



**SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN SUPERIOR
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ**



INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

INGENIERÍA BIOQUÍMICA

PRESENTA:
JOSUÉ MARTÍN RIVERA CHÁVEZ

NOMBRE DEL PROYECTO:
**CONTROL DE CALIDAD EN LECHE FRESCA MEDIANTE
COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE
PRESENCIA DE BETA LACTÁMICOS Y CONTEO DE
CÉLULAS SOMÁTICAS EN LICONSA S.A. de C.V.**

PERIODO DE REALIZACIÓN:
AGOSTO-DICIEMBRE 2018

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	4
Objetivo General.....	4
Objetivos Específicos	4
MARCO TEORICO	5
La leche.....	5
Propiedades fisicoquímicas de la leche cruda.....	8
Calidad de la leche fresca	9
Factores que influyen sobre la producción y composición de la leche.....	10
Factores fisiológicos:.....	10
Factores alimenticios:.....	11
Factores genéticos:	11
Factores relativos al ambiente:	11
Anatomía de la glándula mamaria	11
Características de los microorganismos asociados a la leche	13
Factores de defensa celular y humoral de la leche.....	14
Células somáticas.....	15
Leucocitos neutrófilos polimorfonucleares.....	17
Linfocitos	17
Función de las células somáticas.....	18
Recuento de células somáticas	19
Causas de un recuento celular somático elevado	20
Antibióticos.....	21
Acción farmacológica	21
Penicilina.....	22
Estreptomina.....	23
Eritromicina.....	24
Producción de Penicilina, Eritromicina y Estreptomina	24
Combinación de antibióticos.....	25
Detección de antibióticos	25
Tratamientos.....	28
Consecuencias	28
Leche con antibióticos.....	29

Mastitis.....	29
Fase de lactancia.....	32
Lesiones en la glándula mamaria	32
Variación fisiológica	33
Variaciones diarias y de temporada	33
Frecuencia de ordeña.....	33
Estrés	33
Cantidad de cuartos o vacas afectadas	34
Recuento de células somáticas a nivel de hato	34
Usos del conteo de células somáticas a nivel hato.....	36
Recuento de células somáticas de una vaca individual.....	36
Métodos para realizar el conteo de células somáticas	37
Observación de la leche y de la glándula mamaria y palpación de la glándula	37
Pruebas físicas	38
Pruebas químicas.....	39
Pruebas biológicas.....	40
Monitoreo del conteo de células somáticas	42
Métodos de conteo celular electrónico	42
Pruebas bacteriológicas.....	45
Control de recuento de células somáticas	45
Pruebas realizadas.....	46
Investigación de la presencia de beta lactámicos en leche cruda.....	46
Prueba de determinación de células somáticas	47
METODOLOGÍA.....	48
Detección de beta lactámicos en leche cruda DELVOTEST-SP-NT	48
Material y Equipo.....	48
Reactivos	48
Preparación del kit y muestra	49
Procedimiento.....	50
Expresión de resultados:.....	53
Criterios de aceptación	54
Determinación de células somáticas	55
Material y Equipo.....	55
Procedimiento.....	56

Precauciones.....	57
RESULTADOS	59
DISCUSION DE RESULTADOS.....	61
CONCLUSIONES.....	62
BIBLIOGRAFÍA	63

INTRODUCCIÓN

La empresa denominada Liconsa S.A. de C.V. se ha dedicado a la producción de leche, a fin de alcanzar un objetivo; lograr que la población de bajos recursos económicos disponga de manera accesible a un alimento que cubra buena parte de sus necesidades nutrimentales. Es bien conocido que la leche es básica en la alimentación humana; y es por ello que la empresa, contando con personas emprendedoras, se dedica a colaborar constantemente a la producción de leche fortificada, preocupándose por siempre mantener la calidad del alimento y de esta manera lograr introducirse en un nicho importante en la industria láctea. Debido a esta máxima, se realizan los más rigurosos análisis para garantizar la seguridad de este alimento tan importante.

La leche destinada a la alimentación humana, es un producto íntegro obtenido del ordeño total e ininterrumpido de una hembra lactante con buena salud, bien alimentada y no agotada, cumpliendo con una recolección higiénica y eficiente, y que no contenga calostro (Charles, 2001). Entre los componentes principales en la leche se encuentran: agua, la cual se encuentra en mayor proporción; materia grasa, lactosa (el cual es el principal carbohidrato en la leche), compuestos nitrogenados y sales diversas. El ser humano busca productos derivados de la leche que sean agradables al gusto y aroma, además de que pueda proporcionarle una buena parte de su suministro alimenticio y nutrimental a lo largo de su vida.

La leche es el producto de la glándula mamaria, la cual se sintetiza en el tejido secretor interno en las mamas de las vacas. La leche que ha de ser utilizada para la elaboración de productos lácteos debe estar en las mejores condiciones y apta para el consumo humano. Cuando llega a suscitarse un problema en la leche, puede ser consecuencia de microorganismos patógenos presentes en el organismo de la vaca, específicamente, de la ubre.

Una de las enfermedades más frecuentes causadas por este tipo de microorganismos es la denominada Mastitis, la cual consiste en la inflamación de la ubre de las vacas; la causa más habitual de esta enfermedad se debe a una infección

bacteriana, aunque existen también otros factores causantes como son las malas prácticas de ordeño y el tipo de estabulación (acomodo en establos) también puede predisponer a los animales a infecciones. La mastitis puede presentarse de manera clínica; esto es, de forma visible, donde se observa una disminución en el rendimiento lechero, pudiendo llegar a la pérdida permanente de la producción láctea de la ubre afectada e inclusive orillando a la muerte del animal. La leche que contiene una carga considerable de microorganismos puede ser muy dañina para el consumidor.

Una de los métodos utilizados para la eliminación de este problema es la administración de antibióticos en la vaca, lo cual provoca ciertamente la disminución de carga microbiana en la leche; aunque causando también la inhibición de cultivos lácticos sensibles, los cuales son fundamentales en la elaboración de derivados lácteos, como el yogurt y el queso, y puede ocasionar que el consumidor se vuelva resistente a los antibióticos y posteriormente desarrollar reacciones alérgicas a consecuencia de su ingestión.

Una de las maneras de identificar el problema aun cuando no se presenten síntomas en el animal es la realización de la prueba de reductasa, para detectar la carga microbiana en la leche. Así también es posible utilizar la prueba del conteo de células somáticas presentes en el alimento, en donde la determinación de un número elevado de dichas células nos indicaría que la vaca sufre de una infección en la ubre. Estos dos métodos son esenciales para la detección de vacas enfermas, y por consecuencia, un producto de calidad higiénica deficiente.

JUSTIFICACIÓN

Un aspecto fundamental en la calidad de la leche reside en su flora microbiana. Desde el punto de vista cuantitativo, se considera que la leche con bajos niveles de carga microbiana son de mejor calidad. Aunque teóricamente la leche al salir del pezón debería ser estéril, siempre contiene de 100 a 100,000 bacterias por mililitro. Este hecho indica que la mayor parte de microorganismos encontrados entran por el canal de los pezones de la ubre (Armiot, 1991).

En relación a la ubre, se encuentra la mastitis, que es la inflamación de uno o varios cuartos de la mama, debido a la presencia de diferentes tipos de microorganismos patógenos. Esta enfermedad es una importante fuente de contaminación de la leche además de disminuir considerablemente la rentabilidad del rebaño afectado. Las formas clínicas de mastitis se caracterizan por un hinchamiento doloroso de la ubre, fiebre, pérdida de apetito y disminución de la producción láctea, en la que a veces aparecen coágulos de leche y sangre. Las formas subclínicas se presentan con síntomas atenuados y sin hinchazón aparente en la ubre. Estos casos se detectan mediante pruebas microbiológicas que revelan cantidades anormales de bacterias y/o leucocitos (Luquet, 1991).

Con frecuencia se emplean antibióticos para el tratamiento de las vacas que sufren mastitis y es probable observar trazas de los mismos hasta 72 horas después del último tratamiento. Debido a que los antibióticos (en especial los de aplicación intramamaria) son baratos y de fácil aplicación, se han hecho muy populares en las explotaciones lecheras. La combinación de leche con antibióticos se deriva del resultado del inadecuado uso de éstos últimos para el tratamiento de la mastitis. Los residuos antibióticos en la leche son capaces de inhibir cultivos de bacterias sensibles, imposibilitando su uso para elaboración de productos lácteos. Además, con la presencia de antibióticos en leche para consumo humano puede provocarle reacciones alérgicas debido a la sensibilidad de éste (Leslie, 1991).

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar la calidad en la leche fresca obtenida de proveedores externos mediante aplicación de diferentes pruebas analíticas, a fin de decidir las adecuadas para la identificación de beta lactámicos y células somáticas como agentes de detección de mastitis, verificando confiablemente la condición de la leche en la empresa LICONSA S.A de C.V.

Objetivos Específicos:

- Determinar la calidad en la leche fresca obtenida de proveedores externos para la empresa LICONSA S.A de C.V.
- Aplicar y definir las pruebas analíticas adecuadas para la detección de mastitis.
- Identificar la presencia anormal de beta lactámicos y células somáticas presentes en leche fresca como agentes de detección de mastitis.

MARCO TEORICO

La leche

Por definición, la leche es la secreción íntegra y natural obtenida de las ubres de los mamíferos, libre de calostro, destinada para el consumo humano o animal, la cual proporciona nutrimentos y protección inmunológica a sus críos; de composición compleja, blanca y opaca, de sabor ligeramente dulce y pH neutro. Cuenta con un sistema coloidal constituido por una solución acuosa de lactosa (5%), sales (0.7%), y otros elementos en disolución, donde se encuentran las proteínas (3.2%) en suspensión y la grasa en emulsión.

Desde el punto de vista sensorial, la leche se puede caracterizar como un líquido blanco y opaco, un poco más pesado que el agua y ligeramente untuoso, más o menos amarillento según su contenido de materia grasa, de sabor dulce y agradable ligeramente azucarado y de olor poco marcado pero particular.

La leche es uno de los alimentos más completos por sus nutrimentos, tales como las proteínas con una gran cantidad de los aminoácidos esenciales para la alimentación (Cuadro I). La FAO y la UNESCO la recomiendan como alimento indispensable, principalmente para los niños (Siap, 2012).

De los 20 aminoácidos conocidos, nueve de estos son esenciales, debido a que el cuerpo no es capaz de sintetizarlos, por tanto deben ingerirse en cantidades y proporciones adecuadas debido a que son de fundamental importancia durante el crecimiento.

Cuadro I. Aminoácidos esenciales en la leche.

AMINOACIDOS ESENCIALES PRESENTES EN LA LECHE		
Valina	Isoleucina	Metionina
Triptófano	Lisina	Histidina
Fenilalanina	Leucina	Treonina

La complejidad bioquímica de la leche en su composición y su elevada actividad de agua la convierte en uno de los alimentos naturales donde proliferan

fácilmente la mayor parte de los microorganismos (Diagrama 1, Cuadro II) y bien se podría catalogar como un medio universal de cultivo.

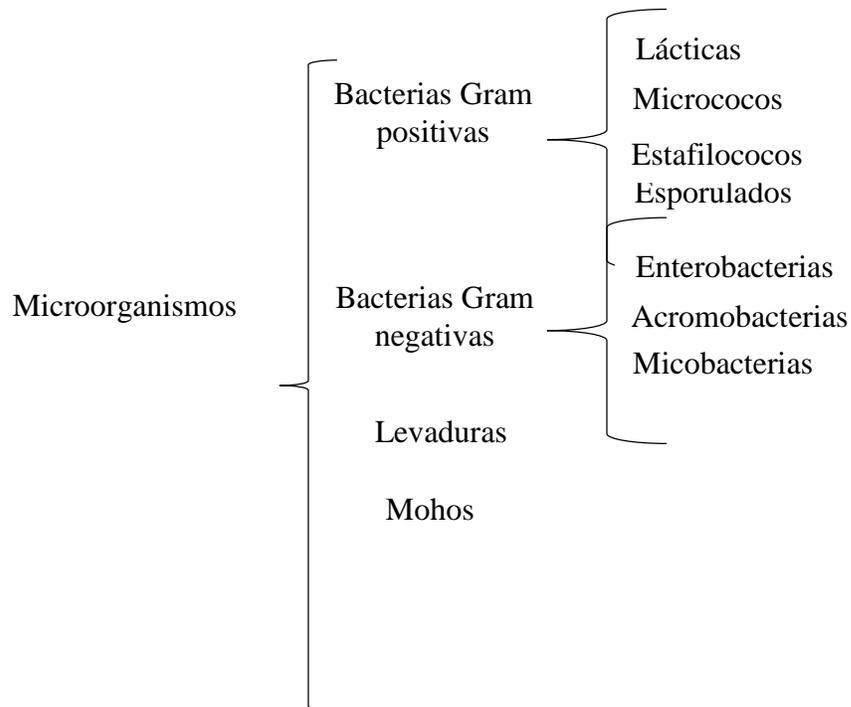


Diagrama 1. Microorganismos de la leche.

Cuadro II. Microorganismos presentes en leche.

Bacterias Gram positivas		Bacterias Gram negativas	
Ácido lácticas	<i>Lactococcus,</i> <i>Leuconostoc,</i> <i>Pediococcus,</i> <i>Streptococcus,</i> <i>Lactobacillus,</i> <i>Carnobacterium,</i> <i>Enterococcus,</i> <i>Vagococcus,</i> <i>Aerococcus,</i> <i>Tetragonococcus,</i> <i>Alloiococcus,</i> <i>Bifidobacterium</i>	Enterobacterias	<i>Escherischia coli,</i> <i>Enterobacter</i> <i>aerogenes,</i> <i>Klebriella,</i> <i>Citrobacter,</i> <i>Salmonella,</i> <i>Shigella,</i> <i>Proteus,</i> <i>Serratia</i>
Micrococos	Fermentadores débiles; forman parte de la flora inocua que contamina la leche cruda	Acromobacterias	<i>Alcaligenes viscolactis</i> <i>Alcaligenes metalcaligenes,</i> <i>Flavobacterium</i>
Estafilococos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Micobacterias	<i>Mycobacterium tuberculosis,</i> vehiculado por leche cruda
Esporulados	<i>Clostridium botulinum</i>	Diversas	<i>Pseudomonas fluorescens,</i> <i>Pseudomonas nigrifaciens,</i> <i>Brucella abortus</i>
Diversas	<i>Corynebacterium,</i> <i>Brevibacterium,</i> Bacterias propiónicas		

Cuadro III. Composición fisicoquímica de la leche de vaca (g/100 mL)

Componentes	Mínimo	Máximo
Agua	84	89
Sólidos	10.6	17.9
Lípidos	2.6	8.4
Proteínas	2.4	6.5
Lactosa	2.4	6.1
Cenizas	0.6	0.9

Propiedades fisicoquímicas de la leche cruda

La leche cruda está constituida por un sistema fisicoquímico complejo en el que los elementos que la constituyen se presentan en tres fases: emulsión, suspensión y solución.

La grasa con agua forma una emulsión; la proteína insoluble de la leche (caseína) ligada con algunas sales minerales forma la suspensión y la lactosa junto con las proteínas solubles (globulinas y albúminas) junto con sales minerales forman la solución.

