

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



**RELACIÓN ENTRE EL RESULTADO DE LA PRUEBA DE CALIFORNIA PARA  
MASTITIS Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS Y  
MICROBIOLÓGICAS DE LA LECHE EN SEIS GANADERÍAS LECHERAS EN  
SONSONATE, EL SALVADOR.**

POR:

FUENTES CABRERA, FÁTIMA ZULEMA  
MANCÍA AGUILAR, BLANCA ESMERALDA  
PORTILLO HENRÍQUEZ, BRÍGIDA CECILIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, MARZO 2016



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



**RELACIÓN ENTRE EL RESULTADO DE LA PRUEBA DE CALIFORNIA  
PARA MASTITIS Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS Y  
MICROBIOLÓGICAS DE LA LECHE EN SEIS GANADERÍAS LECHERAS EN  
SONSONATE, EL SALVADOR.**

POR:

FUENTES CABRERA, FÁTIMA ZULEMA  
MANCÍA AGUILAR, BLANCA ESMERALDA  
PORTILLO HENRÍQUEZ, BRÍGIDA CECILIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, MARZO 2016

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA



**RELACIÓN ENTRE EL RESULTADO DE LA PRUEBA DE CALIFORNIA  
PARA MASTITIS Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS Y  
MICROBIOLÓGICAS DE LA LECHE EN SEIS GANADERÍAS LECHERAS EN  
SONSONATE, EL SALVADOR.**

POR:

FUENTES CABRERA, FÁTIMA ZULEMA  
MANCÍA AGUILAR, BLANCA ESMERALDA  
PORTILLO HENRÍQUEZ, BRÍGIDA CECILIA

**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:**

Licenciada en medicina veterinaria y zootecnia

CIUDAD UNIVERSITARIA, MARZO 2016

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR INTERINO:

LIC. JOSÉ LUIS ARGUETA ANTILLÓN

SECRETARIA GENERAL:

DRA. ANA LETICIA ZAVALETA DE AMAYA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO:

ING. AGR. M. Sc. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

SECRETARIO:

ING. AGR. M. Sc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

---

ING. AGR. LUDWING VLADIMIR LEYTON BARRIENTOS

DOCENTES DIRECTORES

---

ING. AGR. MSC. BLANCA EUGENIA TORRES DE ORTÍZ

---

ING. AGR. MSC. ELMER EDGARDO COREA GUILLÉN

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

---

ING. AGR. ENRIQUE ALONSO ALAS GARCÍA

## RESUMEN

El estudio se realizó entre Octubre a Abril de 2015 en seis ganaderías lecheras, con ordeño mecánico, en los municipios de Caluco y Sonsonate, departamento de Sonsonate, El Salvador.

Para la investigación, se realizaron en todas las vacas, en cada una de las ganaderías, dos pruebas de California para mastitis (CMT) separadas por dos meses, categorizándolas como negativo, subclínico y positivo. Por cada categoría se tomaron tres muestras de leche del medidor de la ordeñadora más una muestra del tanque de enfriado durante los muestreos. Las muestras fueron tomadas en frascos estériles y transportados a 4 °C al laboratorio en la Facultad de Ciencia Agronómicas para su análisis dentro de las siguientes 24 horas.

Las muestras de leche fueron analizadas para los parámetros nutricionales: proteína, grasa, lactosa y sólidos no grasos, realizadas con el analizador Lactostar®Gerber; parámetros físico densidad, pH y acidez titulable, también los parámetros microbiológicos: células somáticas con un aparato DCC DeLaval®, recuento en placa de unidades formadoras de colonias (ufc/ml) para bacterias aerobias mesófilas y coliformes totales, prueba de reductasa, prueba de antibióticos y se estimó la prevalencia de mastitis por ganadería. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa INFOSTAT versión 2008, con el método no paramétrico denominado Kruskal Wallis, confrontando parámetros físico-químicos y microbiológicos contra la categorización del CMT. Las diferencias se consideraron significativas a una probabilidad menor al 5% ( $P < 0.05$ ).

La composiciones nutricionales para leches de vacas con resultados CMT negativas, subclínicas y positivas fueron 3.28, 3.15 y 3.09% para proteína; 3.77, 3.76 y 3.56 % para grasa, 4.98, 4.81 y 4.72% para lactosa y 8.95, 8.72 y 8.67% para sólidos no grasos, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas por efecto de las categorías de CMT en éstos parámetros, sin embargo se observó una ligera disminución en el contenido de los nutrientes en la medida en que hay más reacción a CMT.

En el análisis físico, la densidad y acidez titulable fueron similares entre las categorías de CMT, mientras que en el pH aumentó significativamente tendiendo a ser más básico con el aumento de la reacción a CMT en negativas (6.72), subclínicas (6.78) y positivas (6.86), respectivamente.

En los recuentos bacterianos se tuvo gran variabilidad entre muestras de la misma categoría de CMT. Se observó recuentos más altos de bacterias aerobias mesófilas

totales en vacas con reacción a CMT, positivas (594,583 ufc/ml), subclínicas (311,333 ufc/ml) y negativas (250194 ufc/ml), pero las diferencias no fueron significativas. De igual forma en coliformes totales las positivas a CMT tuvieron recuentos más altos (179,000 ufc/ml) que las subclínicas (21,792 ufc/ml) y las negativas (22,806 ufc/ml) y tampoco las diferencias fueron significativas.

El recuento de células somáticas aumentó con respecto al grado de CMT que fue mayor en vacas positivas (1,720,194 cs/ml) que en subclínicas (673,333 cs/ml) y negativas (137,028 cs/ml).

Se concluyó que el grado de mastitis afectó negativamente la calidad de la leche, ya que en la mayoría de los casos la reacción positiva disminuyó la concentración de nutrientes, aumentó el recuento de bacterias aerobias mesófilas, además aumentó el pH y el recuento de células somáticas de manera significativa.

Palabras claves: Calidad de la leche, microbiología de la leche, nutrientes de la leche.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN.....</b>	<b>IV</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1 Sistemas de producción bovina en El Salvador .....	3
2.2 Estadísticas de producción láctea en El Salvador y la región .....	3
2.2.1 Precios de leche .....	4
2.3 Descripción de la leche .....	5
2.3.1 Definición de leche cruda.....	5
2.3.2 Características organolépticas de la leche .....	5
2.4 Composición nutricional y física de la leche .....	5
2.4.1 Componentes nutricionales de la leche.....	6
2.4.2 Características físicas de la leche .....	7
2.4.3 Factores que afectan la composición de la leche .....	8
2.5 Microbiología de la leche .....	10
2.5.1 Microorganismos benéficos .....	10
2.5.2 Microorganismos Patógenos.....	11
2.5.3 Recuento de bacterias aerobias mesófilas.....	11
2.5.4 Prueba de reductasa.....	12
2.6 Contaminación de la leche .....	12
2.6.1 Medios de Contaminación.....	12
2.6.2 Calidad de la leche .....	13
2.6.3 Células somáticas en leche .....	14
2.7 Mastitis .....	15
2.7.1 Medidas de prevención de la mastitis .....	17
2.7.2 Tipos de Mastitis .....	17
2.7.3 Consecuencias de la Mastitis.....	18
2.8 Diagnóstico de la mastitis.....	19
2.8.1 Prueba de California mastitis .....	19
2.8.2 Recuento de Células Somáticas .....	20
2.9 Presencia de antibióticos en leche .....	20

2.10 Ordeño .....	21
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
3.1 Ubicación y ganaderías utilizadas en el estudio .....	22
3.2 Metodología de campo .....	22
3.3 Metodología de laboratorio .....	24
3.3.1 Determinación de nutrientes de la leche .....	24
3.3.2 Análisis físico de la leche .....	25
3.3.2.1 Densidad .....	25
3.3.2.2 pH .....	25
3.3.2.3 Acidez Titulable .....	26
3.3.3 Análisis microbiológico .....	27
3.3.3.1 Bacterias aerobias mesófilas y Coliformes Totales .....	27
3.3.3.2 Prueba de reductasa .....	30
3.3.3.3 Conteo de células somáticas .....	31
3.3.3.4 Determinación de antibiótico en leche .....	31
3.4 Metodología estadística .....	32
3.4.1 Variables independientes .....	32
3.4.2 Variables dependientes .....	32
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>34</b>
4.1 Análisis Nutricional de Leche Cruda .....	34
4.1.1 Proteína .....	34
4.1.2 Grasa .....	35
4.1.3 Lactosa .....	35
4.1.4 Sólidos no grasos .....	36
4.1.5 Análisis nutricional de tanques .....	37
4.2 Análisis Físico de Leche Cruda .....	38
4.2.1 Densidad .....	38
4.2.2 pH .....	39
4.2.3 Acidez titulable .....	40
4.2.4 Análisis físico de leche en tanques .....	41
4.3 Análisis Microbiológico en Leche Cruda .....	41
4.3.1 Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas .....	41

