

## CAPÍTULO 11

# CALIDAD HIGIÉNICA Y SANITARIA DE LA LECHE CRUDA

*Blanca Cecilia Gaviria, Bact.*

Laboratorio Médico Veterinario LMV Ltda. (gerencia@lmvlt.com)

### INTRODUCCIÓN

La calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda define los parámetros de inocuidad, salubridad y durabilidad de la leche pasteurizada, y de todos los derivados lácteos. Por esto se puede afirmar que ningún proceso mejora la calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda, una vez extraída de la glándula; lo único que puede lograrse es conservarla y prolongarla en el tiempo.

Los recuentos de bacterias mesófilas aerobias y de células somáticas, son los indicadores universales, en leche cruda, para evaluar la calidad higiénica y sanitaria; a menores recuentos, mayor calidad.

### 1. CALIDAD HIGIÉNICA

La calidad higiénica se traduce en la calidad bacteriológica, y se evalúa por el recuento de bacterias mesófilas aerobias (RMA) también conocido como recuento estándar en placa (SPC) e, internacionalmente, se acepta que debe ser inferior a 100.000 UFC/ml, aunque los procesadores quieren y bonifican recuentos inferiores a 30.000 UFC/ml.

Las distintas fuentes de contaminación de la leche al momento del ordeño y las condiciones de tiempo y temperatura de almacenamiento, antes de llegar a la planta de recepción, definen el número de bacterias / mL, que en este momento se convierte en la población inicial para todos los procesos industriales a que se destine esta materia prima. Si se acepta que un buen proceso de pasteurización produce la muerte de un 99% de las bacterias, en una leche que ingresa al pasteurizador con 100.000 UFC/mL, sobrevivirán 1.000, pero si ingresa con 10.000.000 UFC/ml, permanecerán viables más de 100.000, bacterias las cuales determinarán las diferencias existentes en los tiempos de duración en el mostrador.

Se consideran fuentes de contaminación de la leche cruda, las siguientes:

- **Ubre sana:** Por su comunicación con el exterior, la glándula mamaria puede aportar un reducido número de bacterias, representado principalmente por especies de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Micrococcus*, en un número que no supera las 1.000 UFC/mL. Normalmente, estas bacterias se localizan en la cisterna del pezón y son eliminadas con los pri-

meros chorros de leche. Por esto, en una buena rutina de ordeño, el descarte y observación de los primeros chorros de leche debe ser una práctica constante que, además, ayuda a la estimulación de la vaca y al diagnóstico de casos clínicos de mastitis.

- **Ubre con mastitis:** Todo proceso infeccioso de la glándula mamaria genera un aumento en el número de bacterias en la leche. Las infecciones por *Streptococcus sp*, por su localización canalicular, aportan más bacterias que las producidas por *Staphylococcus sp*, debido a su ubicación interalveolar. Se estima que la leche de un cuarto afectado por mastitis, y mezclada con la de 99 cuartos sanos, puede alcanzar un recuento hasta de 100.000 UFC/mL.

Desde el punto de vista del metabolismo bacteriano estas dos clases de contaminación aportan bacterias típicamente mesófilas que no modifican los otros análisis bacteriológicos.

- **Contaminación ambiental:** Es la fuente de contaminación más importante de la leche, tanto por el número como por la variedad de microorganismos que pueden ingresar durante el ordeño, provenientes de la piel de los pezones, manos y/o pezoneras; también, por las que están localizadas en: agua, suelo y, en general, de todo el entorno del ordeño. Por esta vía ingresan bacterias entéricas, psicotrofas, mesófilas, termófilas, formas esporuladas, mohos y levaduras, en números variables dependiendo de la higiene del ordeño.

El control de esta contaminación se logra, con pezones limpios, desinfectados y secos; con manos y o equipos limpios, hasta el punto de poder entregar leche con menos de 10.000 UFC/ml, como ya se ha logrado en algunos hatos de nuestro medio.