Cuantitativamente, el agua es el elemento más importante, representando aproximadamente el 87% de la leche y el 13% restante corresponde a los sólidos totales que están divididos en; Sólidos no grasos: constituidos por proteínas de 30 a 34 g/L, lactosa de 43 a 50 g/L y sales minerales de 9 a 12 g/L. Sólidos grasos: constituido por la grasa propia de la leche con 30 g/L.

Calidad de la leche fresca

La calidad de la leche comercial y de sus derivados elaborados en la industria láctea, depende directamente de la calidad del producto original o materia prima, provenientes de las zonas de producción y de las condiciones de transporte, conservación y manipulación en general hasta el centro de acopio a la planta lechera. Por tanto la calidad del producto que llega al consumidor de diferentes proveedores depende del control que se lleve sobre la leche fresca (cruda).

La calidad de la leche se puede medir de acuerdo a diferentes criterios, entre ellos están el contenido nutricional, el contenido de microorganismos y el contenido de células somáticas.

La calidad nutricional de la leche cruda depende de su contenido de sólidos, tales como proteína, grasa, lactosa, vitaminas y elementos minerales. Por otra parte, la calidad microbiológica está referida a la leche libre de agentes patógenos causantes de enfermedades y con un nivel bajo de contenido de células somáticas (Gürtler y Schweighert, 2005; Méndez y Osuna, 2007).

Entre los principales factores que disminuyen la calidad de la leche se encuentran: los microorganismos patógenos, toxinas, residuos químicos, células somáticas, materias extrañas y las condiciones organolépticas (Palma *et al.*, 2007), mismos que pueden dañar la salud del consumidor.

Para mantener una buena calidad de la leche es necesario que se lleve a cabo el control de enfermedades y un adecuado manejo sanitario en todas las fases de manipulación de la leche desde el momento del ordeño hasta su llegada a la planta (Piñeros, 2005; Méndez y Osuna, 2007; Moreno *et al.*, 2006).

Según la Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002, "Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.", la leche fresca de vaca deberá presentar aspecto normal, estará limpia y libre de calostro, preservadores, antibióticos, colorantes, materias extrañas y sabores u olores desagradables o extraños. La leche se obtendrá de vacas acreditadas como sanas; es decir, libres de toda enfermedad infecto contagiosa tales como tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*), brucelosis (*Brucella abortus*) y mastitis (*Streptococcus spp.*). A partir del momento de obtención de la leche se le someterá a filtración y

enfriamiento inmediato a 4.5 °C. La composición, propiedades fisicoquímicas, higiene, condiciones sanitarias y propiedades sensoriales influyen sobre su valor nutricional y en su rendimiento industrial.

Se entiende por leche de calidad a la que proviene de vacas sanas, bien alimentadas y que reúne las siguientes características:

- Cantidad y calidad apropiada de los componentes sólidos (grasa, proteínas, lactosa y minerales)
- Libre de bacterias causantes de enfermedades (p. e.: brucelosis, tuberculosis o bacterias causantes de mastitis) y toxinas (sustancias tóxicas) producidas por bacterias y hongos.
- Libre de residuos químicos e inhibidores.
- Con un mínimo de células somáticas.

Factores que influyen sobre la producción y composición de la leche

La cantidad de leche producida y su composición, presentan variaciones importantes en función de numerosos factores, como son los relativos al animal y al ambiente en el que se desarrolla. Los principales factores de variación son:

Factores fisiológicos:

Edad de la vaca: Influye en la producción de leche y el porcentaje de materia grasa. La edad de la vaca influye ligeramente en la composición de la leche. La grasa y los sólidos no grasos tienden a disminuir desde la primera lactación. La grasa decrece 0.2% y los sólidos no grasos 0.4%, aproximadamente después de la quinta lactación. La caída de los sólidos no grasos parece ser debido a la disminución de la caseína. En general, podemos decir que existe un deterioro de la ubre de la vaca con el uso y edad, aumentando la incidencia de mastitis.

Periodo de lactancia: La composición de la leche se ve modificada a lo largo del periodo (aproximadamente diez meses), modificándose la concentración de grasa, proteínas y lactosa.

Factores alimenticios:

Composición y nivel energético del alimento: Influye en la cantidad porcentual de los componentes orgánicos.

Factores genéticos:

La raza de la vaca influye en la cantidad porcentual de los componentes orgánicos.

Factores relativos al ambiente:

Forma de ordeño e irregularidad en la alimentación, condiciones climáticas: influyen en la producción de leche.

La cantidad de leche producida por la vaca aumenta, por lo general, de la primera lactación a la quinta o sexta, disminuye lentamente a partir de la séptima y cae bruscamente después de la octava lactación.

El plan de alimentación y la forma de la ración influyen en la composición de la leche. Una alimentación deficiente reduce la producción de leche, pero la generación de grasas se mantiene y, por tanto, incrementa su porcentaje. Una sobrealimentación de entre 25% y 35% puede incrementar los sólidos no grasos en aproximadamente 0.2%; con una alimentación deficiente (menos del 25%) decrece en 0.4-0.5%. El efecto de estos cambios es debido a las variaciones en proteínas, en particular en caseína, habiendo poca influencia sobre la lactosa.

Anatomía de la glándula mamaria

La glándula mamaria de la vaca es una estructura exocrina de origen dérmico, responsable de secretar la leche destinada a la alimentación de los animales recién nacidos. Está constituida por cuatro cuartos que en conjunto se denominan ubre, cada cuarto funciona como una glándula independiente para la producción de leche (Ávila, 1995).

Los cuartos posteriores están más desarrollados que los anteriores y producen el 60% de la leche (Park y Jacobson, 1999; Hernández y Bedolla, 2008). La ubre debe ser simétrica, ligeramente larga, ancha y profunda, además debe ser de una textura

blanda, flexible y suave al tacto (Ávila, 1995; Park y Jacobson, 1999). El peso de la ubre y/o su tamaño puede variar con la edad de la vaca, el estado de lactación, la cantidad de leche presente en la glándula y las características genéticas del animal (Park y Jacobson, 1999). Las ubres más voluminosas son las que producen más leche (Ayadi,2003).

La glándula mamaria está formada por el parénquima y el estroma. El parénquima es la parte secretora de la glándula y está compuesto por tejido epitelial túbulo-alveolar (Ávila, 1995; Cunningham, 1999). El estroma está constituido por los tejidos conjuntivo y nervioso, además de grasa, vasos sanguíneos y linfáticos (Ayadi, 2003; Gürtler y Schweigert, 2005).

En el parénquima se encuentran los alveolos, que son las unidades básicas de secreción láctea de la glándula mamaria (McManaman y Neville, 2003; Gürtler y Schweigert, 2005). Los alveolos son estructuras esféricas constituidas por células epiteliales de secreción, presentan un lumen y están rodeadas por células de músculo liso conocidas como mioepiteliales. Los alveolos se agrupan para formar lobulillos y estos a su vez forman lóbulos. Cada nivel de organización presenta un sistema de conducción de leche. Así, el lumen del alveolo continúa con los conductos intralobulillares que al salir del lobulillo se transforman en interlobulillares. Los conductos interlobulillares se unen para formar a los conductos intralobulares e interlobulares; estos últimos desembocan a un conducto común denominado lactífero colector. Varios conductos lactíferos colectores desembocan a la cisterna de la glándula (Cunningham, 1999; Park y Jacobson, 1999).

La cisterna de la glándula mamaria tiene una capacidad de varios cientos de mililitros y se comunica con la cisterna del pezón a través del anillo cricoides (Park y Jacobson, 1999). El pezón mide de 6 a 8 cm de largo con un diámetro de 2.5 a 3 cm; en su interior se encuentra el canal o conducto galactóforo que comunica a la cisterna del pezón con el ambiente externo (Gürtler y Schweigert, 2005).

Las células epiteliales alveolares sintetizan la mayor parte de los componentes lácteos y los secretan hacia al lumen (McManaman y Neville, 2003). La cantidad de leche producida se relaciona de manera estrecha con el número de células epiteliales funcionales (Ayadi, 2003). Todos los nutrientes requeridos para la producción de leche

llegan a la ubre a través de la circulación sanguínea (Park y Jacobson, 1999). Se ha calculado que para que la glándula mamaria produzca un litro de leche debe filtrar entre 400 y 500 litros de sangre (Ávila, 1995).

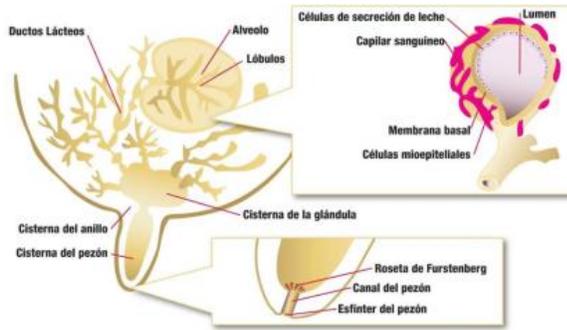


Figura 1. Cuarto mamario de la vaca.

Características de los microorganismos asociados a la leche

Existen grupos de microorganismos que son tomados como indicadores de sanidad e higiene en la industria láctea, pues su presencia permitirá comprobar el cumplimiento de la aplicación de las buenas prácticas higiénicas.

Microorganismos indicadores:

- Bacterias aeróbicas
- Coliformes totales y fecales
- Enterobacterias
- Enterococos

La calidad real de un producto lácteo está condicionada por el resultado directo de la calidad bacteriológica de la leche de la que procede. Por este motivo los organismos de calidad establecen límites que señalan el número de microorganismos que se consideran aceptables en la leche. Con la introducción de los métodos sanitarios de ordeño y de refrigeración, es posible obtener leche con poblaciones microbianas bajas utilizando las buenas prácticas de manufactura (Armiot, 1991).

Aunque teóricamente la leche al salir del pezón debería ser estéril, esta siempre contiene un aproximado de 100 a 10,000 bacterias por mililitro. Generalmente las primeras fracciones de leche están más contaminadas que el resto; la leche final del ordeño puede contener una población microbiana hasta cinco veces menor que la del principio. Este hecho indica que el canal del pezón puede ser una importante fuente de contaminación; la mayor parte de los microorganismos en la ubre entran por el canal del pezón.

En las leches mastíticas se han aislado muy frecuentemente tres especies de estreptococos: *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. uberis*. El primero de ellos se encuentra adherido a la glándula mamaria, mientras que los otros dos microorganismos pueden multiplicarse en el exterior de la mama. Estas bacterias son en general bastante exigentes en lo que a la temperatura de crecimiento se refiere y no se multiplican en la leche estando en refrigeración. Actualmente *Staphylococcus aureus* es el agente etiológico más frecuente en esta enfermedad al ser más resistente a los antibióticos que los estreptococos.

Los estreptococos, estafilococos y coliformes infectan a la ubre como consecuencia de una contaminación exógena. Ocasionalmente, algunas bacterias patógenas pueden llegar a la leche desde la sangre; esta vía de contaminación se denomina endógena. Además de estos microorganismos, la vaca puede ser portadora de otros patógenos causantes de enfermedades (Armiot, 1991).

Factores de defensa celular y humoral de la leche

La leche tiene un efecto que inhibe el crecimiento de bacterias, matándolas o haciéndolas inofensivas. Su efecto antibacterial al exterior de la ubre se debe a factores de defensa celulares y humorales. En estos intervienen los leucocitos polimorfonucleares (PMN), los linfocitos y los macrófagos (principal tipo de células en la leche). Los factores humorales son las inmunoglobulinas, los factores del complemento, el sistema lactoperoxidasa-tiocinato-peróxido-hidrógeno, la lactoferrina y la lizosima (Wolter *et al.*, 2004).

Células somáticas

Las células somáticas son células propias del organismo que sirven de defensa a la glándula mamaria de la vaca contra organismos patógenos y normalmente están presentes en la leche a niveles bajos (Cuadro IV). Las células somáticas están constituidas por una asociación de leucocitos y células epiteliales. Los leucocitos se presentan en la leche en respuesta a la inflamación causada por alguna enfermedad o, en algunas ocasiones, debido a una lesión. Las células epiteliales se desprenden del revestimiento del tejido de la ubre (Blowey y Edmonson, 1995). Estas provienen de la sangre y del tejido de la glándula mamaria.

El contenido de células somáticas en la leche nos permite conocer datos claves sobre la función y el estado de salud de la glándula mamaria lactante y debido a su cercana relación con la composición de la leche; un criterio muy importante de calidad en esta (Wolter y Klopert, 2004).

Las bacterias ambientales están presentes en el medio ambiente donde habita la vaca, en su piel, en charcos de agua, establos y pesebres, etc. Y penetran en la ubre cuando se dan las determinadas condiciones. Una vez que las bacterias atacan las células del interior de la glándula mamaria la respuesta inmunitaria del organismo es enviar glóbulos blancos de la sangre para neutralizar a las bacterias invasoras. Estos glóbulos blancos son, en esencia, lo que constituye los conteos de células somáticas (CCS). Un alto CCS en leche de vacas individuales o en un tanque de enfriado indica que las bacterias han invadido la glándula de la vaca (García, 2004).

Las bacterias que invaden el canal del pezón pueden clasificarse en contagiosas o ambientales. Las bacterias contagiosas se diseminan entre los pezones de una vaca o entre diferentes vacas de un hato como resultado de inadecuadas prácticas de manejo al momento de la ordeña (García, 2004). La presencia de un incremento del número de éstas células dentro del alveolo es un indicador como respuesta a la infección; aun cuando no han sido detectadas al observar la leche de la vaca (Carrión, 2001).

Cuadro IV. Diagnóstico en la glándula mamaria (por cuarto), según el conteo de células somáticas.

Células / mL de leche	Estado de la ubre
Hasta 100,000	Sana, leche normal
De 100,000 a 200,000	Sospechoso, nivel superior fisiológico
Más de 200,000	Mastitis, leche anormal

Por tanto, las células somáticas son células corporales. Estas pasan hacia la leche procedentes de la sangre y del tejido glandular. El contenido de células somáticas en la leche nos permite conocer el estado funcional y de salud de la glándula mamaria en período lactante; este es un criterio de calidad muy importante debido a su estrecha relación con la composición de la leche (Bedolla y Castañeda, 2004; Wolter *et al.*, 2004).

De todas las células de la leche de un cuarto infectado, aproximadamente el 99% de ellas serán leucocitos, mientras que el resto serán células secretoras que se originan de los tejidos de la glándula mamaria. Juntas, estos dos tipos de células constituyen la cuenta de células somáticas en leche, generalmente expresada en mililitros (Philpot, 2001).

Las células somáticas están constituidas por una asociación de leucocitos polimorfonucleares (85%) y células epiteliales (15%). De la fracción de leucocitos un 30% correspondiente a macrófagos, 30% a neutrófilos y 25% linfocitos (Gürtler y Schwegert, 2005; Curbelo, 2007). Los leucocitos se adhieren a la leche en respuesta a la inflamación que puede aparecer debido a una enfermedad o alguna lesión, aumentando su número (Hernández y Bedolla, 2008).

La leche de una glándula mamaria sana presenta valores de células somáticas por debajo de las 200,000 células/mL (Sharif y Muhammad, 2008). En las enfermedades inflamatorias de la ubre el contenido puede llegar hasta 50 millones de células/mL (Hernández y Bedolla, 2008).

Leucocitos neutrófilos polimorfonucleares

Los leucocitos neutrófilos polimorfonucleares (PMN) forman la primera línea de defensa inmunológica contra las bacterias que penetran la barrera física del canal del pezón. Los PMN protegen a la glándula mamaria por medio de la fagocitosis y la muerte intracelular, debido a su capacidad para fagocitar y matar bacterias opsonizadas y no opsonizadas empleando enzimas bactericidas y radicales oxi (Prin-Mathieu, 2002).