4.3.2 Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas en Tanque .....	42
4.3.3 Recuento de Bacterias Coliformes .....	43
4.3.4 Recuento de Coliformes en Tanque.....	44
4.3.5 Recuento de Células Somáticas .....	44
4.3.6 Recuento de Células Somáticas en Tanques.....	45
4.3.7 Reacción de la prueba de Reductasa .....	46
4.3.8 Prueba de antibiótico en leche cruda .....	47
4.3.9 Prevalencia de Mastitis de las ganaderías en estudio .....	48
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>50</b>
<b>6. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>53</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>65</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. El Salvador producción de leche 1998-2010. ....	3
Cuadro 2. Producción de leche fresca entera en Centroamérica. ....	4
Cuadro 3. Precio por litro de leche pagado al productor formal al 2012. ....	4
Cuadro 4. Composición nutricional de la leche. ....	7
Cuadro 5. Requisitos microbiológicos que debe contener la leche cruda según el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, El Salvador. ....	11
Cuadro 6. Fuentes de contaminación de la leche ....	12
Cuadro 7. Clasificación de la leche de acuerdo al conteo de células somáticas ....	15
Cuadro 8. Pérdidas económicas por vaca producidas por mastitis clínica ....	19
Cuadro 9. Rango de células somáticas con respecto a la prueba California Mastitis ....	20
Cuadro 10. Grados de mastitis según prueba CMT ....	22
Cuadro 11. Relación entre el número de bacterias y reacción a reductasa. ....	30
Cuadro 12. Contenido de proteína en leche (%), de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	34
Cuadro 13. Contenido de grasa en leche (%) de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	35
Cuadro 14. Contenido de lactosa en leche (%) de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	36
Cuadro 15. Concentraciones de sólidos no grasos en leche (%) de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	37
Cuadro 16. Composición nutricional de leche de vaca, obtenida en tanques en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	37
Cuadro 17. Densidad en leche de vaca, con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	38
Cuadro 18. pH en leche de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	39
Cuadro 19. Acidez titulable en leche de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	40

Cuadro 20. Análisis físicos de leche de vacas en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate.....	41
Cuadro 21. Recuento de bacterias aerobias mesófilas en leche de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate.....	42
Cuadro 22. Recuento de bacterias aerobias mesófilas en los tanques de seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	42
Cuadro 23. Recuento de Bacterias Coliformes en vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	43
Cuadro 24. Recuento de Coliformes en los tanques de seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	44
Cuadro 25. Recuento de células somáticas en vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	45
Cuadro 26. Recuento de Células Somáticas en los tanques de seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate.....	45
Cuadro 27. Reacción de la prueba reductasa en vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	46
Cuadro 28. Prevalencia de seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. ....	48
Cuadro A- 1. Análisis estadístico de proteína con respecto a CMT-----	65
Cuadro A- 2. Análisis estadístico de grasa con respecto a CMT -----	65
Cuadro A- 3. Análisis estadístico de lactosa con respecto A CMT-----	65
Cuadro A- 4. Análisis estadístico de sólidos no grasos con respecto a CMT-----	65
Cuadro A- 5. Análisis estadístico de densidad con respecto a CMT-----	65
Cuadro A- 6. Análisis estadístico de pH con respecto a CMT-----	66
Cuadro A- 7. Análisis estadístico de acidez con respecto a CMT -----	66
Cuadro A- 8. Análisis estadístico de bacterias totales con respecto a CMT -----	66
Cuadro A- 9. Análisis estadístico de coliformes totales con respecto a CMT -----	66
Cuadro A- 10. Análisis estadístico de recuento celular somático con respecto a CMT -----	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ordeño mecánico-----	23
Figura 2. Toma de muestra del tanque de enfriamiento -----	24
Figura 3. Equipo para detección físico-química de lácteos -----	24
Figura 4. Proceso de medición del equipo Lactostar. -----	25
Figura 5. Equipo de medición de pH -----	26
Figura 6. Medición de acidez -----	26
Figura 7. Determinación de Bacterias aerobias mesófilas y coliformes -----	27
Figura 8. Preparación de medios de cultivo -----	28
Figura 9. Siembra en cajas Petri -----	28
Figura 10. Incubadora -----	29
Figura 11. Conteo de colonias en caja Petri -----	29
Figura 12. Prueba de reductasa -----	30
Figura 13. Conteo de células somáticas -----	31
Figura 14. Determinación de antibiótico en leche. -----	32
Figura A- 1. Resultados de proteína en leches de tanques -----	67
Figura A- 2. Resultados de grasa en leche de tanques -----	68
Figura A- 3. Resultados de lactosa en leche de tanques -----	68
Figura A- 4. Resultados de sólidos no grasos en leche de tanques -----	69
Figura A- 5. Resultados de densidad en leche de tanques -----	69
Figura A- 6. Resultados de pH en leche de tanques -----	70
Figura A- 7. Resultados de acidez en leche de tanques -----	70
Figura A- 8. Resultados de bacterias aerobias mesófilas en leche de tanques -----	71
Figura A- 9. Resultados de coliformes totales en leche de tanques. -----	71
Figura A- 10. Resultados de células somática en leche de tanques -----	72

## ÍNDICE DE ANEXOS

A- 1. Tipos de ordeño -----	73
-----------------------------	----

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente en El Salvador las ganaderías lecheras se enfrentan a nuevos retos, debido a las exigencias de generaciones más informadas en cuanto a la calidad de leche y sus derivados, así, como la competencia de productos lácteos que se importan, cuyos estándares se regulan con normas internacionales que toman en cuenta valores físico-químicos y microbiológicos.

El surgimiento del sector lácteo en El Salvador data desde la época colonial originándose principalmente por empresas artesanales, con el tiempo el sector ha evolucionado y se ha convertido en un proceso más complejo cuya meta es comercializar los productos transformándose en empresas de mayor tamaño que utilizan técnicas adecuadas para mejorar la calidad y la producción de los lácteos. La producción de leche en el periodo 1990 a 2001 aumentó en aproximadamente un 18%, eso quiere decir que hubo crecimiento en la productividad por vaca en país que puede ser atribuida a un cambio de sistemas de producción hacia ganadería especializada de leche (UCA 2001).

Si bien la producción de leche a partir del 2001 hasta el 2012 ha tenido altos y bajos, es de mucha importancia mencionar que siempre ha sido más a la tendencia del alza teniendo a finales del año 2012 una producción total de 508,780 litros (MAG 2011).

La calidad integral de leche adquiere una gran importancia, no solamente desde el punto de vista de la salud pública, sino también del industrial, estando relacionada a la composición general, mineral, sabor, aroma, a la presencia de contaminantes, a sus propiedades, etc., y obviamente necesita de todos los sectores involucrados en la producción primaria, conservación, transporte y almacenamiento (Sbodio *et al.* 1988). Otro aspecto que evalúa la calidad de la leche cruda hace referencia al recuento de bacterias aerobias mesófilas; valores menores de 300,000 Unidades Formadoras de Colonias (ufc) por mililitro, es el indicador de la calidad higiénica, según lo establecido para El Salvador por la NSO 67.01.01:06 (CONACYT 2006)

A través de seguir buenas prácticas de manejo, el ganadero disminuirá enfermedades como la mastitis que conlleva a pérdidas económicas, ya que dicha patología descende la producción diaria de leche. De igual manera el ganadero se ve obligado a incurrir en gastos de curación de la enfermedad y eliminar del hato a vacas a más temprana edad de lo deseado.

La prueba para California 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 lechero (Radostitset *et al.* 2002). Es una prueba sencilla que no proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es bajo o elevado (Bedolla 2008).

La prueba de RCS (Recuento de células somáticas) es una buena herramienta con la que se cuenta al momento de realizar el diagnóstico de la mastitis y hace referencia al número de células somáticas contenidas en la leche, las cuales están formadas por células epiteliales de descamación natural del interior de la ubre, y por leucocitos o glóbulos blancos (98%) que proceden de la sangre y linfa (Sears *et al.* 1993).