Cualquier error u omisión en el seguimiento de la rutina de ordeño es suficiente para que el recuento se incremente súbitamente sobre el promedio de la finca.

- **Contaminación por recipientes:** Los baldes, las cantinas y los equipos de ordeño mal lavados, y deficientemente desinfectados, aportan números variables de bacterias provenientes de las anteriores fuentes de contaminación o del agua usada en el lavado. Sobreviven a los procesos de lavado y desinfección,

principalmente las bacterias termodúricas, por su mayor resistencia a la temperatura y a los desinfectantes. Por esta misma razón este grupo bacteriológico es usado como indicador de las prácticas de limpieza de los equipos y recipientes.

## 2. TIEMPO Y TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO Y TRASPORTE

Una vez concluido el ordeño, el número de bacterias por mL presente se convierte en el número inicial de bacterias para la fase de almacenamiento y transporte hacia la planta, donde la velocidad de multiplicación de las bacterias estará regida por sus características metabólicas y la temperatura de la leche. Cuando el enfriamiento es óptimo (3 a 5°C), se inhibe un alto porcentaje de las bacterias psicotrofas que, tendrían una muy buena posibilidad de multiplicación de otra manera entre 7 y 10°C. A partir de 20°C prácticamente cualquier especie bacteriana encuentra condiciones óptimas de crecimiento, en un medio tan balanceado como es la leche.

Ensayos hechos en Colombia, con leches provenientes de hatos de doble propósito de la zona cálida, y de la sabana de Bogotá con ganadería especializada tipo Holstein, se encontraron diferencias en las velocidades de crecimiento, expresadas como tiempo de generación frente a la temperatura de almacenamiento, como se indica en la tabla siguiente:

Tabla 1. Tiempos de generación según temperatura de almacenamiento

PROCEDENCIA	TEMPERATURA			
	3°C	10°C	20°C	30°C
Sabana	10 h 30 m	3 h 50 m	47 m	29 m
Clima Cálido	15 h 20m	5 h 50 m	55 m	31 m

Las diferencias significativas en los tiempos de generación a 3 y 10°C, se pueden explicar por la concentración de protectores naturales como lactoferrina y lactoperoxidasa, que dependen en buena parte de la producción vaca/ día, y de la mayor presencia de bacterias Psicotrofas en el ambiente de los hatos de la Sabana de Bogotá (promedio 18°C), comparada con los de clima cálido (promedio 30°C)

### 3. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS DE LA LECHE CRUDA

En la leche cruda se pueden investigar diferentes tipos de microorganismos, que permiten obtener información sobre la magnitud de la contaminación y la fuente más probable de la misma.

**Recuento de Mesófilos Aerobios (RMA).** Indica el grado de contaminación total de la leche cruda, sin capacidad para diferenciar cuál es su origen. Como indicador universal de la calidad bacteriológica de la leche, se utilizan los criterios de aceptación, rechazo o bonificación, y permanentemente se promueve que ese recuento sea más bajo.

**Recuento de Coliformes Totales.** Estos microorganismos tienen origen en la contaminación directa, o indirecta con materia fecal. Idealmente, debe ser menor de 100 UFC/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 de riesgo, que inciden en los recuentos altos, están relacionados con el sistema de alojamiento de los animales, calidad del lavado y desinfección de equipos, presencia de fango en corrales y camellones, y características microbiológicas del agua de lavado.

**Recuento de Bacterias Termodúricas.** Algunas especies de los géneros *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* y *Clostridium* tienen la propiedad de resistir temperaturas entre 65 y 90°C, y muestran una mayor resistencia a los desinfectantes; por esto, se consideran como los indicadores del proceso de limpieza y desinfección de los equipos de ordeño y recipientes. Proviene del agua de lavado, del suelo, o contenido intestinal; su número se ve incrementado por colonización en la piel erosionada de los pezones y en las superficies de caucho rugosas. Se consideran normales los recuentos menores de 100 UFC/mL; cuando este número es sobrepasado, se requiere revisar las condiciones de lavado y desinfección de los equipos, como también el estado de pezoneras y tubos de caucho.