Los neutrófilos desempeñan cinco funciones clave para una vigilancia inmune exitosa y defensa contra los patógenos intramamarios: marginación, migración, fagocitosis, estallido respiratorio y degranulación. La marginación y migración de los neutrófilos son críticas para la vigilancia inmune innata y para confinar la respuesta inflamatoria en el sitio de la infección. La fagocitosis, el estallido respiratorio y la degranulación culminan en la destrucción intracelular del patógeno por neutrófilos de la leche que han migrado desde la sangre hasta el foco de la infección.

Linfocitos

El reclutamiento local y la actividad de los leucocitos son los mecanismos de defensa inmune más importantes contra la infección de la glándula mamaria bovina. Aunque un alto número de neutrófilos bovinos en leche es crítico para una lucha activa contra las infecciones, los macrófagos y los linfocitos T constituyen la mayor parte de las células somáticas en leche de cuartos sanos.

Los linfocitos son las únicas células del sistema inmune que reconocen antígenos por medio de receptores de membrana y que son específicos para patógenos invasores. Existen dos tipos de linfocitos que difieren en función y productos proteicos: los linfocitos T y B. Los porcentajes de estas células pueden ser significativos dependiendo del estado de la lactancia y de su localización en los tejidos.

Los linfocitos B representan el 20% de linfocitos totales. Su función es reconocer los antígenos o sustancias extrañas para producir anticuerpos específicos y secretar inmunoglobulinas localmente. Los linfocitos T se encargan de destruir a los antígenos

por contacto directo, produciendo linfocinas, células “killer” y células auxiliaadoras que activan el proceso de inmunidad humoral y celular (linfocitos B).

El 45% de los linfocitos está conformado por este tipo de células (Westweber, 1993; Hurley y Morin, sfp). En distintas muestras de leches, los neutrófilos son a población de leucocitos más predominante en leche de glándulas mamarias infectadas (59% a 99% del total de células somáticas, dependiendo del estado de la lactancia). En el siguiente cuadro (Cuadro V) se pueden apreciar los porcentajes del tipo de células en la leche.

Cuadro V. Tipos de células en leche normal.

Tipo de célula	Porcentaje
Macrófagos	60%
Linfocitos	20%
Neutrófilos	20%

Función de las células somáticas

Cada leche contiene células somáticas, las cuales en una glándula sana sólo se presentan en un número pequeño. En este caso se trata de células de tejido (células epiteliales) y células inmunes (neutrófilos polimorfonucleares, granulocitos, macrófagos, linfocitos). La importancia biológica de las células somáticas es que participan en la defensa contra infecciones en la ubre. Cuando hay estímulos o enfermedades de la glándula mamaria aumenta en contenido de células somáticas, con lo cual el número de células inmune aumenta considerablemente (Wolter y Kloppert, 2004).

Recuento de células somáticas

Efectuar conteos celulares somáticos es un procedimiento común, sobre todo en la industria láctea para medir la calidad de la leche. En el establo se utiliza como indicador de infecciones. Cuando el conteo de células somáticas (CCS) resulta elevado, ya sea de una vaca o del tanque enfriador, indica un problema relacionado a mastitis (Anónimo, 2002).

El recuento de células somáticas es el número de células existentes en leche. Se utiliza como indicador de la infección de la glándula mamaria (Blowey y Edmonson, 1995).

El CCS es la medición más ampliamente utilizada para supervisar el estado infamatorio de las glándulas mamarias. Se puede realizar en la leche de:

- Cuartos individuales
- Vacas individuales
- Hato completo
- Grupo de hatos

La infección intramamaria es el principal factor causante de cambios en el CCS en la leche. Cuando los microorganismos causantes de mastitis invaden un cuarto de la ubre y empiezan a multiplicarse o cuando el número de estos aumenta significativamente en un cuarto infectado, el organismo de la vaca tiene que reclutar leucocitos para combatir a dichos microorganismos causantes de la mastitis (Philpot, 2001).

Más del 98% de las células somáticas que se encuentran en la leche son leucocitos de las células blancas que ingresan a la misma en respuesta a la invasión bacteriana de la ubre. Un alto conteo de células somáticas se asocia con la pérdida de la producción de leche (García, 2004).

Las glándulas mamarias que nunca se han infectado tienen CCS de 20,000 a 50,000 células/mL. En grandes poblaciones de vacas, 80% de los animales no infectados tendrán un CCS menor de 400,000 células/mL y 50% menor de 100,000 células/mL. Una razón de las cuentas ligeramente elevadas en animales no infectados

es que algunos cuartos tuvieron una infección previa de la cual no se han recuperado totalmente (Philpot, 2001).

Cuando la leche de todas las vacas en el hato se mezcla, como en un tanque de recepción, el conteo de células somáticas en una muestra compuesta es un buen indicador de la prevalencia de mastitis en el hato.

Un conteo de células somáticas mayor de 200,00 células/mL indica la presencia de mastitis subclínicas. Los conteos de células somáticas por debajo de 400,000 células/mL son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no hacen un particular énfasis en el control de la mastitis.

Los hatos que poseen un programa de control efectivo de la mastitis poseen en forma consistente conteos por debajo de las 100,000 células/mL. Conteos de células somáticas mayores de 500,000 células/mL indican que un tercio de las glándulas se encuentran infectadas y que la pérdida de leche debido a mastitis subclínica es mayor de 10% (García, 2004).

Un cuarto de la glándula mamaria sano no muestra ninguna alteración patológica externa; su leche no contiene microorganismos patógenos y mantiene un nivel de células somáticas menor de 100,000 por mililitro (Wolter *et al.*, 2004).

Desde el punto de vista económico, la prevención al realizar la CCS significan para el productor:

- Aumento en la producción de leche
- Disminución en el costo de vaquillas de reemplazo
- Menos leche de descarte
- Reducción en el costo de medicamentos y del veterinario
- Menos trabajo
- Aumento en el rendimiento del producto

Causas de un recuento celular somático elevado

Los niveles elevados de células somáticas de manera anormal pueden ser resultado de diversos factores:

- La vaca está infectada con microorganismos causantes de la mastitis (Blowey y Edmonson, 1995)
- Fase de lactación (Carrión, 2001)
- La ubre ha sufrido alguna lesión.
- Variaciones diarias y de temporada
- Frecuencia de ordeño (Blowey y Edmondson, 1995)
- Estrés
- Variación fisiológica
- Cantidad de cuartos o vacas afectadas (Saran y Chaffer, 2000)

Antibióticos

Los antibióticos son sustancias elaboradas por ciertos tipos de cultivos correspondientes a hongos inferiores o de bacterias capaces de inhibir el crecimiento de numerosos gérmenes. Por regla general su estructura química es muy compleja y en algunos antibióticos todavía es desconocida.

Acción farmacológica

Probablemente los antibióticos operan bloqueando ciertos procesos enzimáticos. Tienen por tal motivo una acción bacteriostática.

El campo de aplicación más amplio e importante de los antibióticos es sin duda la terapéutica cubriendo diferentes enfermedades infecciosas sobre las cuales extienden una acción específica sobre un cierto tipo de gérmenes. Los antibióticos tienen una acción bactericida y bacteriostática, generalmente de tipo selectivo, y su influencia se manifiesta exclusivamente sobre la flora bacteriana que vive sobre el organismo animal al nivel del intestino, así como en los tramos anteriores que existen en los rumiantes. Cada animal reacciona de una forma diferente ante la presencia de antibióticos, dependiendo de la composición cuantitativa y cualitativa de la flora bacteriana (Marcello, 1970).

Con frecuencia se emplean antibióticos para el tratamiento de las vacas que sufren alguna enfermedad mastítica y es probable que se observen residuos de los

mismos en la leche hasta tres días después del último tratamiento. La presencia de antibióticos en la leche también provoca dificultades en la producción de quesos y yogurt. Se han formulado recomendaciones para controlar la mastitis; la formulación de preparaciones con un tiempo de excreción inferior a las 48 horas, para indicar el tiempo mínimo que la leche de los animales que reciben tratamiento no es utilizable (Kirk, 1996).

Penicilina

Se deriva de hongos del género *Penicillium* y se obtiene por la extracción de cultivos sumergidos, desarrollados en medios especiales para su producción. En la actualidad, la penicilina más utilizada es la Penicilina G. La actividad antimicrobiana que realizan todos los tipos de penicilina tiene el mismo modo de acción: inhiben la síntesis de las paredes celulares bacterianas bloqueando el enlace cruzado terminal de los glucopéptidos lineales. La mayoría de las penicilinas son mucho más activas contra las bacterias gram positivas que contra las gram negativas probablemente debido a diferencias entre la composición de la pared celular, pero la ampicilina y la carbenicilina tiene una actividad semejante contra ambos tipos de bacterias. La actividad de las penicilinas también varía con su combinación con las proteínas, la cual va desde 40% hasta más de 95%; esto depende del tipo de antibiótico que se administre. Ciertos organismos producen betalactasas (penicilinasas) que inactivan algunas penicilinas. Su resistencia debe residir en la estructura y síntesis del núcleo péptido (Jawetz, 1977).

Usos clínicos

Las penicilinas son los antibióticos más ampliamente usados, en particular en las siguientes áreas:

En las infecciones causadas por estreptococos, neumococos, meningococos, estafilococos no productores de penicilinasas, gonococos, espiroquetas.

Este antibiótico era extraído primitivamente de cultivos del hongo *Penicillium notatum*, actualmente se extrae de cultivos de cepas seleccionadas. Las características de la penicilina son:

Penicilina purificada: Es un polvo cristalino de color blanco, muy soluble en agua e insoluble en aceites.

Penicilina en estado seco: Permanece estable a temperaturas normales durante tres años en frascos cerrados.

Estas presentaciones se dan dependiendo de la aplicación que se le de al antibiótico (Mollereau, 1964).

Propiedades de la penicilina

Actúa sobre un gran número de gérmenes con una acción antibiótica, bacteriostática. Esta acción inhibidora del desarrollo microbiano se manifiesta en medio peptonado, en presencia de pus, sangre, sueros, cultivos o de autolisados de tejidos, cosa que distingue la penicilina de las sulfamidas. Los microbios especialmente influenciados son los cocos, enterococos, neumococos y estreptococos principalmente, ciertos gérmenes gram positivos, aerobios o anaerobios. Otra importante acción de la penicilina es el impedimento de infecciones quirúrgicas.

Los antibióticos que se encuentran en la naturaleza han producido variaciones clínicamente superiores. Son compuestos inestables al calor, a las variaciones amplias de pH, a la acción enzimática y muchas veces se descomponen en soluciones químicas (Mollereau, 1964).

Cierto número de penicilinas que difieren únicamente en la composición del grupo R se han aislado del medio natural, y cientos de ellas han sido semisintetizadas. La penicilina es un bencilo, suele ser la más deseable clínicamente y es el tipo que se encuentra con mayor facilidad en el mercado, combinado usualmente en forma de sal con potasio. La penicilina no sólo fue el primer antibiótico producido que tuvo una gran difusión general sino que también es uno de los agentes antimicrobianos más activos que se conocen (Austin, 1988).

Estreptomycin

Antibiótico de composición química conocida, extraído de cultivos de *Streptomyces griseus*, hongo saprofito hallado en el suelo; la solución que se extrae de estos tiene

poder bacteriostático durante una semana. Por hidrogenación catalítica de la estreptomina se obtiene la dihidroestreptomina, más activa y estable. Es un excelente antibiótico, no solamente frente a los bacilos gram positivos (estreptococos), como lo es ya la penicilina, pero sin acción sobre las corinebacterias. Su actividad disminuye con un pH inferior a 6.5. La actividad de la estreptomina actúa sobre las mastitis estreptocócicas y estafilocócicas producida por bacilos gram negativos y también sobre la tuberculosis y meningitis en el hombre, etc. (Mollereau, 1964).

Eritromicina

De la misma forma que la penicilina se aísla por métodos de extracción con disolvente, es una base orgánica, y se extrae con acetato de amilo y otros disolventes orgánicos en condiciones básicas. La eritromicina se obtiene de *Streptomyces erythreus* y tiene como fórmula química $C_{37}H_{67}NO_{13}$. Las eritromicinas inhiben la síntesis proteica de las bacterias, probablemente por bloqueo de la reacción del aminoácido sobre la unidad ribosómica. La actividad de la eritromicina se encuentra aumentada en un pH alcalino. La mayoría de las cepas microbianas sensibles a la eritromicina producen un número significativo de mutantes resistentes a la eritromicina (Jawetz, 1977).

Producción de Penicilina, Eritromicina y Estreptomina

Se forman mediante los procesos vitales de tres distintos microorganismos que crecen en cultivos puros individuales: se aísla y purifica el cultivo del antibiótico respectivo a partir del cultivo inicial desde el portaobjetos hasta el tanque de inoculación. Se prepara el medio de fermentación y se esteriliza con vapor a 121 °C. Este medio contiene proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales; se fermenta y se hace crecer al microorganismo en condiciones favorables al antibiótico planeado, se filtra el producto para separar el micelio del microorganismo respectivo, se lava y se seca. El filtrado del respectivo microorganismo contiene el antibiótico que debe ser separado y purificado. La penicilina se purifica únicamente de cinco a diez por ciento (Austin, 1988).

En la mayoría de las infecciones, la relación entre el agente causal y el cuadro clínico es muy inconstante por lo que es de importancia obtener muestras adecuadas para la investigación bacteriológica. Cuando se conoce a agente causal de una

infección, se puede seleccionar el medicamento de elección basándose en la experiencia, en otras ocasiones se hace necesaria la determinación de la sensibilidad a los antibióticos. La prueba de sensibilidad de los antibióticos se encuentra indicada en las siguientes circunstancias: cuando el microorganismo aislado es frecuentemente resistente ante los medicamentos antimicrobianos. Cuando un proceso infeccioso es grave y parece ser mortal, existen en ciertas infecciones en la que la erradicación de los organismos infecciosos requiere el uso de medicamentos que sean rápidamente bactericidas y no solamente bacteriostáticos (Jawetz, 1977).

Combinación de antibióticos

Cuando dos agentes antimicrobianos actúan simultáneamente sobre una población microbiana homogénea, el efecto puede ser uno de los siguientes:

- **Indiferencia**, es decir, la adición combinada no es más potente que la del agente más efectivo cuando se administra solo.
- **Adición**, es decir, la acción combinada es equivalente a la suma de las acciones de cada antibiótico cuando se usan solos (Jawetz, 1977).