La mastitis es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria considerada como una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero, y es una de las más importantes que afecta mundialmente la industria lechera; pues ocasiona pérdidas económicas muy fuertes a todos los productores de leche en el mundo debido a la disminución de la calidad y cantidad de leche producida (Cerón *et al.* 2002)

El objetivo de este trabajo fue evaluar la relación entre el resultado de la prueba CMT y los parámetros nutricionales, físicos y microbiológicos de la leche. De esta manera las ganaderías tendrán en cuenta la importancia que posee mantener a su hato libre de mastitis, lo que permite brindar leche de mejor calidad a la población salvadoreña, y conformar empresas de competitividad a nivel internacional, que permita la exportación de productos lácteos.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Sistemas de producción bovina en El Salvador

Los sistemas productivos de ganado bovino han sido clasificados según características como su nivel tecnológico, infraestructura, alimentación y genética como: sistemas de subsistencia que poseen el nivel tecnológico más bajo, doble propósito que tienen un nivel intermedio y lechería especializada donde se poseen las mejores condiciones (MAG 2011).

### 2.2 Estadísticas de producción láctea en El Salvador y la región

En la última década la producción nacional de leche se ha incrementado en 21.5%, lo que implica un volumen incremental de 85.7 millones de litros, lo cual representa un crecimiento promedio. En el año 2011 se tuvo un incremento de 23,765 miles de litros. Lo anterior es el resultado de factores que influyen en el desempeño y la competitividad del sector lácteo nacional (MAG 2011).

Según el Anuario de Estadísticas Agropecuarias la producción de leche en El Salvador entre 1998-2010 ha tenido una tendencia a crecer en los últimos años (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** El Salvador producción de leche 1998-2010.

<b>Año</b>	<b>Leche (miles de litros)</b>
1998	331.470
1999	349.390
2000	386.760
2001	383.467
2002	399.280
2003	393.230
2004	399.808
2005	447.600
2006	435.413
2007	475.862
2008	494.071
2009	541.614
2010	457.740

**Fuente:** D.G.E.A - M.A.G 2010-2011. Anuarios de Estadísticas Agropecuarias.

El consumo de leche blanca por país, en la región centroamericana tiende a aumentar, pero de forma modesta, en parte debido a que otros productos sustitutos alternativos de la leche crecen más rápido, como leche de arroz y las bebidas a base de sueros lácticos, bebidas isotónicas y energéticas con contenidos proteínicos y ácidos lácticos (IICA 2011).

Para la región de Centroamérica, los datos más recientes de la FAO sobre la producción de leche fresca entera muestran que el país que más produce es Costa Rica y el que menos produce es Panamá (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Producción de leche fresca entera en Centroamérica.

Posición	País Centroamericano	Producción de leche fresca entera en TM	Año
1	Costa Rica	916,657	2009
2	Nicaragua	718,882	2008
3	Honduras	703,902	2009
4	El Salvador	541,615	2009
5	Guatemala	338,200	2008
6	Panamá	188,635	2008

Fuente: Ministerio de Economía de El Salvador 2011.

### 2.2.1 Precios de leche

El precio pagado por litro de leche a los productores presentan variaciones de acuerdo con la estación del año, y del canal a través de la cual se comercializa, si se trata de un comprador informal o de una planta procesadora que exige leche refrigerada grado A, es decir, que sea de excelente calidad (CNPL 2012) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Precio por litro de leche pagado al productor formal al 2012.

País	Sector Formal (Grado A)
Guatemala	USD\$0.43
Honduras	USD\$0.53
El Salvador	USD\$0.52
Nicaragua	USD\$0.31
Costa Rica	USD\$0.47
Panamá	USD\$0.55

Fuente: CNPL (Cámara Nacional de productores de leche, Costa Rica) 2012.

## **2.3 Descripción de la leche**

### **2.3.1 Definición de leche cruda**

La leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros, obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinado al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior (Codex Alimentarius 2009).

Es el producto no alterado, no adulterado, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de vacas sanas, que no contenga calostro y que esté exento de color, olor, sabor y consistencia anormales (CONACYT 2006).

### **2.3.2 Características organolépticas de la leche**

**Color.** La leche posee comúnmente un color blanco amarillento, pero cuando se le ha adicionado agua o se ha descremado, el color es blanco azulado. La intensidad del color se debe al menor o mayor contenido de grasa, caseína o carotenos (García 1987).

**Olor.** El olor de la leche es característico y se aprecia en la leche recién ordeñada, puesto que el olor y el sabor se pierden con el aire y el transcurso del tiempo. Además las vacas de raza lechera, a través de las paredes externas de la ubre producen una sustancia cerosa y aromatizada cuyo aroma y el de la leche se confunden (Celis y Juárez 2009).

**Sabor.** La leche fresca y limpia tiene un sabor medio dulce y neutro por la lactosa que contiene y por contacto fácilmente adquiere sabores de ensilaje, establo, hierba, etc. (Francis 2005).

**Opacidad.** Otra característica de la leche es su opacidad, la leche es opaca aún en capas muy delgadas y esa opacidad se debe a la presencia de caseína, grasas y sales disueltas, ya que ellas no permiten el paso de la luz (García 1987).

## **2.4 Composición nutricional y físico de la leche**

La leche es una mezcla en equilibrio de agua, proteínas, grasas, carbohidratos, sales y vitaminas. De los constituyentes de la leche, algunos se sintetizan en la glándula mamaria, mientras tanto que otros provienen directamente del suero sanguíneo y su concentración depende de las necesidades nutritivas de la especie (Alais 1984).

### 2.4.1 Componentes nutricionales de la leche

**Sólidos Totales.** Los constituyentes distintos al agua se llaman sólidos totales y son componentes tales como las proteínas, azúcares, materia mineral, vitaminas, enzimas y grasa (García 1987).

**Proteínas.** La fracción proteica de la leche contiene un gran número de compuestos biológicamente activos además de las proteínas de la leche, caseína y proteínas del suero lácteo, existen también pequeñas cantidades de otras proteínas y péptidos. Estas proteínas tienen un serie de efectos biológicos que van desde un efecto anticancerígenos hasta efectos en la función digestiva (Baró 2001).

**Lactosa.** Los carbohidratos se encuentran libres en solución en la fase acuosa de la leche y unidos principalmente a las proteínas; entre ellos están la lactosa, polisacáridos, glucosaminas, etc. Con excepción de la lactosa, la proporción de carbohidratos es siempre menor en la leche que en el calostro (Moreno 1987).

**Materia grasa.** Principalmente están compuestas por glicéridos (99%) pero también contienen lípidos complejos de gran importancia en lechería, como fosfolípidos y cerebrósidos (Amiot 1991). Estos glicéridos contienen más de 17 ácidos grasos y sustancias asociadas como vitaminas A, D, E, y K, fosfolípidos como la cefalina y lecitina (Magariños 2000). Asimismo, la fracción grasa incluye esteroides, como el colesterol y sus precursores, y ácidos grasos libres (Amiot 1991).

**Materia Mineral.** El contenido mineral de la leche es el menos variable de todos sus constituyentes. Los minerales de la leche están compuestos de sales ácidas y alcalinas de potasio, sodio, etc., parcialmente en solución y parcialmente en suspensión. A causa del hecho de que los elementos metálicos se encuentran en mayor cantidad que los no metálicos, el contenido mineral es siempre de carácter alcalino (Judkins y Harry 1984).

Los nutrientes que constituyen la leche sirven como fuente para la elaboración de productos tales como crema, queso, requesón, yogurt entre otros. Las plantas procesadoras de estos productos lácteos definen el precio según la composición por ejemplo de grasas y proteínas (FAO 1981). El porcentaje aproximado de cada uno de estos componentes se presenta en el Cuadro 4:

**Cuadro 4.** Composición nutricional de la leche.

Contenido	Porcentaje
Agua	87.5%
Sólidos totales	12.5%
Proteína	3.2%
Lactosa	4.8%
Materia grasa	3.8%
Materia mineral	0.7%

**Fuente:** Equipo regional de Fomento y capacitación en lechería para América Latina (FAO) 1981.

#### 2.4.2 Características físicas de la leche

**Punto de congelación.** El punto de congelación es una medida del número de moléculas o de iones que se encuentran en solución en la fase acuosa de la leche. El punto de congelación de la leche puede oscilar entre  $-0,52$  y  $-0,56^{\circ}\text{C}$  (con una media de  $-0,54^{\circ}\text{C}$ ); las variaciones superiores a  $-0,52^{\circ}\text{C}$  indican que una adulteración de la leche. La determinación de este índice permite detectar en la leche un aguado a partir del 3%. El descenso del punto de congelación puede deberse asimismo a la subdivisión de la lactosa en moléculas más pequeñas. También puede servir para medir el grado de hidratación de las proteínas (Amiot 1991).