**Recuento de Preincubados (PIC).** Algunas especies Mesofílicas de los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium* y *Alcaligenes* tienen la capacidad de comportarse como Psicrotrofos al multiplicarse entre 7 y 15°C. Por su metabolismo proteolítico ocasionan cam-

bios en el sabor y la consistencia de la leche y derivados. Estas bacterias se utilizan como indicadores de la durabilidad de los productos en el mostrador.

Para su reconocimiento en el laboratorio se hace inicialmente un RMA, y la muestra se mantiene a 13°C por 18 horas, al cabo de las cuales se repite el RMA. Si la relación PIC/RMA es mayor de 3, se considera que hay un número alto de bacterias Psicrotrofas en la leche y se debe revisar, en primera instancia, la calidad del frío (3 a 5°C), y su aplicación oportuna después de terminado el ordeño.

En las fincas que hacen ordeño en potrero y enfriamiento en un punto fijo se observan problemas con este grupo indicador y esto tiene las siguientes explicaciones:

- Un tanque de enfriamiento cumple sus objetivos por expansión del frío, a partir de una placa difusora, ubicada en el fondo del mismo; por esto, la mayor eficiencia se logra cuando leche caliente va entrando en forma continua a medida que se hace el ordeño. Cuando existe este sistema, y el tanque funciona correctamente, el compresor se apaga casi tan rápido como finaliza el ordeño. Estas condiciones no se dan, cuando toda la leche ingresa al tiempo, y el compresor debe funcionar varias horas para alcanzar los 3 a 5°C.
- Cuando el ordeño dura dos o más horas, la leche de las primeras vacas permanecerá como leche caliente (30°C ó más), permitiendo un número alto de generaciones de bacterias, hasta el momento en que se logre el enfriamiento.

Cuando se presentan estas situaciones en una finca, se recomienda hacer envíos parciales de leche a medida que se cumple el ordeño, con intervalos no mayores de 45 minutos.

Un análisis bacteriológico completo de la leche puede dar la información necesaria para definir la fuente de contaminación y para tomar los correctivos necesarios. En la tabla No 2, se expresan las causas más probables, y hacia donde dirigir las acciones de control.

### 4. METODOS DE LABORATORIO

Al revisar las metodologías existentes para el análisis bacteriológico de la leche, se encuentran pequeñas diferencias entre las recomendadas por los organismos internacionales y los nacionales. En forma resumida se men-

Tabla 2. Análisis bacteriológicos y su relación con la posible fuente de contaminación de la leche cruda.

TIPO DE RECUENTO	FUENTE DE CONTAMINACION				
	LECHE SANA	MASTITIS	LECHE SUCIA	EQUIPO SUCIO	ENFRIAMIENTO DEFICIENTE
Rto. RVA 10 - 100.000	Probable	Poco probable	Probable	Probable	Probable
Rto. RVA >100.000	No	Probable	Muy probable	Muy probable	Muy probable
Termodúricos >200	No	No	Probable	Muy probable	No
Rto. FC > 3 RVA	No	No	Probable	Muy probable	Muy probable
Rto. RVA < 3 FC	No	Muy probable	No	Poco probable	No
Coliformes > 100	No	?	Muy probable	Probable	No
Rto. Células Somáticas	<100.000	>250.000	No	No	No

cionan los procedimientos descritos en el “Standard Methods for the examination of Dairy Products” de la American Public Health Association, 16th Edition.