Detección de antibióticos

Los antibióticos se han utilizado mucho en ganado lechero, especialmente para el tratamiento de la mastitis. La contaminación de leche con antibióticos es fundamentalmente resultado del inadecuado uso de los antibióticos para el tratamiento de la mastitis o de no retirar del mercado la leche durante cierto tiempo. El antibiótico que no es absorbido por el tejido mamario se excreta junto con la leche. La cantidad expulsada de antibiótico con la leche varía en los distintos individuos, pero el tiempo durante el que la vaca esté expulsando el betalactámico depende de la concentración inyectada, de la cantidad de leche que la vaca produce y del excipiente de la preparación utilizada. La administración de dosis elevadas y la producción de cantidades escasas de leche determina permanencias largas del antibiótico en la ubre. La infusión intramamaria del antibiótico en un solo cuarto puede determinar la aparición del mismo en la leche producida por los otros tres. Usando penicilina, la transferencia es escasa y de corta duración, y no suele presentar problema alguno. La inyección

subcutánea e intramuscular de antibióticos también determina la aparición de un producto contaminado; los antibióticos aparecen en la leche 72 horas después de su inyección. La administración oral puede crear un problema de contaminación de leche si se administra en dosis elevadas. Los residuos de antibióticos de la leche se detectan actualmente su efecto inhibitor sobre cultivos de bacterias sensibles, como los cultivos que se utilizan para la elaboración de productos lácteos. La inhibición se observa por medio de un indicador redox adecuado o indicador de pH. Cuando los anteriores mencionados no viran de color cuando el cultivo se incuba con la muestra de leche indica la presencia o residuos de algún antibiótico el cual se transfirió a la leche a través de las glándulas mamarias (Schmidt, 1971). En la prueba TTC (Técnica de Control) se emplea el *Streptococcus thermophilus* y el cloruro de trifeniletrozolío (incolore), el cual se reduce en la leche libre de antibióticos. Otra prueba utilizada es la Delvotest SP; en ella se incuba la muestra con *B. stearothermophilus*, de la variedad *calidolactis* y azul de bromocresol durante dos horas y media a 63-66 °C. La enzima penicilasa, que inactiva de manera específica a la penicilina, puede agregarse a un par de pruebas por duplicado en cualquiera de los métodos anteriores para diferenciar la penicilina, el cual es el antibiótico más encontrado, de otras sustancias inhibitoras. Existe otra prueba muy rápida para la detección de penicilina en leche, llamado estuche para ensayo inmunológico de ELISA el cual es sensible a 0.01 UI/mL. Las muestras de leche deben de mantenerse congeladas antes del examen en caso de que la prueba para la detección de residuos del antibiótico no pueda efectuarse de inmediato. La penicilina se inactiva con rapidez en la leche a temperatura ambiente e incluso, a temperaturas de refrigeración se pueden observar pérdidas apreciables en pocos días. Algunos laboratorios en los que se realizan pruebas en leche opinan que el antibiótico potencialmente más peligroso que pudiera contener la leche es el cloranfenicol (Kirk, 1996).

La llegada de la penicilina a la leche suele obedecer al tratamiento de las vacas contra la mastitis; la leche de estas vacas no debe distribuirse al mercado durante un tiempo considerado, el suficiente para la total desaparición de las penicilinas en la secreción láctea. La conveniencia de controlar la penicilina en la leche que se vende deriva de la posible sensibilización del consumidor a este antibiótico y de que los

sensibilizados puedan sufrir reacciones alérgicas a consecuencia de su ingestión (Leslie, 1991). La cantidad de antibióticos que llega a la leche depende del tipo de preparado (componente activo y vehículo), dosis y forma de aplicación, producción de leche del animal tratado, tipo y grado de afección mamaria y tiempo que dura entre el tratamiento y el ordeño. La administración, ya sea oral, intramuscular o intravenosa, tiene menos importancia, desde el punto de vista de higiene de la leche que la aplicación por vía intramamaria. Esta última es la más usada para el tratamiento de mastitis, dependiendo de la cantidad de antibióticos que sea eliminada a través de la leche, dosis, intervalos entre tratamiento y ordeño, número de ordeños, producción de leche y factores individuales. Cuando se introduce un antibiótico en la ubre, éste se distribuye en el tejido mamario por los conductos galactóforos y es transferido al torrente sanguíneo por un mecanismo fisicoquímico que depende del valor de disociación del preparado (antibiótico), valor de pH del plasma sanguíneo, proteína ligada al antibiótico y valor de pH de la leche. De la dosis administrada a la glándula mamaria, una parte es absorbida pasando al torrente sanguíneo, otra es inactivada por la leche y los productos generados por la infección y el resto, que es la mayor parte, es excretada a la leche durante los ordeños posteriores.

Existe una correlación negativa entre el tiempo de eliminación del antibiótico y el volumen de leche producido por el animal; es decir, los animales de baja producción demoran en excretar el preparado, principalmente por la mala absorción y secreción de los cuartos afectados. El ordeño frecuente aumenta el efecto de dilución y por tanto acorta el tiempo de eliminación del antibiótico. Por otra parte, no sólo la leche de los cuartos tratados es la que se contamina. Se ha podido comprobar, en algunos casos, actividad antibiótica en los cuartos vecinos no tratados, actividad que permanece, por lo general, durante un período de tiempo igual a la mitad del observado para los tratados. Es posible que esta situación se produzca por difusión pasiva entre la sangre y la leche y también por difusión directa entre los tejidos mamaros. Debido a que los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y generalmente baratos, y teniendo el hecho que usualmente no se consulta al médico veterinario para su aplicación, se han hecho muy populares en las explotaciones lecheras y la

consecuencia inmediata de esto es su reconocimiento como la principal causa de aparición de residuos en antibióticos en la leche.

Tratamientos

Para los estreptococos, sobre todo el *S. agalactie*, el tratamiento con penicilina sigue siendo el mejor. Para los otros gérmenes es común utilizar las tetraciclinas (aureomicina, terramicina) así como la espiramicina y la estreptomycin. Algunos fármacos pueden mejorar la acción de los antibióticos, como la cortisona, oxitocina y papaína. El tratamiento debe hacerse bajo control veterinario. Tras un tratamiento antibiótico mal elegido o insuficiente, el germen permanece en la mama. Por el contrario, el uso de dosis pequeñas durante largo tiempo favorece la aparición de cepas resistentes; es necesario luchar contra la nociva costumbre de algunos productores de leche, que aplican penicilina cada vez presumen que la leche se encuentra en estado anormal. En los casos de mastitis por estafilococos, dado que estos son difíciles de eliminar de la mama mediante los tratamientos con antibióticos, el resultado obtenido hasta el momento son las anatoxinas, tanto desde el punto de vista preventivo como curativo, son aún insuficientes (Charles, 2001).

Consecuencias

La presencia de inhibidores en la leche puede influir negativamente sobre los procesos de elaboración de ciertos productos lácteos que necesitan un crecimiento de bacterias benéficas que producen fermentaciones necesarias para la elaboración de estos alimentos. Provocan una elevada acidez, se produce una mala coagulación, formándose una cuajada blanda; se originan aromas y sabores desagradables, en el caso del yogurt. Si, debido a los antibióticos que pueda llevar la leche no se produce ese crecimiento bacteriano se tendrá entonces la pérdida de la producción, lo que lleva a asumir pérdidas económicas. Por otro lado, si el ser humano consume leche contaminada con antibióticos corre en posibilidades de volverse resistente a los antibióticos y sufrir reacciones alérgicas a consecuencia de su ingestión.

Leche con antibióticos

Los antibióticos administrados a las vacas se encuentran luego en la leche, donde pueden alcanzar una concentración suficiente para impedir su utilización normal, especialmente en quesería, mantequería, fabricación de yogurt, etc.

Las bacterias lácticas que intervienen en las fabricaciones, sobre todo los estreptococos, son muy sensibles a los antibióticos. Cuando son inhibidos, se retrasa la acidificación; además las bacterias gram negativas más resistentes, especialmente *Escherischia coli*, pueden seguir desarrollándose y provocar alteraciones muy graves. La presencia de antibióticos es consecuencia del tratamiento de la mastitis; dosis de penicilina que varían de 20 a 150 UI por litro de leche son suficientes para perturbar una fabricación de productos lácteos. Es suficiente tratar a una sola vaca en un hato de 50 para que la leche de mezcla sea inadecuada para la fabricación de quesos normales. Del lado de la higiene, la leche que procede de mamas con antibióticos es considerada como peligrosa, sobre todo para consumo infantil. La contaminación de la leche puede mantenerse durante más tiempo a un nivel peligroso cuando se emplean antibióticos con excipientes grasos de tipo retardado (Charles, 2001).

Existen pruebas simples para descubrir la presencia de penicilina o estreptomicina en la leche, pero necesitan de varias horas de incubación debido a que los resultados adecuados se obtienen después de un tiempo largo.

Pueden llegarse a seleccionar cepas de fermentos lácticos que resisten dosis altas de penicilina; cabe destacar el hecho de que la penicilina no se inactiva en el transcurso de pasteurización de leche y solo se destruye parcialmente en el autoclave con un tiempo de diez minutos (Charles, 2001).

Mastitis

La mastitis es la enfermedad más importante que afecta a la ubre y consiste en la inflamación de la glándula mamaria en respuesta a un daño local que puede ser de origen infeccioso, traumático o tóxico (Park y Jacobson, 1999; Gürtler y Schweigert, 2005). Una glándula mamaria inflamada presenta hinchazón, calor, rubor, dolor y pérdida de las funciones (Park y Jacobson, 1999; Makovec y Ruegg, 2003).

La inflamación provoca cambios estructurales y funcionales en la glándula mamaria, además de cambios físicos, químicos y microbiológicos en la leche (Bruckmaier *et al.*, 2004). En la leche de vacas con mastitis se ha encontrado una disminución en el contenido de nutrientes; por ejemplo, una disminución del 10% de lactosa y grasa, un 18% de caseína y hasta un 67% de calcio (Kitchen, 1981; Harmon, 1994).

La mastitis se considera la enfermedad más importante de la lechería a nivel mundial, ya que representa un 30% del costo total de todas las enfermedades en el ganado lechero. Ésta enfermedad ocasiona grandes pérdidas en la producción láctea, principalmente en su forma subclínica, además de incidir negativamente en la composición de la leche y en la calidad de los derivados lácteos (Harmon, 1994; Park y Jacobson, 1999; Sharif y Muhammad, 2008).

Los principales microorganismos responsables de la mastitis son el *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae* (Diagrama 2) (Harmon, 1994).

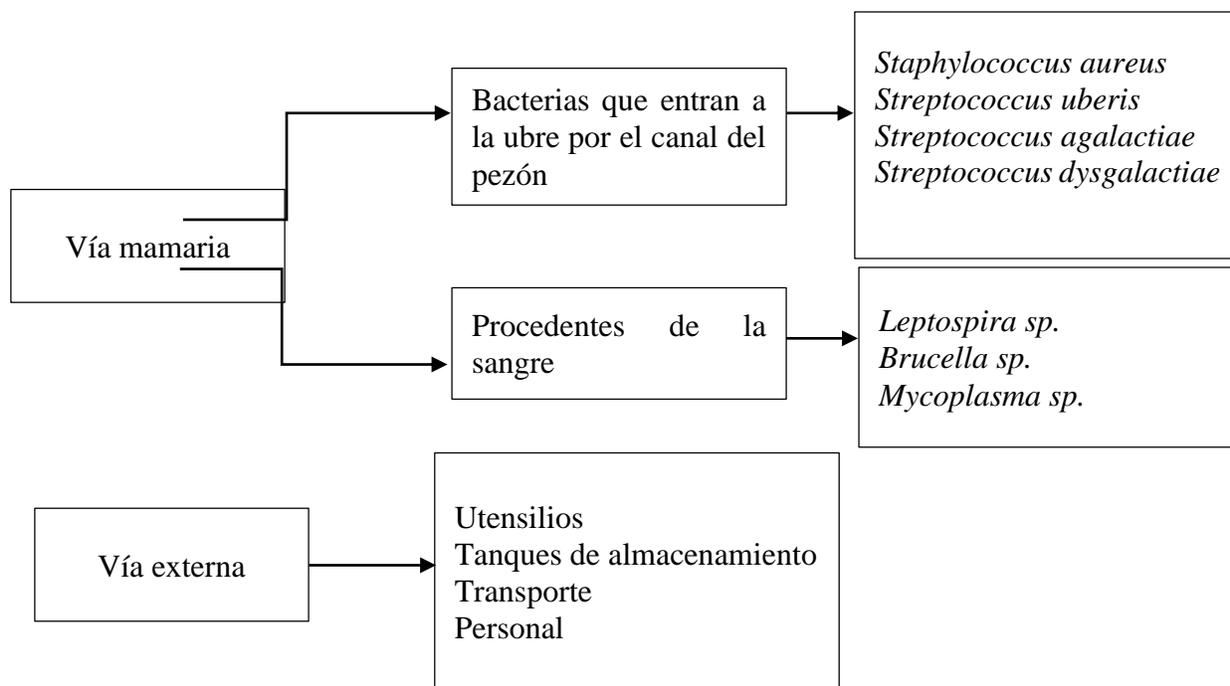


Diagrama 2. Vías de entrada y causantes de la mastitis.

El 90% de los casos de mastitis son causados por agentes físicos o infecciosos que penetran a la ubre a través de pezón (Makovec y Ruegg, 2003; Tang *et al.*, 2006); no obstante en su aparición, el clima, condiciones de estabulación, nutrición y manejo durante el ordeño son factores predisponentes (Meglia y Mata, 2001; Tang *et al.*, 2006).

La penetración de los agentes patógenos se produce principalmente durante el ordeño, ya que el principal reservorio es la ubre infectada de otras vacas (Makovec y Ruegg, 2003). Otra fuente de infección es la contaminación con bacterias coliformes, especialmente entre un ordeño y otro, debido a un mal sellado en los pezones o por exceso de suciedad en los corrales (Meglia y Mata, 2001).

Cuando los microorganismos causantes de la mastitis entran a la glándula mamaria, el sistema inmune envía grandes cantidades de leucocitos hacia la leche para intentar destruir a las bacterias, lo que provoca la inflamación (Chacón *et al.*, 2006). La mastitis es una de las principales infecciones que causa un aumento en la cantidad de células somáticas en leche (Harmon, 1994).

Existen varios criterios de clasificación de la mastitis, entre los que destacan la causa, severidad y duración. De acuerdo al grado de severidad, la mastitis se clasifica en clínica y subclínica. El grado de las lesiones, las pérdidas de la producción láctea e identificación de los signos de la inflamación sirven como base para realizar el diagnóstico y determinar si la mastitis es clínica o subclínica (Barkema *et al.*, 1999).

La mastitis clínica se caracteriza por causar alteraciones visibles en la glándula mamaria y en las características de la leche (Bedolla *et al.*, 2006). El cuarto o los cuartos se encuentran visiblemente alterados acompañados de inflamación, dolor y exudado; la leche se ve acuosa e incluso con sangre, asimismo la vaca puede presentar signos visibles como fiebre, pulso acelerado, pérdida del apetito y disminución en la producción láctea (Novoa, 2003). Por otro lado, la mastitis subclínica es muy sutil y más difícil de detectar, ya que la vaca no presenta signos y la leche tiene una apariencia normal (Andersen, 2011; Cerón *et al.*, 2002; Sharif y Ahmad, 2007).

La mastitis subclínica es la forma de presentación más importante, por que precede a la forma clínica, es de larga duración, difícil de tratar con antibióticos, reduce radicalmente la producción de leche y las glándulas afectadas pueden servir como

reservorio de microorganismos para infectar a otros animales del hato (Soca *et al.*, 2005; Tang *et al.*, 2006; Hernández y Bedolla, 2008).

El conteo celular somático es uno de los métodos más empleados para diagnosticar la mastitis subclínica, al ser una herramienta útil para conocer un índice de calidad en la leche (Harmon, 1994). Si en la leche se observa un alto contenido de células somáticas, su valor económico será reducido, afectando así la economía de los productores.