**Concentración de iones hidrógeno (pH).** Lo que habitualmente se denomina acidez de la leche involucra la acidez actual y la potencial. La acidez actual representa a los grupos  $\text{H}^+$  libres. En la leche varía de 6.5 a 6.7; en casos graves de mastitis el pH puede llegar a 7.5 y en presencia de calostro puede bajar a 6.0 (Revilla 1982).

La leche de vaca recién ordeñada y sana, es ligeramente ácida, con un pH comprendido entre 6,5 y 6,8 como consecuencia de la presencia de caseínas, aniones fosfórico y cítrico, principalmente (Fox y McSweeney 1998).

**Densidad de la leche.** La densidad de leche no es un valor constante, por estar determinada por dos factores opuestos y variables: Concentración de los elementos disueltos en suspensión y la proporción de la materia grasa. Como consecuencia, la leche desnatada es más densa que la leche entera. La densidad de la leche individual es variable; los variables medios se encuentran entre 1,030 y 1,033 a la temperatura de  $20^{\circ}\text{C}$  (Alais 1984).

**Acidez titulable.** La acidez titulable incluye a la acidez natural de la leche y también a la desarrollada. La acidez titulable o de valoración es la suma de cuatro. Las tres primeras representan la acidez natural de la leche:

- Acidez debida a la caseína
- Acidez debida a sustancias minerales y a los indicios de ácidos orgánicos
- Reacciones secundarias debidas a los fosfatos “over run”

La acidez desarrollada es debida al ácido láctico y a otros ácidos procedentes de la degradación microbiana de la lactosa, y eventualmente de los lípidos, en leches en vías de alteración. La acidez titulable constituye, fundamentalmente, una medida de la concentración de proteínas y de fosfatos en leches de buena calidad higiénica-sanitaria. Por consiguiente, para caracterizar la acidez de la leche, el pH de la misma es el parámetro ideal (Walstra y Jenness 1987).

La acidez se mide por titulación y corresponde a la cantidad de hidróxido de sodio utilizado para neutralizar los grupos ácidos. Este valor puede expresarse en grados Dornic (°D) que corresponde al volumen de solución de hidróxido de sodio N/9 utilizada para titular 10 ml de leche en presencia de fenolftaleína. Este resultado expresa el contenido en ácido láctico. Un grado Dornic equivale a 0,1 g/l de ácido láctico ó 0,01% (Singh *et al.* 1997).

#### **2.4.3 Factores que afectan la composición de la leche**

La composición de la leche varía de acuerdo con la raza, nutrición, factor climático, etc. Sin embargo algunas de las relaciones entre los componentes son muy estables y pueden ser utilizados para indicar si ha ocurrido alguna adulteración en la composición de la leche (Revilla 1982). Entre algunos de los factores que afectan la leche tenemos.

**Mastitis.** La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, la cual se caracteriza por cambios físicos y químicos de la leche, y por alteraciones patológicas en la glándula mamaria; pudiendo ser causada por agentes físicos o infecciosos (Blood1992).

Las células de los alvéolos y pequeños conductos mamaros se degeneran, mueren y son descamados. Este material, más los leucocitos, fibrina, etc., producen coágulos que bloquean a los conductos mayores, impidiendo la remoción de la leche que proviene de áreas aún funcionales. Durante los estadíos tempranos, el daño tisular es mínimo y generalmente reversible. El curso crónico de la mastitis por *Staphylococcus aureus* o por *Streptococcus agalactiae*, implica destrucción de alvéolos, taponamiento de conductos

galactóforos y regresión de epitelio alveolar. El no ordeñar completamente esos cuartos acelera el grado de fibrosis (Corbellini 2002).

**Raza.** La raza de la vaca es un factor muy importante en cuanto a la producción y composición de la leche. El rendimiento anual de una raza respecto a otra puede ser el doble o triple (Moreno 1987).

Raza lechera se define como al grupo genético de vacas que pueden producir por lo menos el equivalente a 8 veces su peso en leche líquida por lactancia y sobre la base del promedio racial actualizado. Por ejemplo, la raza más productora de leche es la Holstein con producción láctea promedio de 7,899 kg anuales con 288 kg de grasa; otra raza lechera de alto valor productivo es la Jersey, con producción láctea promedio de 5,265 kg por lactancia, se trata de la más rica en grasa y sólidos totales de todas las razas, 3.7% de proteína y 13.5% de sólidos totales (Ávila 2009).

**Nutrición.** El tipo de forraje, su calidad (madurez, contenido de fibra), el tamaño de partícula o de picado de éste tiene gran influencia sobre el porcentaje de grasa de la leche. Es así como el forraje finamente molido produce un cambio en los productos de fermentación ruminal con el consiguiente aumento del propionato y la reducción de acetato y por lo tanto disminución del porcentaje de materia grasa láctea. El estado de madurez del forraje es un factor importante en el momento de reunir un nivel adecuado de fibra en la dieta, ya sea para mantener o incrementar el contenido de grasa láctea, es decir que a mayor porcentaje de fibra habrá mayor porcentaje de grasa. Vacas que son alimentadas con un exceso de concentrado tienen la grasa más baja (Morales 1999).

**Factor climático.** Temperaturas altas tienen un efecto indirecto, ya que afectan el consumo de materia seca, especialmente de fibra, por lo que cambian los patrones fermentativos provocando una reducción del volumen de leche y de la concentración de grasa. Además se produce una disminución de la síntesis proteica ruminal que deriva en un menor aporte de proteína, lo que a su vez provoca una disminución de la concentración de proteína en la leche. Temperaturas bajas, especialmente bajo cero, aumentan el costo de mantención disminuyendo el aporte de energía a la glándula mamaria (Manterola 2007).

## 2.5 Microbiología de la leche

La leche desde el momento en que es ordeñada tiene microorganismos y se sigue contaminando durante su manejo y procesamiento (Frazier y Westhoff 1993).

Aún en el caso en que la glándula mamaria se encuentre sana, se reconoce que las primeras porciones de la leche ordeñada contienen microorganismos, disminuyendo su número a medida que el ordeño avanza. Esto se explica porque el canal del pezón se encuentra colonizado por muchos microorganismos, como por ejemplo *Staphylococcus*, *Corinebacterium*, *Coliformes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, etc (Magariños 2000).

### 2.5.1 Microorganismos benéficos

Existen también los microorganismos benéficos o bacterias útiles de la leche, cabe mencionar que este tipo de bacterias se adicionan para la industrialización de la leche.

Su importancia radica principalmente en tres acciones:

Atacan la lactosa produciendo ácido láctico, participan en las degradaciones proteicas que acontecen durante los procesos madurativos, son compuestos que dan sabor y olor.

Dos son las formas de bacterias encargadas de la producción de ácido láctico a partir de la lactosa. Por un lado las que se agrupan en forma de cadenas de cocos y las otras que tienen forma de bastones o bacilos. Las primeras pertenecen a los géneros estreptococos y las segundas al de lactobacilos (Stanier y Duodoroff 1976).

**Estreptococos** Son los responsables de la acidificación de la leche o de los productos lácteos. Son encontrados principalmente en leche cruda. Causan algunos cambios deseables en la mantequilla, queso y leche cultivados, que dan como resultado, aromas y sabores agradables.

**Lactobacilos** Son los bastones que crecen en el suero de los quesos. Son anaerobios, no móviles, no esporulados, su tamaño varía. Se encuentra en la leche y sus productos. Entre los más importantes tenemos (Jaime 2001):

***Lactobacillus bulgaricus***: Presente en la leche y quesos crudos. Producen ácido láctico. Interviene en la fabricación del yogurt proporcionándole el sabor y aroma característicos.

***Lactobacillus acidophilus***: Desdobra los azúcares para formar ácido láctico.

***Lactobacillus brevis***: Participa en la maduración de los quesos.

### 2.5.2 Microorganismos Patógenos

Ciertos microorganismos, son capaces de elaborar enzimas lipolíticas, que descomponen las grasas en glicerol y ácidos grasos. Algunos de éstos ácidos grasos tiene olores y sabores permanentes que transmiten a la leche el sabor a rancio.

Los microorganismos conocidos, que son responsables de éste fenómeno, incluyen bacterias como: *Pseudomonas Fluorecens* y *Achromobacterlipoliticum*; levaduras como *Candida lipolítica* y hongos como los del grupo de *Penicillium* (SENA 1987).

### 2.5.3 Recuento de bacterias aerobias mesófilas

Su valoración se realiza por el recuento total de bacterias (aerobias mesófilas totales) y se expresa en unidades formadoras de colonias por mililitros (CONACYT 2006).