## 5. TECNICA DE RECUENTO EN PLACA

Se aplica como un procedimiento para determinar el recuento de: Mesófilos Aerobios, cuando las cajas se incuban a  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ ; Psicrotrofos, con incubación a  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ ; Termodúricos, si la muestra ha sido previamente pasteurizada en el laboratorio a  $62.8^\circ\text{C}$  por 30 minutos; y termofilicos, si se incuba a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ . En todos los casos, el medio de cultivo utilizado es Agar Plate Count, que se prepara y se mantiene de acuerdo con las instrucciones del productor. Preparar diluciones seriadas en base 10, desde  $10^{-1}$  (90 diluyente + 10 muestra) hasta la dilución que se considere adecuada, para tener cajas que puedan contarse entre 25 y 250 colonias.

Transferir un ml de cada dilución a sembrar, por duplicado, en cajas de Petri de 90-100 mm; agregar 10 a 15 ml de Agar Plate Count estéril y mantenido a  $45^\circ\text{C}$ ; homogenizar correctamente. Para evitar la diseminación de las colonias que crecen en la superficie se debe adicionar una delgada capa de agar.

La temperatura de incubación, para los diferentes agentes es como sigue:

- Mesófilos aerobios  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 48  $\pm$  3 horas
- Psicrotrofos  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 7 a 10 días
- Termófilos  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 48  $\pm$  3 horas en cámara húmeda
- Termodúricos  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 48  $\pm$  3 horas
- Preincubados  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 48  $\pm$  3 horas
- Reporte de Resultados. Seleccionar y contar las cajas de las diluciones que tengan entre 25 y 250 colonias.

Reportar los resultados utilizando el promedio obtenido en las dos cajas, multiplicado por el exponente de la dilución contada.

## Métodos alternos para los recuentos de bacterias

- Recuento con asa calibrada de 0.001 ml. Utilizando placas de Agar Plate Count.
- Recuento de placas Petrifilm®. Reemplaza, y sigue la misma metodología del recuento en placa.
- Recuento en placa en espiral. Utiliza el mismo medio de cultivo y se hace y se lee de acuerdo con las instrucciones del fabricante del equipo “Spiral Systems Instruments Inc.”.
- Recuento con placas hidrofóbicas. Se usa de acuerdo con las instrucciones del fabricante ISO – GRID (QA Life Science Inc.).
- Recuento por impedancia/conductancia. Fundamentado en los cambios de conductividad que genera la actividad metabólica de los microorganismos durante su multiplicación. Requiere de equipos específicos, como el Bactometer Microbiological monitoring system (Biomérieux®).
- Recuento automatizado con células teñidas con Bromuro de etidio. Las bacterias se cuantifican bajo luz fluorescente, utilizando equipos como Bactoscan®. Este sistema, a diferencia de los anteriores, cuantifica células vivas y muertas, y sólo se puede aplicar a leche cruda.

## 6. RECUENTO DE COLIFORMES

Distintas alternativas se pueden aplicar, para conocer la población de Coliformes totales y de *E. coli* en leche.

- Recuento de Coliformes Totales en medio sólido: Se aplica la técnica de recuento en placa, usando Agar Violeta Rojo Neutro Bilis Lactosa (VRB) como medio de cultivo, con incubación a  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , por  $24 \pm 2$  horas. Se deben contar colonias de color rojo con diámetro superior a 0.5 mm.
- Recuento en medio líquido: Aplicando la técnica de Número Más Probable (NMP), utilizando series de 3 ó 5 tubos con Caldo Lauril Sulfato. En el caso de leche cruda, se siembran las diluciones de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ; cuando se usa la serie de 3 tubos, el NMP estará en un rango de  $< 3$  hasta más de 1.100/ mL, y en la serie de 5 tubos, estará entre  $< 2$  hasta 1.600 por mL.
- Recuento en Agar VRB más MUG: Con la incorporación del sustrato fluorógeno 4 metil umbeliferil  $\beta$  D glucurónido, que permite la detección de la enzima glucuronidasa producida en forma específica por la mayoría de cepas de *E. coli*, se originan colonias que fluorescen cuando se exponen a la luz ultravioleta (366 nm). En este medio, las colonias rojas a la luz visible se interpretan como recuento de Coliformes Totales, y las fluorescentes como recuento de *E. coli*.
- Recuento con placas Petrifilm® para *E. coli*/ Coliformes: Sobre la base del medio VRB que contiene el sustrato cromógeno 5 Bromo, 4 Cloro, 3 Indolil  $\beta$  D glucurónido, que permite la detección de la enzima glucuronidasa, gracias al color azul de las colonias. La suma de colonias rojas y azules corresponde al recuento total de coliformes, y las últimas a *E. coli* en particular.