La mastitis reduce las ganancias tanto con la pérdida temporal de producción de leche como con la pérdida permanente del potencial de producción. La mastitis es, por mucho, el factor más importante que provoca aumento de los recuentos de células. Cuando los microorganismos causantes de la mastitis entran a la glándula mamaria, los mecanismos de defensa envían grandes cantidades de leucocitos hacia la leche para intentar destruir las bacterias. Si la infección es eliminada, el recuento de células disminuirá. Si los leucocitos son incapaces de eliminar los organismos, se crea una infección subclínica. En este caso son segregados continuamente leucocitos hacia la leche, que originan un recuento elevado de células (Blowey y Edmonson, 1995).

Fase de lactancia

Cuando el secado de la vaca no se hace correctamente es posible que dentro de la primera semana después del parto se presentan conteos celulares elevados. Al final de la lactancia, como disminuye la cantidad de leche, los conteos celulares aumentan en las vacas que tienen mastitis subclínica. El conteo de células somáticas automáticamente tiende a aumentar a medida que la vaca llega al periodo final de la lactancia. A medida que la vaca se seca hay un aumento de células somáticas que pasan a la leche. Además, la vaca produce menos leche, de manera que el número normal de células se concentra en un volumen menor de leche (Carrión, 2001).

Lesiones en la glándula mamaria

Un número de factores pueden causar lesiones en la glándula mamaria o lastimar los cuartos. Entre ellos, el uso inadecuado de máquinas de ordeño y corrales o instalaciones mal diseñadas o en mal estado. En lesiones de esta naturaleza, un

gran número de glóbulos blancos está presente, lo que resulta en un recuento aumentado de células somáticas (Blowey y Edmonson, 1995).

Variación fisiológica

En ciertos días del mes se pueden registrar variaciones en el recuento individual de la vaca debido a procesos fisiológicos. Por ejemplo, el ligero aumento en el recuento de células somáticas que se puede observar en la vaca en celo (Saran y Chaffer, 2000).

Variaciones diarias y de temporada

En la ordeña de la tarde, los recuentos de células tienden a ser más elevados que en la ordeña de la mañana. Esto es debido en parte al intervalo más corto entre ambos ordeños y a la producción de menor cantidad de leche que se traduce en un efecto de concentración. En verano, los recuentos tienden a ser más elevados que en invierno, aunque no se sabe con certeza la causa de esto (Blowey y Edmonson, 1995).

Frecuencia de ordeña

Las vacas que se ordeñan de manera intermitente hacia el final de la lactación tendrán recuentos de células incrementados en gran manera, aún en ausencia de infección subclínica (Blowey y Edmonson, 1995).

Estrés

Cualquier acontecimiento que produzca estrés, como el estro (época de celo), la enfermedad, entre otras, pueden influir en el recuento de células. Además de aumentar el número de leucocitos en la sangre, con frecuencia existe una disminución de la producción de leche que causa un efecto adicional de concentración (Saran y Chaffer, 2000).

Cantidad de cuartos o vacas afectadas

Si bien el estado infeccioso es el factor más importante que aumenta el recuento celular somático de la vaca, cuanto mayor es la cantidad de vacas afectadas mayor será el recuento celular en el tanque (Saran y Chaffer, 2000).

Recuento de células somáticas a nivel de hato

El monitoreo de las células somáticas puede hacerse individualmente en cada vaca o por muestreo de la leche del tanque receptor. La diferencia entre ambos casos es que en el primero, se puede conocer el estado de salud de un animal determinado; mientras que para el segundo caso sólo podrá derivarse información del estado de salud promedio de todo un hato (Blowey y Edmonson, 1995; Cabrera, 1962).

Esta técnica muestra el nivel de infección en que se halla en el hato y con ello se podrá aplicar medidas preventivas para bajar ese nivel. El nivel de células somáticas como medida normal es de 200,000 células/mL de leche de una muestra del tanque del establo, arriba de este número se considera como anormal y es indicativo de que existe una infección en el hato productor (Hernández, 2003).

Un hato con un recuento de menos de 200,000 tendrá poca mastitis contagiosa en comparación con un hato con un recuento de mas de 500,000 la cual tendrá un problema grave; probablemente esto signifique que el 50% del ganado en producción está enfermo de mastitis subclínica, elevando considerablemente las pérdidas económicas. No obstante, los recuentos de células no se relacionan necesariamente con el número de casos clínicos, ya que el problema podría ser debido a un nivel elevado de mastitis ambiental que repercutirá en el recuento de células (Cabrera, 1962; García, 2003).

En los hatos con recuentos de células que aumentan, dos o tres series de resultados bajos pueden indicar que el problema ha desaparecido. En algunos casos, es posible que éste sea el caso, ya que la vaca o vacas han sido secadas o vendidas. Sin embargo, en la mayoría de los casos solo se trata de un descenso pasajero que se elevará de nuevo (Blowey y Edmonson, 1995; Cabrera, 1962).

El fundamento del análisis de leche del tanque es detectar, por medio de diversas técnicas, la presencia de grupos bacterianos que provienen de diversas fuentes, así como determinar el nivel de infección mastítica del hato. Esto permite corregir prácticas de manejo para controlar la contaminación bacteriana e implementar las medidas de control de mastitis más adecuadas, de acuerdo con el organismo patógeno prevalente. Desde el punto de visto sanitario se utilizan dos pruebas:

- ❖ **Conteo de células somáticas:** indica tanto el nivel de la mastitis existente en el hato, como la calidad de la leche producida. Si bien un recuento de células somáticas elevado es indicativo de un alto número de vacas infectadas en el hato, no es posible determinar a partir de esta prueba cuantas vacas están infectadas y que organismos patógenos de mastitis prevalecen en el hato

- ❖ **Cultivo en agar sangre:** se utiliza para detectar patógenos de mastitis. Tanto *Staphylococcus aureus* como *Streptococcus agalactiae* provienen de la glándula y no son resultado de contaminación externa. Otros patógenos, como los estreptococos ambientales (considerados genéricamente como *Streptococcus* “no” *agalactiae*) pueden provenir tanto de la glándula mamaria como de contaminación externa (Calvinho *et al.*, 2005).

Si los recuentos de células del hato son muy elevados a corto plazo sólo se pueden reducir mediante la eliminación selectiva despiadada de los animales responsables del aumento. Sin embargo, a largo plazo, es improbable que se resuelva el problema subyacente de la mastitis (Blowey y Edmonson, 1995; Cabrera, 1962).

En general, se recomienda hacer un análisis mensual para seguimiento de las medidas higiénicas y de prevención de mastitis implementadas en el establecimiento. Sin embargo, en determinados casos podrá ser necesario recolectar muestras por dos o tres días seguidos, ya que algunos patógenos causantes de mastitis presentan variaciones diarias en el índice de eliminación (Calvinho *et al.*, 2005).

Usos del conteo de células somáticas a nivel hato

- Monitorear la prevalencia de mastitis subclínicas en el hato, especialmente aquellas que son infecciosas.
- Evaluar la severidad y duración de las infecciones en forma individual por vaca.
- Determinar si a nivel hato la situación mejora o empeora.
- Clasificar si inicialmente el caso es infeccioso, ambiental o ambos.
- Evaluar las prácticas de pre y post parto.
- Identificar vacas problema (Acevedo, 2005).

Recuento de células somáticas de una vaca individual

Los recuentos de células de una sola vaca constituyen la mejor manera de identificar las vacas con recuentos elevados de células. Los recuentos individuales de células se calculan a partir de una muestra mixta de los cuatro cuartos. A esta muestra también se le puede calificar de compuesta. Los recuentos de células de toda la glándula aluden a los resultados de cada uno de los cuartos (Blowey y Edmonson, 1995; Cabrera, 1962).

Una medida importante para conocer el estado de salud de la glándula mamaria y su calidad en leche es la comparación a nivel de cuartos de la vaca (Cuadro VI)(Wolter *et al.*, 2004).

Cuadro VI. Comparación del conteo de células somáticas por cuarto.

Cuarto	Células / mL de leche
Delantero derecho	45,000
Trasero derecho	160,000
Delantero izquierdo	38,000
Trasero izquierdo	53,000

Con el fin de obtener el provecho máximo, las vacas deben de ser muestreadas con regularidad de modo que pueden ser estudiados los recuentos medios en vez de los resultados individuales únicamente. Un solo recuento elevado de células indica el estado actual de infección. Sin embargo, los recuentos de los exámenes posteriores pueden ser bajos (Blowey y Edmonson, 1995; Cabrera, 1962).

El análisis del conteo de células somáticas en el estado de cada vaca debe verse como una aproximación al origen de la infección. Es necesario examinar tres cuentas consecutivas para la toma de una decisión definitiva. Los hatos bien manejados pueden mantener un conteo de menos de 200,000 células/mL para un 90% del hato, mientras que el 5% restante en sus tres lecturas consecutivas tendrán un conteo de mas de 200,000 células/mL; éstas serán por consiguiente las vacas que están aportando la infección (Bradley y Green, 2005).

Idealmente, se deben examinar muestras todos los meses. Antes de tomar cualquier medida, se deben de tener en cuenta el promedio de los resultados de los tres meses anteriores junto con el promedio de los recuentos de la lactación. Cuando el recuento de células a nivel hato aumenta, también aumenta el porcentaje de vacas con recuento individual elevado (Blowey y Edmonson, 1995; Cabrera, 1962).

Métodos para realizar el conteo de células somáticas

Existen varios métodos para realizar el conteo de células somáticas (CCS): físicos, químicos y biológicos, entre ellos difieren en sencillez, confiabilidad y costo; lo importante es seleccionar el que mejor se ajuste a las necesidades y posibilidades de cada explotación, pero sí es conveniente realizar el conteo de células somáticas como prevención a enfermedades y protección a la inversión que se tiene (Pérez *et al.*, 2005).

Observación de la leche y de la glándula mamaria y palpación de la glándula

En la mastitis subclínica, la glándula mamaria de la vaca permanece aparentemente sana; la leche que produce, a simple vista, es una leche normal, pero

con una infección incipiente que puede estar dañando el tejido glandular y provocando por lo tanto una alteración en la leche que ésta produce (Pérez *et al.*, 2005).

La infección puede provocar inflamación de uno o varios cuartos, aumento de la temperatura en el área afectada, así como enrojecimiento de la zona y dolor. Estos eventos provocan que el sistema inmune del animal actúe tratando de aliviar el problema, además de lograr la mayoría de las veces mantener la infección únicamente en el área afectada sin alterar otros órganos o sistemas del animal. Cuando se encuentran todos o algunos de los síntomas enumerados se puede interpretar como un caso de mastitis clínica; además, se encuentran cambios importantes en la leche que produce el tejido afectado. Estos cambios pueden consistir en alteración del color, aparición de grumos, coágulos sanguinolentos, coágulos con pus, o una leche acuosa, entre otros (Wolter *et al.*, 2004).

Pruebas físicas

Éstas sólo son útiles cuando la mastitis ya está avanzada y no detectan mastitis subclínica. Dentro de estas se encuentran las siguientes: la prueba de la escudilla de ordeño, prueba del paño negro y la taza probadora (Charles, 1984).

Prueba de la escudilla de ordeño

Para leches anormales, se recogen estas sobre un tejido negro extendido encima de una escudilla, los grumos se hacen así muy visibles (Charles, 1984).

Prueba del paño negro

Ésta se realiza durante la preparación de la vaca para la ordeña. Consiste en la detección de grumos en la leche haciendo pasar los primeros chorros a través de una malla negra o bien utilizando una cubetilla especialmente diseñada para eso. Es recomendable realizar este procedimiento en todos los ordeños ya que además de detectar leche anormal, se eliminan bacterias que normalmente se encuentran en mayor cantidad en estos primeros chorros y además se estimula el ordeño de la leche (Pérez, 1986).

Taza probadora

Se examinan los primeros chorros de leche de cada ordeño sobre un recipiente de fondo oscuro. Los coágulos, escamas, hilos, materia fibrosa, secreciones acuosas, o color anormal indican que la leche no es normal y que hay posibles problemas. En la mastitis crónica la leche no tiene apariencia visible anormal en todos los ordeños (Carrión, 2001).

Pruebas químicas

Dentro de las pruebas químicas se encuentran: la conductividad eléctrica de la leche, papel indicador de mastitis y la prueba de Whiteside. Respecto a la prueba de conductividad eléctrica (PCE), el procedimiento químico es muy variable y hasta cierto punto subjetivo por lo que no es recomendable como prueba única (Pérez et al., 2005).

Conductividad eléctrica de la leche

La Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) se ha utilizado como un indicador de la mastitis durante la última década; se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor contenido electrolítico especialmente iones de sodio y de cloro y se ha desarrollado como un método para monitorear el estado de la mastitis en la vaca. Se le encuentra como parte de algunos equipos de ordeño computarizados dentro de las salas de ordeño, así como también en forma de medidores portátiles, lo que permite el monitoreo individual por cuarto (Medina y Montaldo, 2003; Norger *et al.*, 2004).

Dicha técnica es importante porque mide la lesión, como es el caso del recuento celular. Sin embargo, sus limitaciones probablemente restringen su uso a vacas de producción elevada que se mantienen en rebaños pequeños, o en laboratorios con auto analizadores (Radostits et al., 2002).

Papel indicador de mastitis

El método consiste en un papel sobre el que se hace caer directamente del pezón algunas gotas de leche, se consideran sospechosas las leches que dan una

coloración correspondiente a un pH igual o superior a 7. La prueba descubre aproximadamente el 50% de las leches infectadas (Charles, 1984).

Prueba de Whiteside

Se mezcla la leche con una solución de NaOH al 4% lo que ocasiona que la leche se precipite formando grumos que son visibles. Los grumos serán más grandes conforme la leche contenga mayor número de células somáticas. Para hacer más visible la reacción es conveniente usar una placa de acrílico negra que puede tener dibujada 4 cuadros de 3cm x 3cm, uno por cada cuarto (Ávila, 1984; Pérez, 1986).

Pruebas biológicas

Dentro de las pruebas biológicas se encuentran: la prueba de California para mastitis, prueba de Catalasa, prueba de Wisconsin, prueba de CAMP y el monitoreo de células somáticas, así como el diagnóstico bacteriológico por los métodos de aislamiento, cultivo, tinción, bioquímica e identificación (Pérez et al., 2005).

Prueba de California para Mastitis (CMT)

La Prueba de California para Mastitis (CMT, por sus siglas en inglés) ha sido empleada durante décadas y sigue siendo la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en el ganado bovino lechero (Morresey, 1999; Radostits et al., 2002; Medina y Montaldo, 2003; Erskine, 2001; Bedolla y Castañeda, 2004).

Es una prueba sencilla que es útil para detectar la mastitis subclínica por valorar ampliamente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de los parámetros comunes se considera sospechoso (Ávila, 1996; Ávila et al., 2001; Barkema et al., 1997).

La prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquil-aril 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

masa gelatinosa. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto, mayor será la formación de la gelatina, traduciéndose en la 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 (Smith 1990; Saran y Chaffer, 2000; Medina y Montaldo, 2003).

Los resultados se leen como Negativos, Traza (sospechoso), 1+, 2+ y 3+, según la cantidad de formación en la muestra (Cuadro VII)(NMC, 1999).

Cuadro VII. Grado de afección en base a células somáticas/mililitro en la prueba de California.

