la prueba Mastitis California Test (CMT)

Equipo

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



Procedimiento

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



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



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



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



Lectura de Test Mastitis California CMT:

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



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



2 + = Positivo Evidente (*Infectado*). Inmediato espesamiento de la mezcla con ligera formación de gel. Mientras la mezcla se agita, esta se mueve hacia el centro de la copa, exponiendo el fondo del borde externo. Cuando el movimiento se detiene, la mezcla se nivela y cubre todo el fondo de la copa.



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



La raqueta debe lavarse después de cada prueba.



Infección clínica (Mastitis clínica)



8.5 ANEXO 5. Protocolo para cultivo bacteriológico de leches

Cultivo bacteriológico

Se utilizó para identificar las bacterias que estaban presentes en la leche de tanque de los 13 hatos.

Se siembran las muestras en medio de cultivo:

- Agar sangre y Azida suplementados con sangre de carnero al 5%, se incuban de 24 a 48 horas a 37°C en atmosfera controlada de CO₂ al 5%
- Agar MacConkey se incubaba a 37°C por un periodo entre 24 – 48 horas
- Agar sabouraud se incubaba a 37°C por 5 días.

La lectura se hace macroscópica y microscópica

Luego se hace coloración de Gram:

Si son Cocos gram (+) se les hace catalasa y si son:

- - Staphylococcus spp se les hace Coagulasa DNAsa, Manitol, Novobiacina y Urea.
- + Streptococcus spp se les hace CAMP, Hidrolisis Esculina, Crecimiento NaCl 6.5%, Resistencia a la Bacitracina

Si son Bacilos gram (+) se les hace Metodo BBL Crystal

Si son Bacilos gram (-) se les hace oxidasa:

- - Simmons citrato: TSI, LIA, SIM, Urea
- + Metodo BBL Crystal

A todos se les hizo antibiograma