#### OTROS PROCEDIMIENTOS PARA EVALUAR LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA.

También se usan las pruebas de alcohol y tiempo de reducción del azul de metileno, TRAM. Su utilización se encuentra cuestionada por la baja sensibilidad y especificidad, ambas se emplean en algunas plantas, o regiones del país, y el TRAM se usacomó criterio para bonificar la calidad bacteriológica de la leche.

**Prueba de alcohol:** Tiene como principio, la pérdida de la estabilidad de las proteínas de la leche en medio ácido, frente al alcohol etílico de  $68^\circ$ . La acidez es producto de las distintas rutas metabólicas que hacen las bacterias en

la leche durante las fermentaciones: homoláctica, heteroláctica, ácido mixta, ó acetoácida, que incrementan la acidez titulable, desde 0.12%; cuando supera 0.18%, la prueba de alcohol es positiva. En ese momento también se presentan cambios organolépticos y de coagulación, a la ebullición de la leche, y el recuento RMA puede superar los 20 millones de bacterias por mL.

En el país, cada día es más frecuente la presentación de falsos positivos a la prueba de alcohol, originados en trastornos metabólicos de las vacas. El síndrome de leche alterada (SILA) es el más estudiado por el grupo de investigadores cubanos, liderado por el Dr Pastor Ponce; ellos han definido los parámetros fisicoquímicos y los factores de riesgo asociados al manejo y nutrición de las vacas.

En el fenómeno SILA, la leche recién ordeñada tiene una acidez titulable cercana al 0.12%, las proteínas menos del 2.8%, la grasa máximo 3%, estabilidad a la ebullición, y no se perciben cambios en el olor o el sabor.

Los factores de manejo asociados, son: alta producción de leche por animal, condición corporal menos de 2.5, alimentación con forrajes muy altos en fibra y bajos en proteína, con valores de nitrógeno ureico en sangre, BUN, inferiores a 14 mg/mL.

Este síndrome se ha observado en nuestro medio al final de los veranos largos, o después de las heladas. Sin embargo, casos de leche alcohol positiva y acidez normal se han encontrado en la otra orilla de la nutrición; es decir, con dietas muy altas en proteína y bajas en fibra, asociadas a los máximos picos de producción en pastoreo, con forrajes de menos de 40 días de rotación y más del 20% de proteína, producto de programas intensos de fertilización. Las vacas, casi siempre, presentan acidosis ruminal, baja condición corporal, diarrea persistente y valores de BUN superiores a 22 mg/dl. Al examen físico químico de la leche, se han encontrado valores bajos en proteína y grasa, y pérdida de la estabilidad al calor, como sucede cuando se usa para ultra pasteurización.

**Tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM):** Es un recuento metabólico, aprovechando la capacidad reductora de algunas especies de bacterias sobre el azul de metileno; produce su decoloración en un tiempo inversamente proporcional al número de bacterias en la muestra. Este fue un procedimiento muy usado para evaluar la calidad bacteriológica de la leche hasta la década

de los años sesenta, cuando fue reemplazado por el RMA, debido a los múltiples factores que no garantizan su adecuada correlación. El primer factor, quizá el más importante, es que no todas las bacterias tienen la misma actividad reductora sobre el azul de metileno. Los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* y *Staphylococcus* tienen una mayor capacidad reductora, comparativamente con Enterobacterias y *Pseudomonas*.