Reacción	Células somáticas por mililitro de leche
Negativo	0-200,000
Traza	150,000-500,000
Grado 1	400,000-1,500,000
Grado 2	3,000,000-5,000,000
Grado 3	Más de 5,000,000

Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT)

La Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT), fue diseñada para el uso en el laboratorio, y es utilizada para estimar el contenido de células somáticas de muestras de leche fresca mezclada o leche de tanques de enfriamiento, así como para muestreo de vacas individuales. Se utiliza una solución similar a la que se emplea con la prueba de California, pero en contraste con esta última, los resultados se miden cuantitativamente dependiendo de la viscosidad, no cualitativamente o de estimarla de manera empírica como en la CMT (Fernández, 1997; NMC, 1999; Bedolla y Castañeda, 2004).

La técnica consiste en utilizar un tubo graduado en milímetros en donde se depositan 2 ml de leche y una mezcla de 2 ml de reactivo para CMT con agua destilada (1:1) ambas a temperatura ambiente. Enseguida se agita durante 10 segundos, horizontalmente y de izquierda a derecha. Se deja reposar 10 segundos y posteriormente se invierten los tubos durante otros 10 segundos. Una vez transcurrido el tiempo, se procede a realizar la lectura en el tubo por debajo de la espuma que se forma. Los resultados se relacionan con la escala graduada en mililitros del tubo y su valor de células somáticas, empleando para su interpretación una tabla específica para la prueba (Cuadro VIII) (Fernández, 1997).

Los rebaños con una puntuación baja entre 3 y 12 están en condiciones buenas a regular, mientras que los rebaños con puntuaciones superiores a 12 requieren de atención inmediata (Carrión, 2001).

Monitoreo del conteo de células somáticas

Con el registro ordenado de los resultados de las pruebas de monitoreo mensual de vacas individuales se proporciona información muy útil para el manejo del hato para el ganadero y el veterinario. Aunque estas pruebas de monitoreo no diagnostican la causa o tipo de infección o si hay una lesión presente, si alertan al ganadero y al veterinario de que un problema se está desarrollando, por lo que se debe poner mucha atención al respecto (Fernández, 1997; Bedolla y Castañeda, 2004; Pérez et al., 2005).

Métodos de conteo celular electrónico

Los métodos electrónicos tienen en la actualidad una aplicación universal, sobre todo en laboratorios de control lechero o dedicados al diagnóstico o investigación de la mastitis, utilizándose aparatos de recuentos celulares como el Fossomatic (Foss Electric, Dinamarca) y el Counter Coulter (Coulter, Inglaterra) (Saran y Chaffer, 2000; Bedolla y Castañeda, 2004).

Cuadro VII. Interpretación de la prueba de Wisconsin para Mastitis.

Wisconsin (mlilitros)	Conteo celular somático	Pérdidas de producción
3	140,000	
4	165,000	5%
5	195,000	
6	225,000	
7	260,000	
8	300,000	8%
9	340,000	
10	380,000	
11	420,000	
12	465,000	
13	515,000	
14	565,000	
15	620,000	
16	675,000	
17	730,000	9-18%
18	790,000	
19	855,000	
20	920,000	
21	990,000	
22	1,055,000	
23	1,130,000	
24	1,200,000	
25	1,200,000	
26	1,360,000	
27	1,440,000	
28	1,525,000	
29	1,610,000	
30	1,700,000	

31	1,800,000	19-25%
32	1,920,000	
33	2,030,000	
34	2,180,000	
35	2,280,000	

(Philpot y Nickerson, 1992).

Método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic) y Counter Coulter

Estos dos aparatos poseen alta correlación con la microscopía óptica, por lo que proporcionan una medida segura en el recuento de células somáticas. Sin embargo, se pueden presentar variaciones en el recuento en las mismas muestras cuando se realizan con los dos aparatos debido a la diferencia de operación de cada uno de ellos. El Fossomatic basa su cálculo en la tinción fluorométrica del material nuclear, mientras que el Counter Coulter cuenta el número de impulsos eléctricos resultantes de las partículas que pasan entre dos electrodos (Djabri et al., 2002). Es decir, cuenta partículas de un diámetro determinado, que para el caso serían las células, pero en el rango de recuento entrarían otras partículas, aumentando ligeramente el valor en comparación con el Fossomatic (Saran y Chaffer, 2000; Bedolla y Castañeda, 2004).

El Fossomatic consiste en el filtrado de una solución de leche mezclada con un detergente (Triton X-100 EDTA) a través de una membrana con poros finos. Un procedimiento colorimétrico basado en la reacción con el ADN de las células es entonces utilizado para determinar el contenido de ADN que está relacionado directamente con el número de células presentes en la muestra inicial (Djabri et al., 2002; Bedolla y Castañeda, 2004).

Su procedimiento es el siguiente: Se coloca una muestra de leche de 5 mL de leche a 40° C. En el Fossomatic se tiñen las células somáticas con un colorante fluorescente para obtener una reacción solo con el ADN de las células. Es por eso que las partículas sucias y los glóbulos de los lípidos no se suman al número de las células somáticas. La muestra pasa frente a una luz especial y un detector registra cada célula somática. Entre cada muestra el aparato limpia su sistema de flujo para evitar el efecto del arrastre de una muestra a otra. Todas estas funciones son automáticas (Carrión,

2001). En síntesis, se puede decir que el Fossomatic es un contador específico de ADN basado en un principio óptico de fluorescencia. Debido a que el bromuro de etidio penetra en la célula y forma un complejo fluorescente con el ADN nuclear, cada célula produce un pulso eléctrico que se amplifica y se registra (Martínez et al., 2003).

Pruebas bacteriológicas

Los cultivos en el laboratorio son necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico. La fidelidad de los resultados de laboratorio depende de los cuidados sanitarios que se tengan durante la toma de muestras y su manipulación posterior. Los procedimientos bacteriológicos son esenciales para la selección de los agentes terapéuticos que tienen especificidad para el germen presente (Brown et al., 1969; Kirk y Mellenberger, 1995).

Control de recuento de células somáticas

Para obtener bajos recuentos de células somáticas hay dos puntos claves a considerar: Limpieza (desde la vaca y su medio ambiente, hasta el manejo de la leche) y en segundo lugar un rápido enfriado de la leche a bajas temperaturas inmediatamente después del ordeño (Bradley y Green, 2005).

Los conteos de células somáticas altos en el hato indican que hay vacas con mastitis. Es muy importante identificar la bacteria que la causa antes de intentar una terapia, decisiones de descartar animales o cambios en las prácticas de ordeño. Primero hay que determinar si los microorganismos son ambientales o contagiosos y por lo tanto transmisibles de vaca a vaca. Hay algunos otros microorganismos que no se pueden clasificar en estos dos grupos; estos son llamados oportunistas. En segundo lugar se tiene que estimar cuándo se infectó la vaca.

Si el hato está infectado y tiene vacas con mastitis subclínica que está causando baja producción y baja calidad de leche, se tienen que realizar las siguientes instrucciones:

1. Determinar el tipo de infección en la exploración; analizar en un laboratorio una muestra de leche a granel.
2. Usar la prueba de california para detectar problemas en las vacas.
3. Consultar a un médico veterinario para determinar el método de tratamiento más eficaz contra cualquier microorganismo específico.
4. Si la leche está a punto de degradarse debido a un alto recuento celular, secar las vacas en el periodo final de la lactación.
5. Administrar tratamiento a todas las vacas en producción que tienen infección clínica. Las infecciones estreptocócicas son mucho más fáciles de controlar durante la lactancia que las infecciones estafilocócicas.
6. Se recomienda un tratamiento de secado en todas las vacas. Pero hay que cerciorarse que todas las vacas estén libres de mastitis clínica antes de secarlas.
7. Separar las vacas con mastitis crónica.
8. Administrar tratamientos con un producto preparado comercialmente. Los remedios caseros a menudo se contaminan, pueden presentar incompatibilidad física y/o química y no tener un período establecido y seguro para suspender el medicamento.
9. Administrar la serie completa de tratamientos recomendados. Si los tratamientos se suspenden antes de lo recomendado, se puede calmar la infección, sin exterminarla.
10. Leer la etiqueta y observar las instrucciones acerca de las veces que hay que desechar la leche y tiempo de suspensión del medicamento antes de sacrificar la vaca.
11. Es de suma importancia evitar brotes de mastitis por medios preventivos. Simplemente se ejecutan los principios recomendados en un programa para el control de la mastitis (Carrión, 2001).

Pruebas realizadas

Investigación de la presencia de beta lactámicos en leche cruda

Esta prueba está basada en el crecimiento rápido del *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* y la producción de ácido el cual cambia el color del medio de cultivo de púrpura de bromocresol a amarillo en ausencia de inhibidores beta-lactámicos, y en presencia de inhibidores, el color púrpura permanece.

Este microorganismo se ha elegido por su alta sensibilidad a la mayoría de los antibióticos y especialmente a la penicilina. El método es aplicable para detectar y confirmar niveles de residuos beta lactámicos iguales o mayores a 0.005 UI/mL en leche cruda y leche procesada.

Prueba de determinación de células somáticas

Existen diversos procedimientos de análisis de la leche enfocados a determinar la calidad de la misma, entre estos están el conteo de leucocitos y células epiteliales (Células Somáticas). El número y la clase de las células somáticas presentes en la leche varían en respuesta a condiciones ambientales, fisiológicas y patológicas.

De forma normal hay un reducido número de leucocitos en la glándula mamaria y en la leche; pero cuando se lesiona el tejido glandular pueden aparecer en cantidades elevadas.

Según la Norma NMX-F-700-COFOCALEC-2004, la leche según el contenido de células somáticas se clasifica en (Cuadro VIII):

Cuadro VIII. Clasificación de la leche según la Norma NMX-F-700-COFOCALEC-2004.

CLASE	CONTENIDO / MILILITRO
Clase 1	$\leq 400,000$ CS/mL
Clase 2	401000 a 500000 CS/mL
Clase 3	501000 a 749000 CS/mL
Clase 4	750000 a 1000000 CS/mL

METODOLOGÍA

Detección de beta lactámicos en leche cruda DELVOTEST-SP-NT

Material y Equipo

- Frascos o recipientes para contener las muestras de leche.
- Matraces volumétricos de 100 y 1000 mL verificados.
- Pipetas volumétricas de 10 y 5 mL verificadas.
- Jeringa dosificadora de plástico o micropipeta.
- Puntas de micropipeta.
- Baño de agua con controlador de temperatura a 64 ± 0.5 °C, con termómetro verificado.
- Gradilla o recipiente adecuado para contener las ampollas e introducir en baño maría.
- Tijeras

Reactivos

- *Kit de prueba Delvotest®-SP-NT Ampolletas. DSM Food Specialities:*
Contiene 100 ampollas con medio de agar sólido conteniendo *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, jeringa dosificadora con 100 puntas de pipetas desechables para tomar las muestras y nutrientes para el crecimiento con púrpura de bromocresol. El Kit se guarda en refrigeración de 4-15°C.
- *Buffer* de fosfatos al 1%, pH 6-0 – Disolver 8,0 g de KH_2PO_4 anhidro y 2,0 g de K_2HPO_4 en agua y diluir a 1 L con agua.
- Estándar de referencia de penicilina G potásica con certificado de concentración.
- *Soluciones estándar de penicilina* (Para estándares cuya concentración sea de 1500 UI/g)

Pesar con exactitud 0.0300 g de penicilina-G USP estándar de referencia, disolver y aforar con el buffer pH 6,0 a 1000 mL (0.045 UI/mL). Medir volumétricamente 15, 10 y 5 mL de esta solución y colocarlas por separado en matraces volumétricos de 100 mL, aforar con leche libre de antibióticos a la marca, para obtener soluciones cuya concentración de penicilina sean de 0.006, 0.004 y 0.002 UI/mL respectivamente. Considerar la pureza del estándar para determinar la concentración real de las soluciones estándar. Las diferentes soluciones con el estándar diluido en leche pueden ser distribuidas en tubos pequeños y ser guardados en congelación como máximo seis meses.

- *Leche libre de antibióticos.* Utilizar cualquier leche fluida con un contenido de grasa de 0-3.5% y sólidos totales < del 13%, ésta debe ser verificada y estar libre de inhibidores antes de ser usada como diluyente o como control negativo.

Preparación del kit y muestra

- Se verifica el funcionamiento de cada lote diferente del kit preparando y corriendo en las mismas condiciones que la muestra problema: un blanco (control negativo) y las soluciones estándar de 0.002, 0.004 y 0.006 UI/mL de penicilina como control positivo.

Para el Control Negativo.- Se utiliza agua o leche libre de antibióticos.

- Para cada lote diferente del kit, se confirma el tiempo de respuesta para el desarrollo de color amarillo del control negativo (agua o leche libre de inhibidores) y la permanencia del color púrpura en las ampollas de los controles positivos (con soluciones estándar) al finalizar el periodo de incubación de 3 horas; de no desarrollarse la coloración franca, se lee cada 10 minutos hasta cuantificar el tiempo total necesario para el desarrollo de color en los controles, registrándolo y considerándolo mientras se este utilizando ese número de lote del kit.

- Antes de proceder al análisis, se homogeniza la muestra por agitación e inversión repetida del recipiente que lo contiene, evitando la formación de espuma.

Procedimiento

I. Precauciones generales

- a) Se debe prevenir cualquier tipo de contaminación con sustancias antibacterianas (antibióticos, compuestos de sulfamidas y otros como desinfectantes y detergentes, etc.) ya que esta prueba es extremadamente sensible por lo que se deberá:

- Lavar y secar las manos antes de comenzar la realización de la prueba

- Utilizar una mesa de trabajo limpia.

- b) Para no afectar la calidad de los colores de la prueba durante la lectura de los resultados, hay que evitar:

- Manejar en forma brusca las ampollas, ya que ello haría que el medio de cultivo sólido se desprenda.

- Temperaturas de incubación demasiado altas o bajas así como excesivas fluctuaciones en la temperatura afectan la duración y sensibilidad del análisis.

- c) Condiciones de almacenamiento del Kit.

- El kit debe de ser almacenado en un espacio oscuro, a temperatura de refrigeración a 4 °C en el empaque original, evitando que las ampollas queden en posición invertida.

- No almacenar el kit a temperaturas inferiores a 4 °C ya que implica desprendimiento del agar o formación de burbujas de aire; ni a temperaturas mayores de 15 °C ya que implica disminución de su vida útil.

II. Adición de la muestra de leche.

- Se separan del bloque con unas tijeras el número requerido de ampollas y etiquetas para su identificación. No dañar la lámina de aluminio de las ampollas adyacentes.
- Se abre la ampolla haciendo un pequeño orificio en la lámina del aluminio con la punta de la jeringa (sin quitar el papel aluminio de las ampollas).
- Se coloca una pipeta a la jeringa para cada muestra de leche que se vaya a examinar.
- Se toma 0.1 mL de muestra con la jeringa y se descarga totalmente la muestra de leche en la ampolla previamente marcada, soltando el émbolo de la jeringa lentamente para añadir la leche en línea recta encima del agar. Se tapa la ampolla con cinta o papel aluminio para evitar el agua de condensación del baño de incubación.

III. Incubación de la prueba a 64 ± 0.5 °C.

- Se coloca(n) la(s) ampolla(s) en una gradilla, en un baño maría precalentado previamente a una temperatura de 64 ± 0.5 °C y se incuban durante 3 horas. Se debe de tener cuidado de que las ampollas no floten. La temperatura del agua se controla al nivel de líquido de las ampollas.