Cuando una célula aislada comienza a crecer sobre un substrato sólido, el resultado del crecimiento al cabo del tiempo es una colonia. Se denomina unidad formadora de colonia (ufc) a una célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas y produce una colonia en un breve periodo de tiempo. (UNAVARRA 2002).

Las ufc es el principal parámetro para clasificar la leche según calidad. Ésta mide la calidad bacteriológica de la leche, es decir, el contenido de gérmenes responsables de su descomposición. Estas bacterias son las causantes de la descomposición de los alimentos elaborados con leche y de su corta conservación, además del aumento de la acidez de la leche (Santana y Uribe 2009).

La leche cruda de vaca en El Salvador se clasifica en Grado A, Grado B y Grado C, de acuerdo a los requisitos microbiológicos (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Requisitos microbiológicos que debe contener la leche cruda según el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, El Salvador.

Características	Grado A	Grado B	Grado C
Recuento total de microorganismos por mililitro.	Menos o igual a 300 000	Mayor de 300 000 y menor o iguala 600 000	Mayor de 600 000 y menor de 900 000

Fuente: CONACYT 2006

### 2.5.4 Prueba de reductasa

La mayoría de gérmenes de la leche cuando se multiplican elaboran enzimas reductasas que modifican el potencial de óxido-reducción de la misma. Para demostrar ese fenómeno basta añadir a la leche una sustancia que se decolore al pasar de la forma oxidada a la forma reducida. La rapidez con que cambia de color está en función de la población bacteriana y por ello, puede ser un índice del grado de contaminación de la leche (García 2004).

### 2.6 Contaminación de la leche

En la ubre de una vaca sana la leche está libre de microorganismos. Los primeros microorganismos entran en la leche desde el pezón de la vaca. Otras fuentes de contaminación son el equipo de ordeño, forraje, estiércol de vaca, agua, tierra, aire, piel (Ellner 2000). El siguiente cuadro indica las fuentes de contaminación de la leche (Cuadro 6).

**Cuadro 6.**Fuentes de contaminación de la leche

Fuente	Flora total	Bacterias coliformes	Flora termorresistente
Aire del Establo	<100	0	1 a 10
Mama (Interior)	200 a 1000	0	0
Mama (Exterior)	<300	<10	100 a 200
Material limpio	<10,000	<200	<1,000
Material sucio	<10,000 a 5,000,000	0 a 2,000	1,000 a 100,000

Fuente: Mahieu1976.

Las bacterias que más frecuentemente causan mastitis pueden dividirse en dos grandes grupos basados en el origen de la bacteria: patógenos contagiosos y patógenos ambientales. Los principales patógenos contagiosos son *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y varias especies de *Mycoplasma*. Los principales patógenos ambientales incluyen dos tipos de bacterias: las bacterias coliformes y varias especies de estreptococos diferentes a *Streptococcus agalactiae*. A estas otras especies de estreptococos se les llama “estreptococos ambientales” (NMC 1987).

#### 2.6.1 Medios de Contaminación

La leche puede contaminarse en cada uno de los múltiples pasos que van desde su secreción de la vaca hasta su consumo. Los dos grupos de riesgo principales a los que se expone la leche y por tanto el consumidor son: microbiológicos y químicos. Además, las

oscilaciones de temperatura, con rotura de la cadena del frío, implican unas condiciones ideales para permitir la proliferación de microorganismos. Esto supone que de una contaminación de la leche inicial (en el momento del ordeño) muy baja (incluso estéril en el interior de la ubre) pueden ser detectados niveles de contaminación superiores a 1.000.000 de bacterias por mililitro en menos de 24 horas (González y Juan 2001).

Los puntos siguientes son aspectos clave que contribuyen a un elevado recuento de bacterias y las prácticas que pueden ayudar a inhibir el crecimiento de las bacterias en la leche (Escobal 2000):

**Ambiente:** Un ambiente sucio, húmedo, incluyendo cubículos o camas, aumentarán tanto las mamitis y RCS (recuento células somáticas) como la cantidad de bacterias aerobias mesófilas. El ambiente de la vaca debería ser limpio, seco y confortable siempre.

**Personal:** Las ropas y manos sucias aumentan el riesgo de contaminación de la vaca y del equipo de ordeño. Vestir ropas limpias durante el ordeño; Limpiar las manos al iniciar el ordeño y con frecuencia durante el mismo.

**Depilación de ubres:** Las ubres no depiladas acumulan más suciedad, requieren más tiempo para prepararlas para el ordeño, reducen la posibilidad de limpiarlas adecuadamente antes del ordeño y aumentan la posibilidad de un secado incompleto.

**Limpieza de las vacas:** El objetivo es ordeñar vacas limpias no limpiadas. Vacas limpias reducen el tiempo de ordeño.

**Limpieza de la ubre:** Usar agua y un producto desinfectante aprobado para limpiar la ubre antes del ordeño. El desinfectante no es sustituto de ubres limpias.

**Baño de pezones antes del ordeño:** El baño de pezones antes del ordeño es una manera de desinfectar los pezones mojando lo mínimo la ubre.

**Secado de la ubre:** ubre limpia y seca, leche de elevada calidad es lo que requiere y el control de infecciones mamarias lo demanda. El agua que se escurre y gotea de la ubre durante el ordeño transporta bacterias dentro de la pezonera y al extremo del pezón por lo que el riesgo de entrada en la ubre aumenta.

### 2.6.2 Calidad de la leche

El concepto de higiene de la leche tiene hoy día dos enfoques principales: el primero de ellos se refiere a la contaminación de la leche por bacterias, fenómeno en el que se reconocen fases bien determinadas como son: concentración inicial en la secreción láctea a partir de la flora propia de la ubre, generalmente bacterias de tipo saprófitas, o bien flora patógena específica de la ubre. Esta flora detiene su crecimiento a los 7°C.

El segundo criterio de higiene de la leche está referido a la concentración de células somáticas, aspecto que día a día adquiere mayor relevancia al comprobarse su estrecha relación con la capacidad productiva de los animales (Levican 1992).

Dentro de las técnicas de análisis propuestas por la industria para medir y evaluar la calidad higiénica de la leche, se tienen: Prueba de Alcohol, acidez titulable, reducción del Azul de Metileno, recuento en placa de Aerobios Mesófilos y los recuentos selectivos que permiten conocer cuál es la fuente de contaminación más importante o proponer la durabilidad del producto en el mostrador (Cottrino 2003).

### **2.6.3 Células somáticas en leche**

El conteo de células somáticas (CCS) es el número de células por mililitro de leche, es por consiguiente un indicador útil para la concentración de leucocitos en leche. El CCS, es usado como un indicador de la salud de la glándula mamaria (Bradley 2005).

Las células somáticas están constituidas por una asociación de leucocitos y células epiteliales. Los leucocitos se introducen en la leche en respuesta a la inflamación que puede aparecer debido a una enfermedad o, a veces, a una lesión. Las células epiteliales se desprenden del revestimiento del tejido de la ubre (Blowey y Edmondson 1995).

Estas provienen de la sangre y del tejido de la glándula mamaria (Wolter y Koppert 2004).

Las células somáticas son un fenómeno biológico dinámico, sujeto a una gran variación debido a múltiples factores, entre los cuales se pueden señalar a la Mastitis como el principal causante que provoca incremento de leucocitos. Cuando los microorganismos entran en la ubre, los mecanismos de defensa envían grandes cantidades de leucocitos a la ubre para intentar destruir las bacterias (Mateus 1983).

El paso rápido de los leucocitos sanguíneos a la luz alveolar es uno de los mecanismos naturales más importantes de defensa contra la mastitis. En el caso de una glándula mamaria sana se puede observar un contenido menor de 100,000 leucocitos por mililitro de leche. El contenido de leucocitos aumenta como una respuesta a los microorganismos invasores. En el caso de la mastitis aguda, los conteos pueden llegar hasta millones de células somáticas por mililitro. Éstos reconocen las bacterias marcadas con anticuerpos y los fagocitan (Wolter y Koppert 2004).

La importancia del conteo de células somáticas en la leche es que podemos conocer si la leche que obtenemos de la glándula mamaria es de buena calidad, así mismo, conoceremos el estado de salud de la misma al obtener un número elevado de células somáticas, la cual se encuentra arriba de 600,000 células por mililitro (Hernández 2008).

El contenido de células somáticas aumenta en forma normal cuando la vaca se encuentra al final de la lactancia. Esto ocurre porque la vaca en ese momento disminuye su producción de leche y por un problema de concentración se incrementa el número de células somáticas (Hazard 1997).