Estas variaciones fueron comprobadas, en nuestro medio, en la investigación de Blanca Cecilia Gaviria y Col., donde se reportan amplias diferencias en la población de bacterias en leches de la sabana de Bogotá, en comparación con la información internacional.

**Tabla 3.** Número de Mesófilos Aerobios estudiados con el TRAM, en la literatura universal y en Colombia

TRAM (en minutos)	NUMERO ESPERADO DE BACTERIAS/ml	
	Según Literatura Internacional	Según Información Nacional
Menos 30	$> 20 \times 10^6$	$> 50 \times 10^7$
30-120	$40 \times 10^5 - 20 \times 10^6$	$25 \times 10^6 - 50 \times 10^7$
121-360	$50 \times 10^4 - 4 \times 10^5$	$20 \times 10^5 - 25 \times 10^6$
Más 360	$< 500.000$	$< 1.700.000$

La diferencia entre los valores de la tabla internacionales y los encontrados en el país es tan alta, que en nuestro medio las leches con 9 ó más horas de TRAM, tienen en promedio 810.880 bacterias / mL. Cuando se relacionan estos hallazgos con las condiciones de higiene del ordeño, se ve cómo las leches obtenidas con una buena rutina de ordeño, tienen valores de TRAM cercanos a la tabla internacional; a diferencia de los ordeños poco higiénicos, donde hay un importante aporte de bacterias Gram negativas de baja capacidad reductora.

También afectan la correlación del TRAM con el recuento, la presencia de sustancias inhibitorias del crecimiento bacteriano, como: antibióticos, desinfectantes, adulterantes como el formol, o agua oxigenada, y aún calostros ricos en anticuerpos.

## 7. CALIDAD SANITARIA

Comparando la glándula mamaria sana con la afectada de mastitis, esta última produce menos leche, con porcentajes inferiores de proteínas, grasa y calcio, esto disminuye los rendimientos industriales, altera el proceso de coagulación y acorta la duración de la leche pasteurizada y los derivados lácteos en el mostrador.

Algunas de las bacterias responsables de la mastitis, son igualmente consideradas patógenas para el consumidor; por tanto se pierde el calificativo de "producto inocuo", que debe caracterizar a la leche y sus derivados, especialmente cuando se suministra a los segmentos de población más susceptibles, como lactantes y ancianos.

El indicador universal de la **calidad sanitaria de la leche**, y al mismo tiempo del porcentaje de cuartos afectados de mastitis en el hato, es el Recuento de Células Somáticas (RCS).

La glándula mamaria sana tiene un RCS inferior a 100.000 células/ml, distribuidos en: 60 a 70% de macrófagos, 10 a 15% de neutrófilos, 10 a 20% de linfocitos, y 2 a 5% de células epiteliales. Cuando se produce infección, aumenta el número total de células somáticas; se considera que recuentos superiores a 500.000 / ml son indicativos de mastitis, y el recuento pueden llegar a varios millones, dependiendo de la intensidad de la infección. Además del incremento en el número total, hay inversión en la relación macrófagos / neutrófilos. Los polimorfonucleares pueden alcanzar el 75 % ó más.

Los efectos negativos de la mastitis se evidencian a lo largo de toda la cadena de producción, y se distribuyen así:

**Pérdidas para el productor.** La mastitis es considerada la enfermedad más costosa del hato lechero, aún en los países que tienen establecidas políticas de control, y donde el promedio nacional de células somáticas está alrededor de 300.000/ml. Por ejemplo, en Estados Unidos con un promedio de 322.000 células/ml estiman pérdidas de U\$ 105 por vaca/lactancia, de los cuales el 70% se atribuye a disminución de la producción.

El RCS en la leche del tanque, es considerado como el mejor indicador del porcentaje de disminución de la producción, y de cuartos afectados de mastitis; se acepta que un hato que produce leche con 200.000 células somáticas o menos, está en un punto donde las pérdidas por disminución no son significativas, y el porcentaje de cuartos con mastitis puede estar entre el 3 y 5%.