IV. Lectura.

- Después de la incubación se procede a retirar las ampollas inmediatamente del baño y se leen los resultados. Se observa cada ampolla lado por lado y a través del agar; se leen los 2/3 inferiores del agar y se registra el color desarrollado: amarillo, amarillo purpúreo o púrpura.

NOTAS:

- *Por cada serie de pruebas que se realice, se incluye 1 control negativo o blanco utilizando agua destilada en lugar de leche o, en su caso, leche libre de antibióticos y correr de igual forma que las muestras problema.*
- *Correr un control positivo con leche (0.004 UI/mL) de acuerdo a la frecuencia de uso del kit.*

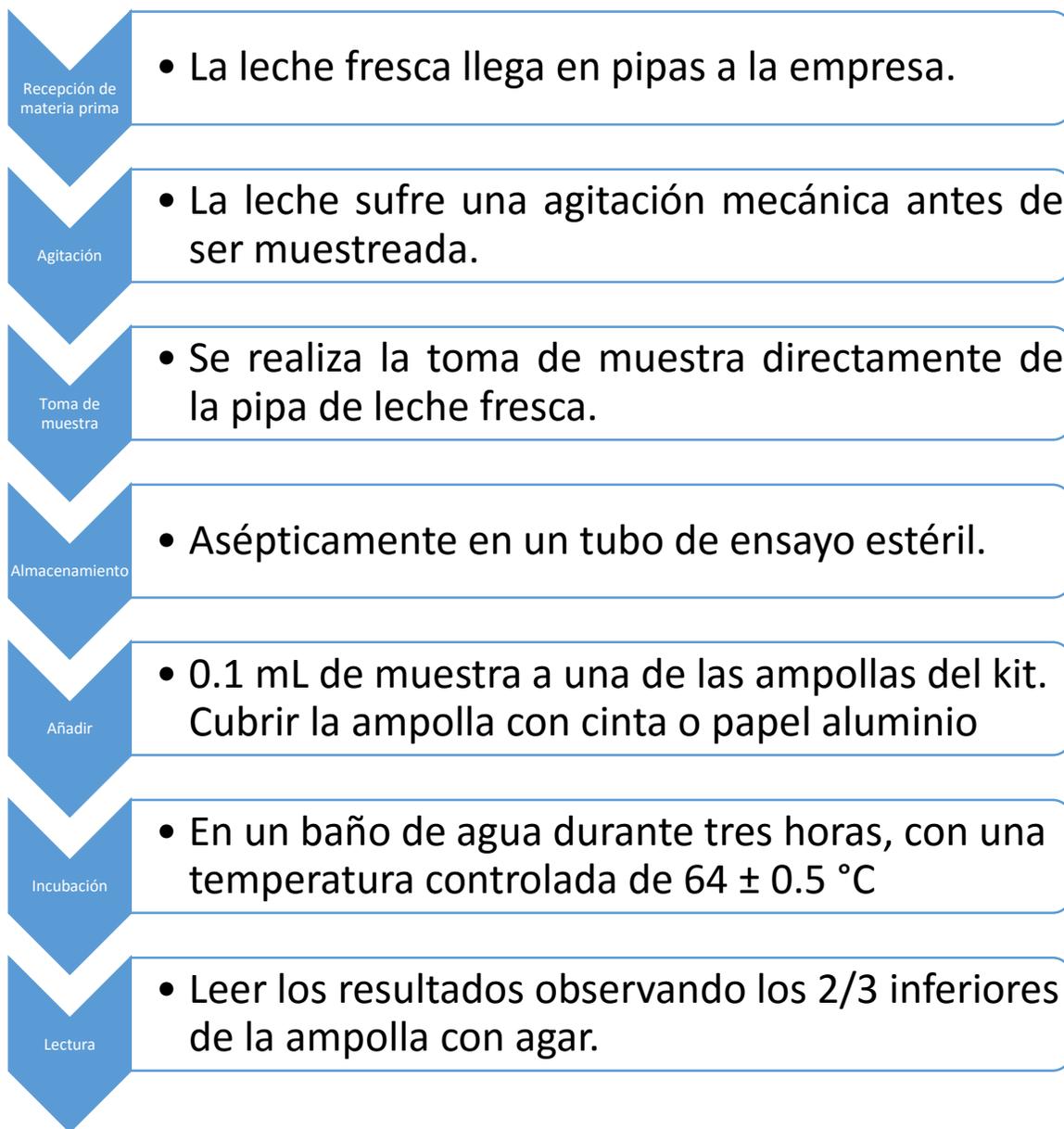


Diagrama 3. Procedimiento para la realización de la detección de beta lactámicos en leche cruda DELVOTEST-SP-NT.

Expresión de resultados:

Prueba positiva o negativa para residuos beta-lactámicos.

Criterios de aceptación

- Un *color amarillo* de todo el medio sólido indica la *ausencia de sustancias antibacterianas* en una concentración inferior a 2 nanogramos/mL (debajo del límite de detección de la prueba).
- Un *color amarillo/púrpura* indica que la *presencia de sustancias antibacterianas*, aproximadamente al límite de detección de la prueba. (En éste tipo de situaciones es necesario repetir la prueba y confirmar el resultado antes de reportarlo).
- Un *color púrpura* indica la *presencia de sustancias antibacterianas* en una concentración por encima del límite de detección de la prueba.

El límite de detección de Delvotest[®] SP-NT, siendo leído a las 3 horas es: para la penicilina G entre 1-2 ng/mL y para sulfadiazina entre 25-50 ng/mL.

NOTAS:

- *Con muestras de leche de animales al final de la lactancia aumenta la posibilidad de interferencias; con frecuencia se tratará de leche con elevado contenido microbiano. Esto puede eliminarse por ebullición de la leche.*
- *Otra posibilidad es la presencia de leche con pH ácido (aprox. 6.0) la cual dará coloración amarilla en el medio sólido, incluso sin crecimiento de *Bacillus stearothermophilus*. En este caso hay que neutralizar primero la leche hasta un pH de 6,7.*

Determinación de células somáticas

La prueba Porta SCC para leche de vaca se utiliza para estimar el nivel de células somáticas en la leche.



La prueba Porta SCC se puede utilizar para:

- Identificar vacas sospechosas.
- Monitorear vacas en tratamiento
- Verificar vacas recién paridas o al secado.
- Monitorear la salud de la ubre.
- Revisar el hato o un grupo de vacas.

Material y Equipo

- Tiras de prueba
- Solución activadora
- Carta de color
- Pipetas
- Tira de calibración
- Lector digital



Figura 2. Equipo para realizar la prueba de conteo de células somáticas

Procedimiento

Se puede realizar una o varias pruebas a la vez. Se identifica la muestra en cada tirilla y envase antes de empezar la prueba.

- Se recoge una muestra de leche en el envase limpio. No es necesario que el envase esté estéril. Hay que escribir la identificación de la muestra en el envase y se mezcla la muestra.
- Se agrega una gota de leche al pocillo (orificio) de la tira, utilizando una pipeta. Dejar que la leche se absorba completamente en el pocillo (orificio).
- Agrega 3 gotas de solución activadora al pocillo (orificio) en la tira.

Detección rápida

- Si el nivel de células es muy alto, el color puede desarrollarse en pocos minutos.
- Esperar 45 minutos antes de utilizar la carta de color o el lector digital.

Después de 45 minutos

- Se estima el número de células somáticas comparando la tira con la carta de color o utilizando el lector digital.

Uso del lector digital

- Se presiona el botón del lector y se espera 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 delante).
- Remover la tira de calibración cuando aparezca un símbolo de una tira con una gota.
- Colocar la tira de prueba (el pocillo abajo y hacia adelante).
- Leer el resultado. Se multiplica el número que aparece por 1,000.000 (por ejemplo: $0.16 * 1,000.000 = 160,000$ células somáticas /mL)

Precauciones

- Lavar y secar los envases antes de usar.
- La prueba no funciona si la leche contiene preservativos (p.e. Bronopol).
- El uso de antibióticos no interfiere con la prueba.
- Analizar la leche a no más de 8 horas de ordeñada.
- Si se tiene la leche en refrigeración, dejar alcanzar la temperatura ambiente antes de usar.
- Usar las tiras a la exposición de la luz solar a una temperatura entre 7°C y 35°C (45°F y 95°F).
- Mezclar la muestra antes de hacer la prueba.
- Al agregar la leche a la tira, no dejar que la pipeta toque el pocillo de la tira.

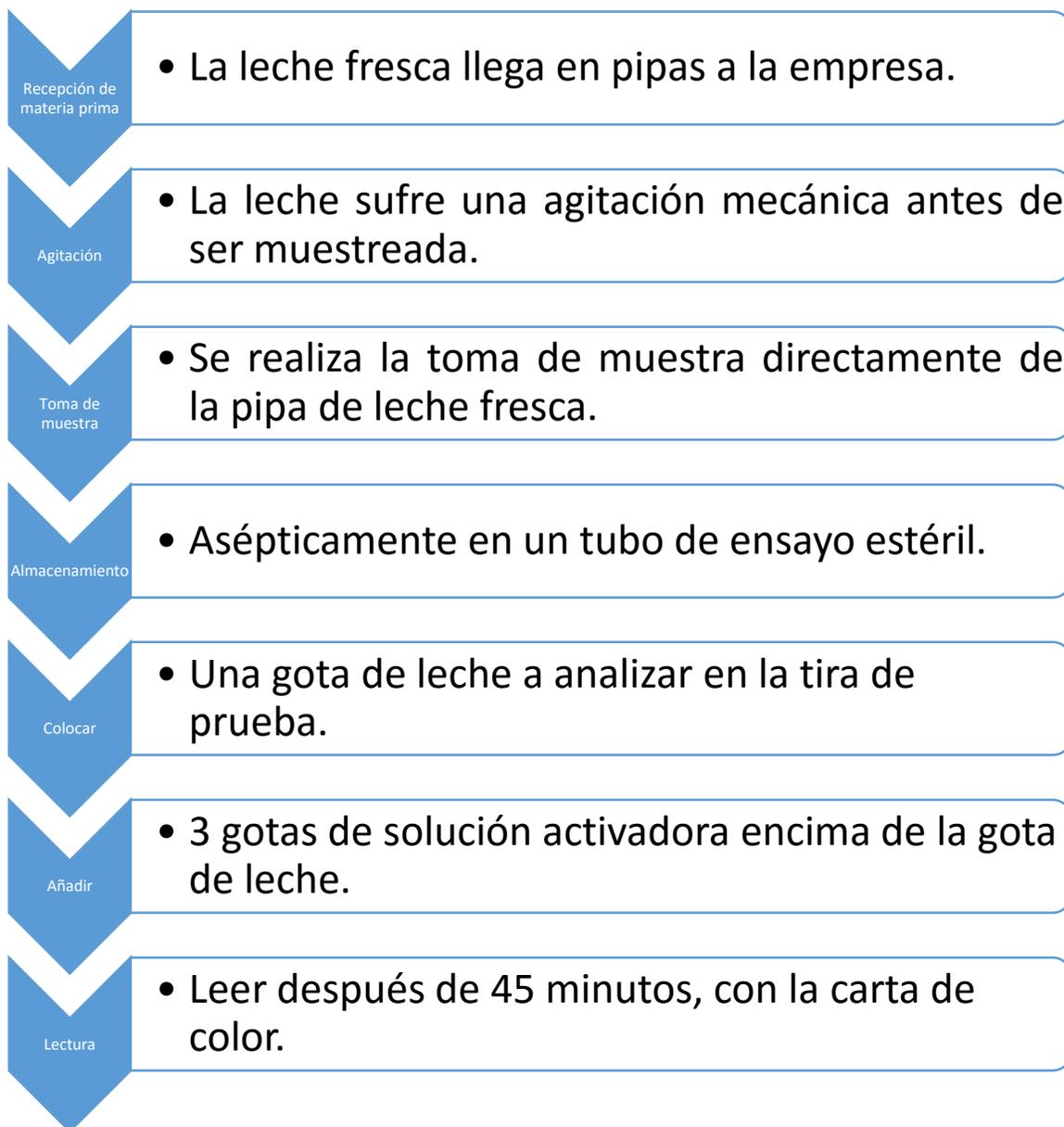


Diagrama 4. Procedimiento para la realización de la prueba de Células Somáticas.

Cabe mencionar que, si el valor de Células Somáticas es muy elevado, la calidad de la leche es mala. Esto se debe a varias razones, la más importante es que la vaca podría presentar la enfermedad llamada mastitis, la cual hace que la vaca proporcione leche de mala calidad. En caso de presentar una cantidad mínima de Células Somáticas, quiere decir que la leche es de buena calidad.

Los resultados obtenidos son reportados en CCS/mL.

RESULTADOS

En el siguiente cuadro se muestran los resultados obtenidos en la determinación de beta-lactámicos de leche fresca por semana con el kit Delvotest® SP-NT.

Cuadro IX. Resultados de las pruebas de beta-lactámicos con Delvotest® SP-NT.

Fecha	Determinación	Producto	Color del indicador	Resultado
24-28 de septiembre 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo
1-5 de octubre de 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo
8-12 de octubre de 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo
15-19 de octubre de 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo
22-26 de octubre 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo
29 de septiembre-1 de noviembre 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo
5-9 de noviembre 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo
12-16 de noviembre 2018	Antibióticos	Leche fresca	Amarillo	Negativo

Se utilizó el método de detección rápida para la determinación de células somáticas en leche fresca con la prueba Porta SCC para leche de vaca, obtenida directamente de las pipas distribuidoras y siempre estando previamente la leche agitada mecánicamente en éstas. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Cuadro X. Resultados de las pruebas de determinación de células somáticas por medio de detección rápida con la prueba Porta SCC para leche de vaca.

Fecha	Determinación	Producto	Lectura	Resultado estimado
22-26 de octubre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	250	250,000 CCS/mL
29 de septiembre-1 de noviembre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	250	250,000 CCS/mL
5-9 de noviembre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	≤ 100	≤ 100,000 CCS/mL
12-16 de noviembre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	250	250,000 CCS/mL
20-23 de noviembre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	≤ 100	≤ 100,000 CCS/mL
26-30 de noviembre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	≤ 100	≤ 100,000 CCS/mL
3-7 de diciembre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	250	250,000 CCS/mL
10-14 de diciembre 2018	Conteo de células somáticas	Leche fresca	250	250,000 CCS/mL

DISCUSION DE RESULTADOS

En base a los resultados obtenidos en la prueba de determinación de beta-lactámicos de leche fresca por semana con el kit Delvotest® SP-NT, se observan resultados negativos; esto es, que la leche fresca obtenida de los distribuidores ajenos a la empresa LICONSA S.A de C.V. está totalmente libre de antibióticos. Cabe resaltar que los resultados se obtuvieron de las determinaciones las cuales se hicieron diariamente durante un periodo de ocho semanas, con el fin de obtener materia prima de calidad para así obtener y liberar al mercado el producto sin defecto alguno, ya que si esto llegara a existir se vería reflejado en la salud del consumidor causándole severos problemas; es por ello que se debe garantizar la inocuidad del producto.

Analizando los resultados de la determinación de células somáticas por medio de detección rápida con la prueba Porta SCC para leche de vaca, podemos observar que la leche que llega de parte de los proveedores tiene un conteo de células somáticas dentro del nivel natural de estos; en algunas muestras la estimación llega a las 250,000 células somáticas/mL, pero de acuerdo a Vázquez en 2005, aún se puede considerar que una leche es aceptable con cifras menores a 400,000 células somáticas por mililitro .