Según Nickerson (2012) los recuentos altos de células somáticas en la leche cruda es un indicativo de una baja en la producción láctea ya que fisiológicamente las células productoras de leche son sustituidas por una célula somática migrante, de esta manera el alveolo se encuentra mejor protegido de cualquier microorganismo patógeno que se encuentre en ese espacio.

A continuación se presenta la clasificación de la leche con relación al conteo de células somáticas (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Clasificación de la leche de acuerdo al conteo de células somáticas

Clasificación	Número de células somáticas por ml (México) <sup>1</sup>	Número de células somáticas por ml (Chile) <sup>2</sup>
Clase 1	≤ 400,000 CS/ml	<100,000 – 200,000
Clase 2	401,000 A 500,000 CS/ml	200,000 – 500,000
Clase 3	501,000 a 749,000 CS/ml	500,000 – 1,000,000
Clase 4	750,000 a 1,000,000 CS/ml	>1,000,000

Fuente: COFOCALEC 2004<sup>(1)</sup> y Butendieck 1997<sup>(2)</sup>

## 2.7 Mastitis

Mastitis es una inflamación de la glándula mamaria causada por la liberación de glóbulos blancos y otros mecanismos de defensa que están respondiendo a la invasión de patógenos. Estos patógenos se multiplican y producen toxinas que pueden dañar los tejidos secretores de leche. En algunos casos, la respuesta de inflamación también puede ser debida a trauma físico de la ubre, por ejemplo por magulladuras. En la mayoría de las granjas, la mastitis es el resultado del desafío bacteriano que es pasado de vaca a vaca debido a la falta de higiene, procedimientos anómalos de ordeño o contaminación ambiental, por ejemplo por instalaciones en condiciones pobres de mantenimiento (Hibma 2012).

Según Schultz *et al.* (1998) Las vacas con mastitis clínica presentan disminución en la producción diaria de leche, reportando pérdidas diarias de 1.1 a 2.5 Kg, así mismo se calculan mayores pérdidas dependiendo el número de parto que la vaca presenta, es decir, que en vacas que presentan mastitis en el parto 1 las pérdidas son del 4.6%, en los partos 2,3 y 4 esta fue de 4.1, 6.9 y 7.4% respectivamente. Con respecto a las alteraciones en la composición de la leche proveniente de cuartos con mastitis, se ha encontrado disminución en cuanto al contenido de lactosa, caseína, grasa láctea, sólidos no grasos, calcio, fósforo y potasio (Philpot 1999).

#### **Efectos de la mastitis sobre la producción** (Wolter y Koppert2004).

Pérdida por baja producción del animal enfermo.

Pérdida de producción de leche por desecho de la misma, durante la eliminación del medicamento.

Frecuentemente hay un perjuicio duradero en el rendimiento lechero de la vaca, por el uso de medicamentos o la presencia de la enfermedad.

Costos de medicamentos y del Médico Veterinario.

Aumento en los costos de la mano de obra.

#### **Contaminación ambiental por estreptococos** (Barkema 1997).

La duración varía entre 12 y 35 días (en pastoreo y estabulación)

En el 50% se presentan signos clínicos (grumos, dolor e hinchazón del cuarto) La mayoría presenta secreción de leche anormal (con o sin inflamación local)

Sólo el 10% presenta síntomas que comprometen la vida del animal.

La mastitis causada por *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus agalactiae* ocurren más frecuentemente en hatos con altos conteos de células somáticas en leches de tanque.

#### **Contaminación ambiental por coliformes** (Bedolla 2008).

Son de corta duración (más del 50% duran menos de 10 días)

La gran mayoría (80-90%) presenta signos clínicos.

Hay una alta proporción de mastitis agudas.

### **2.7.1 Medidas de prevención de la mastitis (Gaviria 2007)**

Asegurar áreas limpias y secas para la alimentación.

Eliminar alimentos caídos.

Manejar a los animales con desplazamiento lento para evitar salpicaduras.

Mantener las vacas paradas por lo menos durante 30 minutos después del ordeño.

Proporcionar un área especial para que las vacas paran. Debe ser un lugar seco, sin barro, lo más empastado posible y con baja densidad de animales.

Es importante el mantenimiento de calles, accesos y corrales.

La higiene pre-ordeño reduce la contaminación antes de colocar las pezoneras.

El presellado es una medida adicional para disminuir la incidencia de organismos ambientales (Anexo 8.1).

Hay que eliminar restos de barro y materia fecal antes de su aplicación.

El tiempo de contacto con el presellado debe ser entre 20 y 30 segundos.

La concentración del producto, de 0.1 a 0.25% de iodo disponible.

Secar para evitar potenciales residuos, existen productos volátiles que no generan residuo (INTA 2014).

De Vliegheer (2012), afirmó que muchas vacas lecheras primerizas paren con mastitis, Algunas de estas vacas afectadas son propensas a mastitis clínica y subclínica durante la primera lactancia. El impacto de la mastitis en vacas primerizas está relacionado con la forma (clínica vs subclínica), la virulencia de los patógenos causales y tiempo de inicio de la infección en relación con el parto e inmunidad del hospedador. La prevención se basa en la optimización de la higiene, alimentación y control de moscas, evitar la mastosucción y mejorar el confort animal al parto. El tratamiento antibiótico preparto puede ser implementado solo como medida a corto plazo para asistir en el control de un problema significativo de mastitis bajo la supervisión del veterinario del hato.

### **2.7.2 Tipos de Mastitis**

#### **Mastitis subclínica**

La mastitis subclínica se caracteriza por la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas en leche, esta puede desarrollar fácilmente una inflamación y no responder al tratamiento (Sakemi *et al.* 2011) Este tipo de mastitis no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Apenas se percibe una reducción en el rendimiento de la leche, siendo alterada su composición por la presencia de

componentes inflamatorios y bacterias (Gallegos y Moncada 2011). Para identificar estos casos de mastitis se hace necesario las técnicas de laboratorio como la medición del conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico (Sixtos 2011).

### **Mastitis clínica**

La mastitis clínica es definida como una anormalidad en la glándula mamaria de la vaca o la leche, que puede ser fácilmente observada (Tollersrud *et al.* 2000). Se caracteriza por la tumefacción o dolor en la ubre, enrojecimiento de la misma, la leche puede presentar una apariencia anormal y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, lo que reduce el rendimiento y la calidad considerablemente (Heringstad *et al.* 2000). La mastitis clínica puede presentarse de forma aguda y se caracteriza por su aparición súbita. En la forma crónica, se presenta una infección de larga duración, con leche de apariencia anormal y/o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre (Schrick *et al.* 2001).

### **2.7.3 Consecuencias de la Mastitis**

**Perdidas Económicas:** La mastitis es considerada la enfermedad que más pérdidas económicas ocasiona a la industria lechera (Medina 2002).

La mastitis bovina es muy persistente en el ganado lechero usualmente es tratada o prevenida con antibióticos intramamarios; representando una carga económica muy alta a los productores de leche en todo el mundo. Las pérdidas mundiales, anuales debido a la mastitis, se han estimado en 35 billones de dólares americanos (Wellenberg *et al.* 2002).

Esta enfermedad, económicamente, es la más importante en la industria lechera de los Estados Unidos, ya que afecta a la mitad de las vacas infectadas con algún tipo de mastitis. Se considera que esta enfermedad representa el 70% de los gastos totales para los ganaderos lecheros, resultando en una pérdida de billones de dólares cada año (Dos Santos *et al.* 2002).

**Daño a la ubre:** La constitución anatómica de la ubre, la expone constantemente a lesiones y agentes patológicos de diversos orígenes. El propósito de la respuesta inflamatoria es destruir o neutralizar al agente causal y preparar la forma de sanar y retornar a su función normal (Báez 2002).

**Reproducción:** Las vacas con mastitis clínica entre el primer servicio y la etapa de la gestación tienen un aumento en el número de días abiertos y un doble aumento de

servicios por concepción (Hockett *et al.* 2000). El cuadro 8 muestra las pérdidas económicas a causa de la mastitis clínica (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Pérdidas económicas por vaca producidas por mastitis clínica

Concepto	Perdida en dólares por vaca	Porcentaje
<b>Menos producción láctea</b>	USD\$55.00	51.50%
<b>Leche descartada</b>	USD\$35.00	32.70%
<b>Medicamentos</b>	USD\$12.00	11.20%
<b>Servicios Veterinarios</b>	USD\$2.00	1.80%
<b>Mano de obra</b>	USD\$3.00	2.80%

Fuente: Nickerson, 2012.