Todas las publicaciones muestran una relación directa entre el RCS y el porcentaje de disminución en la producción, estimándose que a partir de 200.000 células/ml el incremento de cada 100.000 representa un 2.5% menos de leche.

Un ejemplo nacional es la tesis de Claudia Barrero 1999, donde 1.100 proveedores de leche en la Sabana de Bogotá, que entregaron 621.714 litros con un RCS en promedio de 637.000, al cual se le puede asignar una disminución del 12%, dejaron de vender 87.000 litros diarios, que al precio de hoy, de \$ 750, representan \$ 65.000.000/día, para un pérdida anual cercana a los \$24.000 millones, que sumados al otro 30 % de las pérdidas, dará una cifra total de \$34.000 millones.

Como las fincas muestreadas en esta evaluación, tenían ordeños mecánicos, o manuales que cumplían con rutinas aceptables, es muy probable que el promedio nacional de RCS sea superior. Asumiendo simplemente el 12% de pérdidas, sobre los 16.000 millones de litros, se estarían dejando de producir 2.200.000 litros al día, como consecuencia de la mastitis.

**Pérdidas para el productor y/o procesador.** Dependiendo del esquema de precios que se tenga, las pérdidas ocasionadas por mastitis, debido a los bajos rendimientos industriales, son asumidas por el productor o por el procesador.

A partir de 200.000 células somáticas / ml, el porcentaje de proteína y la relación caseína / proteína disminuyen a medida que aumenta el RCS; lo mismo sucede con los niveles de grasa y las concentraciones de calcio, dando como consecuencia un menor rendimiento industrial y un mayor tiempo de coagulación, por la deficiencia de calcio. Se estima que una leche con RCS de 650.000 produce 3.1% menos cuajada que una con 200.000 células.

Estos cambios se originan en la incapacidad de los alvéolos afectados de producir leche con todas sus características, en el incremento de albúminas y globulinas que aparecen en la leche por pérdida de la permeabilidad capilar, y por la alteración en la concentración de bicarbonatos que reaccionan con el calcio.

En el trabajo de Yadira Ortiz, realizado en el 2003, en Antioquia, comparando los niveles de proteínas de cuartos sanos (menos de 250.000 RCS) con los cuartos enfrentados, afectados de mastitis (> 400.000 RCS) en las mismas vacas, los cuartos sanos produjeron 2.8 grs. más de proteínas totales por litro, que los que tenían un promedio de RCS de 1.800.000. Las cantidades de lactoalbúmina para los grupos, pasaron de 3.14 a 3.51 g/l, y la caseína total descendió de 20.43 a 18.46 g/l, respectivamente.

**Pérdidas para el procesador y/o consumidor.** Dependiendo del momento en que se altera la leche pasteurizada, o sus derivados, por la disminución de la vida media en el mostrador, la cual es inversamente proporcional al RCS de la leche cruda utilizada como materia prima, perderá el procesador o el consumidor.

La leche pasteurizada y sus derivados se alteran por efecto bacteriológico directo de las bacterias que sobreviven el proceso térmico, o por acción enzimática de proteasas, plasminasas y lipasas, que llegan a la leche como mecanismo de defensa de la glándula mamaria cuando es colonizada por bacterias patógenas, y por las enzimas que liberan los neutrófilos cuando se lisan por calentamiento. Estas mismas enzimas son producidas por bacterias, pero las originadas en el tejido y en los macrófagos son termo-estables, y actuarán durante el periodo de almacenamiento del producto, descomponiendo las fracciones proteicas y lipídicas.

El mejor ejemplo de esta situación se ha visto con los productos ultra pasteurizados, elaborados con leches crudas con alto RCS, que cumplen con todos los estándares microbiológicos, pero durante su almacenamiento se alteran sin producción de gas; más aún, manteniendo los recuentos de bacterias dentro de los parámetros aceptados.