La importancia del conteo de células somáticas en la leche es que podemos conocer si esta es de buena calidad, así mismo, conoceremos el estado de salud del hato al obtener un número elevado de células somáticas.

La glándula mamaria de la vaca puede sufrir daño durante el ordeño debido al medio ambiente, manipulación inapropiada de la ubre, empleo inadecuado de agentes sanitizantes y desinfectantes. La presencia de células somáticas en la leche representa la calidad sanitaria de la vaca de donde se obtuvo la leche.

Las causas por las cuales hay alta presencia de Células Somáticas en la leche son: Mastitis, la ubre de la vaca ha sufrido alguna lesión, estrés, etcétera; pero esto no quiere decir que la leche no es apta para el consumidor, debido a que existe un límite permitido en el conteo de las Células Somáticas las cuales puede tener la muestra. La presencia de un incremento importante del número de estas células dentro del alveolo, es un indicador como respuesta a la infección; aun cuando no han sido detectadas al observar la leche de la vaca.

CONCLUSIONES

La calidad de la leche es la prioridad número uno de la empresa GERENCIA METROPOLITANA NORTE LICONSA, S.A de C.V., no sólo del punto de vista económico, sino también para asegurar que el área de proceso y el consumidor final reciban un producto inocuo, altamente nutritivo y de calidad incuestionable.

Las metodologías empleadas para cada análisis hecho nos garantizan un resultado confiable.

Siempre es deseable obtener resultados negativos en la determinación de antibióticos en la industria láctea para poder lograr mejores resultados en el proceso de productos.

El interés que debe ponderarse para saber obtener leche de alta calidad es la disminución del número de células somáticas, esto significa menos riesgos de problemas de salud para el consumidor.

La empresa hace una correcta aplicación de las buenas prácticas de higiene al momento de realizar los análisis de determinación de leche fresca.

El control de calidad en la producción de leche asegura la obtención de un producto de calidad para beneficio del consumidor.

Una leche de buena calidad es aquella que al realizar la prueba de detección de beta-lactámicos nos arroje un resultado negativo y aquella que arroje un resultado menor a 400,000 ccs/mL. En cambio, la leche se considera de muy mala calidad al obtener resultados inversos en cada una de las pruebas.

El control de la calidad de la leche por medio del conteo de células somáticas e identificación de beta-lactámicos previene el uso de leche de mala calidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, V. M. (2005). Mastitis: afecta la producción y la calidad de la leche. Intervet Ecuador S.A. http://www.intervet.com.ec/Binaries/63_74032.doc. Consulta: [02-12-2018].
- Andersen, S. (2011). Diagnosing intramammary infections: Evaluation of definitions based on a single milk sample. *Journal of Dairy Science*. 94, 250-261.
- Anónimo. (2002). Células somáticas de la leche. Factores que influyen en el conteo celular somático. Artículo invitado en la revista: *Acontecer lechero*. 2 (08): 61-62.
- Armiot, J. (1991). *Ciencia y Tecnología de la leche*. España. Acribia. 77-87 pp.
- Austin, G. (1988). *Manual de procesos químicos de la industria*. Quinta edición. México. McGraw Hill. 952-956 pp.
- Ayadi, M. (2003). Effect of omitting one milking weekly on lactational performances and morphological udder changes in dairy cows. *J. Dairy Sci*. 86, 2352–2358.
- Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam TJ, Beiboer M.L., Benedictus G., Brand A. (1999). Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J Dairy Sci*. 1999 Aug;82(8):1643-54 pp.
- Bedolla, C.C., Castañeda, V.H. (2004). *Métodos de detección de mastitis bovina*. Mimeo. FMVZ-UMSNH. México. 37-42 pp.
- Blowey, R., Edmondson, P. (1995). *Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche*. Zaragoza. Acribia. 208 pp.
- Bradley, A. y Green, M. 2005. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. *In practice*. 27: 310-315.
- Brown, R.W., Morse, G.E., Newbould, S. H. F. y Slanetz, L. W. (1969). *Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine mastitis*. Nacional mastitis council, Washington, D.C.
- Bruckmaier, R.M., Blum, J.W., Ontsouka, C.E. (2004). Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. *Veterinární medicina*. República Checa. 9(8):283-290 pp.

- Cabrera, V. 1962. Apuntes dictados en la material propedéutica médica. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México. 234 pp.
- Calvino, L. F., Canavesio, V. R., y Aguirre, N. P. 2005. Análisis de leche del tanque de frío: una herramienta para detectar problemas y proponer soluciones http://rafaela.inta.gov.ar/productores97_98/p73.htm. Consulta: [02-10-2018].
- Carrión, G.M. (2001). Principios básicos para el control de la mastitis y el mejoramiento de la calidad de leche. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Michoacán, Departamento de Recursos Naturales Programa de Apoyo a la Ganadería Regional. 28-30 pp.
- Cerón M. M., H. Tonhati, J. Duarte, J. Oliveira, B. M. Muñoz y G. H. Jurado. 2002. Factor affecting cell counts and their relation with milk and milk constituent yield in Buffaloes. *J. Dairy Sci.* 85 (11):3885-2889
- Chacón, A., Vargas, C., Jiménez, M. 2006. Incidencia en el conteo de células somáticas de un sellador de barrera (yodo-povidona 0,26%) y un sellador convencional (yoduro 0,44%). *Agronomía Mesoamericana* 2:207–212 pp.
- Charles, A. (2001). Ciencia de la leche. Décima tercera reimpresión. México Editorial Continental. 303-315 pp.
- Cunningham, J.G., (1999). Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana. 2a ed. 458-464 pp.
- Curbelo R. J. E. 2007. Relación entre los recuentos de células somáticas, prácticas de manejo y patógenos causantes de mastitis en hatos lecheros de Puerto Rico. Tesis de maestría. Universidad de Puerto Rico. <http://grad.uprm.edu/oeg/TesisDisertacionesDigitales/IndustriaPecuaria/> Consultado en noviembre de 2018.
- Djabri, B., Bareille, N., Beaudeau, F., Seegers, H. (2002). Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *EDP Sciences. Vet. Res.*, 33 4 (2002) 335-357 pp.
- Erskine, R. J. (2001): Food Animal Production Medicine, 3rd Edition, W.B Saunders Company, pp. 397-435
- Fernández, J.F. (1997). Corinebacterias como agentes responsables de mastitis subclínicas. In XVI Congreso de la Sociedad Española de Microbiología (pp. 14-17)
- Garcia, A.D. 2004. Células somáticas y alto recuento bacteriano. ¿Cómo controlarlo? *J. Dairy Sci.*: 4031-5.
- Garcia, S. R. 2003. Células Somáticas una advertencia sin darnos cuenta. *Holstein de México.* 34 (8): 27-28.
- Gürtler, H., Schweigert F. J. (2005). Fisiología de la lactación. En: Engelhardt V. W., Breves G., Editores. Fisiología veterinaria. 1ª edición. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 603-624 pp.

- Harmon, R.J. (1994). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 77 (7):2103-12.
- Hernández, J. M., Bedolla, J.L. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. España. vol. IX, núm. 9, agosto, 2008*, 1-34 pp.
- Hernández, V. M. A. (2003). Tips en vacas lecheras, como contribuir a la utilidad neta de la empresa lechera. *Holstein de México*. 34 (2): 18-21 pp.
- Hurley, W.L., Morin, D.E. (s.f.p.). Effects of Mastitis on the Volume and Composition of Colostrum Produced by Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*. 81 (5): 1291–1299 pp.
- Jawetz, E. (1977). *Manual de microbiología moderna. El manual moderno. 7ª ed. México*. 125-136 pp.
- Kirk, J., Mellenberger, R. (1995). La mastitis: una visión general. *Illinois-Iowa, Dairy Handbook, SUA-ED, FMVZ, UNAM. México*, 43-45.
- Kirk, R.S. (1996). Composición de los alimentos de Pearson. Segunda edición. México. Editorial Continental. 604-611 pp.
- Kitchen, B.J. (1981). Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research*, 48, 167-188 pp.
- Leslie, H. (1991). *Análisis moderno de los alimentos. 2ª reimpresión. España. Editorial Acribia*, 150-151 pp.
- Luquet, F.M. (1991). *Leche y productos lácteos. 3ª edición. España. Editorial Acribia*, 131-135 pp.
- Marcello, P. (1970). *Diccionario de alimentación animal. 3ª edición. España. Editorial Acribia*, 89-91 pp.
- Makovec, J. A., Ruegg, D. P. L. (2003). Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples (1994–2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222(11), 1582-1589 pp.
- Martínez, J. R., Gonzalo, C., Carriedo, J. A. y San Primitivo, F. (2003). “Effect of Freezing on Fossomatic Cell Counting in Ewe Milk”, *J. Dairy Sci.* 86:2583-2587.
- McManaman, J., Neville, M. (2003). Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(5):629-41 pp.
- Medina, C. M. y Montaldo, V. H. (2003). El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para mastitis. *IV Congreso Nacional de Control de Mastitis. Aguascalientes, Aguascalientes. México*. 21-23 pp.
- Meglia, G.E., Mata, H.T. (2001). Mecanismos específicos de defensa, con referencia a la glándula mamaria de los bovinos productores de leche.

- Méndez, V., Osuna, L. (2007). Caracterización de la calidad higiénica y sanitaria de la leche en algunos sistemas productivos de la región del alto del Chicamocha (Departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria*, (14), 61-83 pp.
- Mollereau, H. (1964). *Vademécum del veterinario*. 2ª edición. España. Editorial Gea, 64-66 pp.
- Moreno M.; Silva G.; Calderón M. W. (2006). *Guía de práctica: Microbiología General*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Facultad de Ciencias Biológicas. Lambayeque.
- Morresey, P. R. (1999). Bovine Mastitis. In: Howard JL, Smith RA, editor. *Current Veterinary Therapy 4 Food Animal Practice*. Philadelphia, Penn: WB Saunders Co. 563-568 pp.
- NMC (1999). *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. National Mastitis Council, Inc. Madison, WI
- NMX-F-700- COFOCALEC-2004 Sistema Producto Leche – Alimento – Lácteo – Leche cruda.
- NOM-155-SCFI-2003, Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado-denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- Norger, E.; Hogeveen, H.; Korsgaard, I.R.; Friggens, N.C.; Sloth Khmn, D.; Lovendahl, P. (2004). Electrical Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. *J. Dairy Sci.* 87, 1099-1107 pp.
- Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.
- Novoa R. (2003). Evaluación epizootiológica y económica de la mastitis bovina en rebaños lecheros especializados de la provincia de Cienfuegos. Tesis de Magíster. Habana, Cuba: Universidad Agraria de la Habana «Fructuoso Rodríguez Pérez». 116 pp.
- Park, C. J., Jacobson, N. L. (1999). *Fisiología de los animales domésticos de Dukes*. Tomo, 2, 711-727 pp.
- Palma J., Alderovich L., Espinoza F., Plaza N., Díaz Y., Aragort W., Bracamonte M., Candelo N., Carrillo C., Guillén A., Hidalgo V., León E., Mireles M., Molina M., Morales G., Obando C., Pérez N., Pino L., Roa N. (2007). Situación de la ganadería doble propósito en la altiplanicie de los llanos centrales. Venezuela, Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Disponible en línea. http://avpa.ula.ve/docuPDFs/jornada_leche_III/situacion_ganaderia.pdf. Consultado en noviembre de 2018.
- Pérez, D. M. (1986). *Manual sobre ganado productor de leche*. Ed. Villicaña S.A. México. 710-744 pp.
- Pérez, C. G., Bedolla, C. C., Castañeda, V. H. (2005). Importancia del conteo de células somáticas en la cría sustentable de vacas productoras de leche. *Sustentabilidad*. Vol. III, No 1. Universidad de Guadalajara, Jalisco., México. 86-94 pp.

- Philpot, W. N. (2001). Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que la afectan. III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. León Guanajuato. México. 26 pp.
- Philpot, W. N., Nickerson, S. C. (1992). Mastitis: El contra ataque. Publicado por Surge Internacional. Naperville, IL. U.S.A. 13-15 pp.
- Piñeros G. (2005). La calidad como factor de Competitividad en la cadena láctea Caso: cuenca lechera del alto Chicamocha (Boyacá) Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. URL: <http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/gipep/libro%20calidad%20leche.pdf>. Consultado en noviembre de 2018.
- Prin-Mathieu, C. (2002). Enzymatic activities of bovine peripheral blood leukocytes and milk polymorphonuclear neutrophils during intramammary inflammation caused by lipopolysaccharide. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 9(4), 812-817 pp.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C., Hinchcliff, K. W. (2002). *Medicina Veterinaria. Mastitis Bovina*. 9ª ed. Vol. I. Ed. Mcgraw-Hill. Madrid. 728, 810 pp.
- Saran, A., y Chaffer, M. (2000). Mastitis y calidad de la leche. Ed. Inter-Médica. Buenos Aires. 14-16, 31-42 pp.
- Schmidt, G. H. (1971). *Biología de la lactación*. Editorial Acribia. España, 294-295 pp.
- Sharif, A., Ahmad, T. (2007). Effect of severity of sub-clinical mastitis on somatic cell count and lactose contents of buffalo milk. *Pakistan Veterinary Journal*, 27(3), 142 pp.
- Sharif, A., Muhammad, G. (2008). Somatic cell count as an indicator of udder health status under modern dairy production: A review. *Pakistan Vet. J*, 28(4), 194-200 pp.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP-SAGARPA). (2013). Anuario estadístico de la producción agropecuaria.
- Smith, B. P. (1990). *Large Animal Internal Medicine*. St Louis, Missouri: The C.V. Mosby Co. 4-8 pp.
- Soca, P. M., Suárez, F. Y. E., Soca P. M., Pestano, O. M., Puron, G. C. A. (2005). Evaluación epizootiológica de la mastitis bovina en dos unidades ganaderas de la Empresa Pecuaria “El Cangre”. *RedVet*. Vol. VI, N° 8.: 1-10 pp.
- Tang P. J., Alvarado S. A., Ledesma B. V. (2006). Evaluación de eficacia de una suspensión intramamaria sobre la base de Cefalexina, Gentamicina, Dexametasona y Vitamina (CefaMilk®) en el tratamiento de infecciones intramamarias en vacas lecheras Holstein. Universidad Nacional Mayor de San Marcos de la Facultad de Medicina Veterinaria. 1-10 pp.
- Trejo, F. (2004). Identificación de antibióticos en leche fresca. Universidad Tecnológica del Valle del Mezquital
- Westweber, J. G. (1993). *Staphylococcus aureus. Mastitis: part 1 virulence, defense mechanisms establishment of infection*. Fisiopatología de la ubre. UNAM, México. pp. 1561-1569 pp.

- Wolter, W., Castañeda H., Kloppert, B y Zschöck, M. (2004). Mastitis bovina. Prevención, diagnóstico y tratamiento. Editorial Universitaria. Universidad de Guadalajara. México. 12-37 pp.
- Wolter, W., Kloppert, B. (2004). Interpretación de los resultados del conteo celular y de la aplicación de la terapia. Avances en el Diagnóstico y Control de la Mastitis Bovina. Guadalajara, Jalisco, México. 5 pp.
- Vázquez Torres, M. D. C. Calidad de la leche fresca en Gerencia Metropolitana Norte Liconsa, SA de CV. Instituto Politécnico Nacional.