## 2.8 Diagnóstico de la mastitis

### 2.8.1 Prueba de California mastitis

La Prueba de California Mastitis (CMT), por sus siglas en inglés, California Mastitis Test 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).

La prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquilauril sulfonato de sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina (Smith 1990). A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación de la gelatina, traduciéndose en nuestra lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación (Medina y Montaldo 2003). 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 (Saran y Chaffer 2000).

Una investigación reciente señala que la sensibilidad del CMT, con relación a la presencia de *S.aureus* y *S.agalactiae*es de 66% y 72%, respectivamente, por lo que estima que el CMT no detecta aproximadamente un tercio de las infecciones causadas por estos patógenos, los cuales fueron aislados en un número importante en las muestras de leche provenientes de los animales ordeñados a máquina, ello podría explicar la poca correspondencia entre los resultados del cultivo bacteriológico y el CMT para estas muestras de leche (González y Wilson 2002).

Se puede verificar el rango de células somáticas en relación a la realización de la prueba de California mastitis (cuadro 9).

**Cuadro 9.** Rango de células somáticas con respecto a la prueba California Mastitis

<b>Escala CMT</b>	<b>Rango de Células somáticas</b>
<b>Negativo</b>	<200,000
<b>Trazas</b>	150,000 – 500,000
<b>1</b>	400,000 – 1,500,000
<b>2</b>	800,000 – 5,000,000
<b>3</b>	>5,000,000

Fuente: Saren y Chaffer, 2000.

### **2.8.2 Recuento de Células Somáticas**

En un estudio realizado por Ávila (2005) mencionó que entre los diversos procedimientos empleados para determinar la salud de la ubre mediante el análisis de células somáticas en leche, se dispone de métodos como: Prueba de California para Mastitis (CMT), prueba de Wisconsin, Cuenta microscópica de células Somáticas y el uso de contadores electrónicos como el Fossomatic® y el contador infrarrojo también conocido como DeLaval Cell Counter. Dicho estudio determinó que la cuenta de células somáticas realizada mediante el contador infrarrojo DeLaval, este hace el conteo por medio de una cámara digital hace una fotografía de los núcleos de las células somáticas en el cassette, que está teñido con una tinción fluorescente específica para ADN. Así cuenta el núcleo de las células uno a uno; el contador Electrónico Fossomatic es tan confiable como la realizada con microscopía. Que las pruebas de Wisconsin y la prueba de California para mastitis realizan lecturas de la cuenta de células somáticas inferiores a la cuenta microscópica; y la confiabilidad del conteo de células somáticas en leche es mayor empleando métodos electrónicos o microscopía que utilizando métodos convencionales como la prueba California para mastitis.

### **2.9 Presencia de antibióticos en leche**

Los residuos o inhibidores en leche han sido definidos como toda sustancia química o biológica, que al ser administrada o consumida por el animal, se elimina y/o permanece como metabolito en la leche, con efectos nocivos para el consumidor (Cottrino 2003).

Los antibióticos y otros antimicrobianos se utilizan ampliamente en los tratamientos de la mastitis y otras enfermedades infecciosas como neumonía, podofilitis, etc. Actualmente

son muy utilizados en el tratamiento profiláctico de las vacas no lactantes, y en este caso pueden ser excretados niveles altos de residuos durante largos periodos después del parto (Calderón *et al.* 2007).

La presencia de antibióticos en leche puede provocar efectos adversos en los humanos tales como: alergia, disbacteriosis, sobrecrecimientos, resistencias y algunos efectos tóxicos. Además, los antibióticos presentes en la leche pueden inducir alteración de la flora intestinal, desarrollo de microorganismos patógenos y reducción de la síntesis de vitaminas (Adasca *et al.* 2006).

Por otra parte, las pautas del Códex Alimentarius, consideran que el estatus sanitario en términos de inocuidad para los alimentos de origen pecuario (carne leche y sus derivados) es desconocido, debido a la falta de políticas que valoren los riesgo asociados a su presencia como residuos de medicamentos veterinarios, plaguicidas, hormonas, toxinas, aditivos y metales pesados (FAO/WHO 2005).

### **2.10 Ordeño**

Una buena "rutina de ordeño" involucra una serie de medidas higiénicas y de manejo desde que el animal entra a la sala de ordeño hasta que sale. El ordeño debe ser un proceso rutinario consistente para evitar los factores estresantes que pueden interferir con el sistema inmune y los mecanismos defensivos de la glándula mamaria y aumentar el riesgo de infección (Kruze 1998).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación y ganaderías utilizadas en el estudio

El estudio se realizó en la zona occidental de El Salvador, en el departamento de Sonsonate durante los meses de Octubre a Abril del 2015.

El departamento de Sonsonate tiene una extensión de 1225.77 Km<sup>2</sup>, sus coordenadas geográficas son latitud 13°43'08"N y longitud 89°43'27"W, posee una precipitación anual de 1920 mm y una temperatura promedio de 24°C, las ganaderías incluidas en el estudio se ubican entre los 70 y los 425 msnm en los municipios de Sonsonate y Caluco (ZONU 2003).

#### 3.2 Metodología de campo

Se trabajó con seis ganaderías lecheras que mostraron interés y disponibilidad de colaborar en la toma de muestras para la realización del estudio. Además de cumplir con ciertas características como: poseer más de 80 vacas en ordeño, con genética predominantemente Holstein, ordeño mecánico y que desarrollan un protocolo de ordeño higiénico, con tanques de almacenamiento para la leche capaces de mantenerla a 4 °C y homogenizada. Así mismo se verificó que en todas las ganaderías del estudio las vacas se encontraran identificadas.

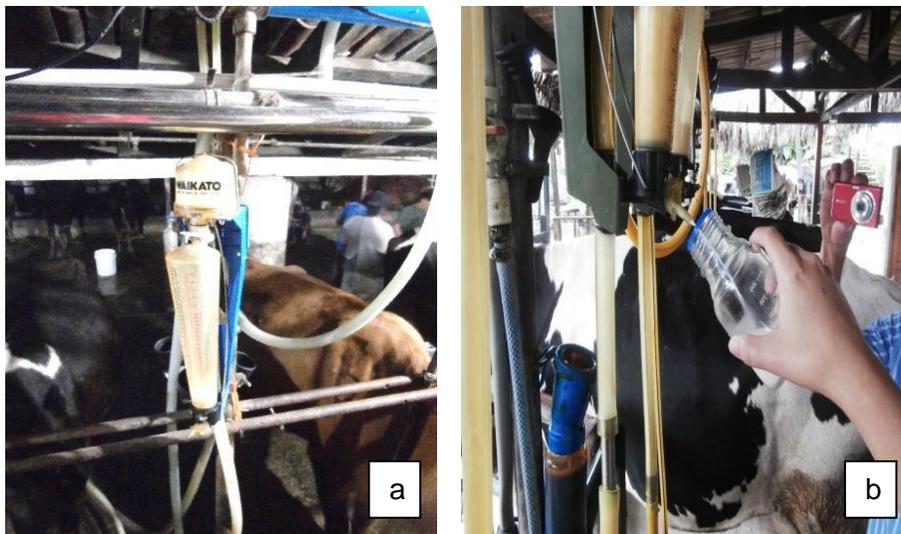
Dentro de las seis ganaderías escogidas, se realizaron dos pruebas de California para Mastitis (CMT) a todas las vacas separadas por un mes, registrando los resultados de cada cuarto y cada animal individual como positivo, subclínica y negativo (Cuadro 10) de acuerdo a la descripción elaborada por García (2004).

**Cuadro 10.** Grados de mastitis según prueba CMT

Calificación	Descripción	Fotografías
<b>Negativa</b>	Muestra de leche permanece líquida al contacto con el reactivo.	

<p><b>Subclínica</b></p>	<p>Se forma un espesamiento de la leche sin formar gel.</p>	
<p><b>Positiva</b></p>	<p>Se forma un gel que causa elevación en el centro aun cuando se ha terminado de rotar la paleta.</p>	

Se realizaron muestreos de leche en horas de la tarde durante los siguientes tres días desde que se realizó el segundo CMT. Se tomó del medidor (Figura 1) nueve muestras de vacas individuales, con tres resultados positivos, tres con resultados subclínicos y tres con resultados negativos a CMT además se obtuvo una muestra directamente del tanque (Figura 2) de enfriamiento al final del ordeño para tener un resultado homogéneo.