**Pérdidas para el consumidor.** La leche pasteurizada y los derivados lácteos producidos con altos RCS, tienen un menor valor nutritivo por los bajos porcentajes de proteína, grasa y calcio. A esta pérdida nutricional para el consumidor, se suma el riesgo potencial de enfermedades causadas por los mismos agentes infecciosos, que ocasionan la mastitis.

## 8. TECNICAS DE RECUENTO DE CELULAS SOMÁTICAS

Existen diferentes metodologías para realizar el RCS en leche cruda, y todas tienen como técnica de comparación el recuento microscópico directo, que gana precisión y reproducibilidad con el entrenamiento y destreza del analista que lo realice.

**Recuento Microscópico.** Para este recuento, se requiere conocer el factor microscópico (FM) en objetivo 100X del microscopio a utilizar, disponer de láminas con áreas demarcadas de un cm<sup>2</sup> y de pipetas, o asas calibradas que dispensen 0.01 mL.

Para calcular el FM es necesario medir el diámetro del campo del microscopio con la ayuda de una lámina graduada en micras, y aplicar la siguiente fórmula:

$$FM = \frac{\text{Área del extendido (1 cm}^2\text{)}}{\text{Área del campo microscópico} \times \text{volumen examinado (0.01 mL)}}$$

Por ejemplo, un microscopio con un campo de aumento 100X, de 200 micras de diámetro, tiene:

$$FM = \frac{100.000.000 \text{ micras}^2}{3.1416 \times (100)^2 \times 0.01 \text{ mL}} = 318.400$$

Si el diámetro es de 140 micras, el FM es de 650.000, y para uno de 180 micras, el FM es 393.000.

Procedimiento:

- Homogenizar correctamente la muestra por agitación.
- En una lámina portaobjeto, colocada sobre una plantilla que demarque 5 áreas de 1 cm<sup>2</sup> (círculos de 11.6 mm de diámetro) dispensar 0.01 ml de la muestra, con la ayuda de la pipeta, o el asa calibrada.
- Extender el volumen de leche en forma uniforme en el área de 1 cm<sup>2</sup>.
- Fijar la lámina con aire caliente, y lavar 3 ó 4 veces con Xilol, para desengrasar.
- Cuando la lámina esté seca, colorear con azul de metileno al 1%, por un minuto.
- Lavar, secar y observar la lámina en objetivo 100X
- Contar el número de células en 20 campos, como mínimo, y multiplicar el promedio de células por campo por el FM del microscopio.
- Expresar el resultado en células por ml.

## BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA Y RECOMENDADA

- Acuerdo de Competitividad de la cadena láctea. 1998
- American Public Health Association. Standard Methods for the Examination Of Dairy Products. 16<sup>a</sup> Edición. 1992
- American Dairy Science Association. Mastitis. Control and Milk Quality. A Scientific Reader. 2002
- National Mastitis Council. Annual Meeting Proceedings National. No. 35, 36,37,38,39,40,41,42 y 43. 1996 a 2004.
- American Mastitis Council. Second International Symposium on Mastitis and Milk Quality. 2001
- Ortiz Yadira. Análisis de la Relación del Recuento de Células Somáticas con el Proteína Total, Caseínas, Albúmina y Lacto globulinas en leche de ganado holstein en fincas del altiplano norte y oriente de Antioquia. Tesis de Grado Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional. 2003.
- Philpot WN and Nickerson S. 2000. Ganado la Lucha contra la Mastitis. Publicado por Westfalia Surge Inc.
- The Veterinary Clinics of North America. Symposium on Bovine mastitis Julio 1984
- The Veterinary Clinics of North America. Update on Bovine Mastitis November 1993
- American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4<sup>a</sup> Edition. 2001
- The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice. Mastitis. Marzo 2003