**Figura 1.** Ordeño mecánico. (a) Medidor de leche, (b) Toma de muestra.

Las muestras se recolectaron a la hora del ordeño de la tarde, entre las 4:00 y 7:00 pm. Se tomaron en frascos de vidrio estériles de 250 ml, siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo 33 de los métodos oficiales para el análisis (AOAC 2000).



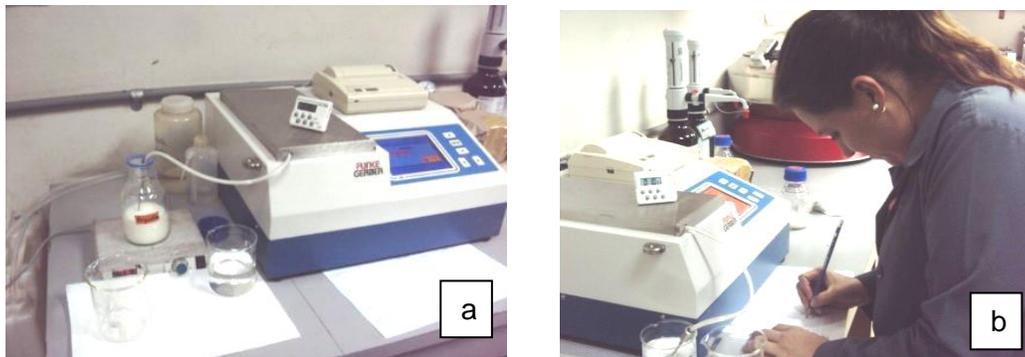
**Figura 2.** Toma de muestra del tanque de enfriamiento.

Una vez recolectadas las muestras fueron identificadas con nombre y número de registro, se ubicaron en cajas térmicas manteniendo una temperatura promedio de 4°C, evitando que estas se congelaran. Se transportaron de inmediato hacia la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador para realizar los análisis respectivos.

### 3.3 Metodología de laboratorio

#### 3.3.1 Determinación de nutrientes de la leche

El contenido de nutrientes en cada una de las muestras fue determinado por medio de un analizador de leche LactostarFunke, Gerber® Alemania (Figura 3), teniendo datos de lactosa, grasa, proteína y sólidos no grasos, todos en porcentaje.



**Figura 3.** Equipo para determinación físico química de lácteos  
(a) Equipo Lactostar. (b) Procesado de muestras.

El Procedimiento que se siguió para la medición es el siguiente:

- 1) Se encendió el equipo Lactostar Funke, Gerber®, luego presionar ENTER, ir a la opción productos/calibración
- 2) Se seleccionó PROFIL 1 (P1) presionando ENTER, luego Leche cruda
- 3) Al inicio de las operaciones realizaba la ZERO calibración
- 4) Se colocó una muestra de agua destilada, para pasar por medición una vez
- 5) Luego aparece en la pantalla las lecturas de Grasa, Sólidos no Grasos, Proteína, Lactosa y Densidad
- 6) Se pasa en agua destilada por Enjuague tres veces
- 7) Se homogenizó y colocó la muestra a analizar
- 8) Luego se procesó la muestra para medición, se anotaron los datos obtenidos; este paso se realizó dos veces, para tener datos en duplicado
- 9) Se lavó la membrana del equipo con agua destilada, y se pasó por enjuague dos veces.
- 10) Se Repitió el paso 8(Manual Lactostar Funke-Gerber (Figura 4).



**Figura 4.** Proceso de medición del equipo Lactostar.

### 3.3.2 Análisis físico de la leche

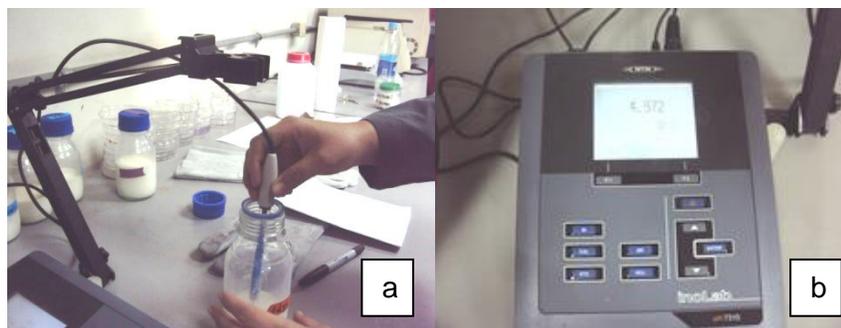
#### 3.3.2.1 Densidad

Estos datos se midieron al igual que los parámetros anteriores por medio del lactostar (Funke, Gerber® 2008).

#### 3.3.2.2 pH

La medición del pH se hizo por medio de un pH-metro marca InoLab (Figura 5).

El pH-metro es un sensor utilizado en el método electroquímico para medir el pH de una disolución. Es adecuado para el uso en leche y fue calibrado con solución buffer para obtener datos más acertados (Gaviria 1980).



**Figura 5.** Equipo para medición de pH  
(a) Medición de pH. (b) pH-Metro marca InoLab.

### 3.3.2.3 Acidez Titulable

La determinación de la acidez en leche se basó en la titulación de una muestra de leche con una solución 0.1 N de hidróxido de sodio (NaOH) en la cual cada mililitro neutraliza un mililitro de ácido láctico (Figura 6).

#### Procedimiento:

1. Se midió con una pipeta volumétrica 10 ml de leche previamente homogeneizada y a temperatura ambiente y se colocó en un Erlenmeyer de 100 ml.
2. Se diluyó con el doble 20 ml de su volumen, con agua destilada hervida y enfriada (agua exenta de  $\text{CO}_2$ ).
3. Se colocaron 5 gotas de fenolftaleína al 1%.
4. Se llevó a cabo la valoración con una solución NaOH de concentración conocida (0.1 N) hasta alcanzar un color rosa persistente (Manual de química, UES 2008).



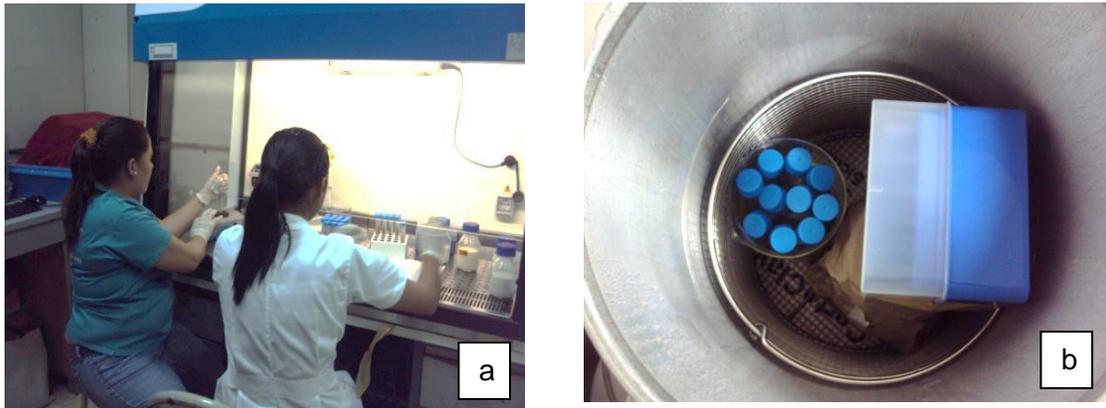
**Figura 6.** Medición de acidez  
(a) Medición de acidez. (b) Materiales para realizar la prueba.

### 3.3.3 Análisis microbiológico

#### 3.3.3.1 Bacterias aerobias mesófilas y Coliformes.

##### Dilución

1. Se realizaron diluciones en una cámara de flujo laminar (Figura 7) siguiendo el proceso descrito por el BAM (2001).
2. Se prepararon diluciones decimales de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , etc. a partir del homogeneizado de la muestra o de muestra líquida directa. Para ello se transfirió un mililitro de muestra de leche a un tubo con nueve mililitro de diluyente. Se agitó y se procedió de igual forma para las diluciones siguientes (Figura 7c).



**Figura 7.** Determinación Bacterias Aerobias Mesófilas y Coliformes.  
(a) Cámara de flujo laminar del laboratorio. (b) Materiales en autoclave.



c) Preparación de diluciones de las muestras de leche.

##### Preparación de medios de cultivo

Agar Plate Count utilizado para recuento de bacterias aerobias mesófilas.

Agar VRB utilizado para coliformes totales.

Para preparar los medios se colocaron 180 ml agua destilada dividida en dos Erlenmeyer con capacidad de 100 ml, agregando el Agar Plate Count o Agar VRB según el caso, se

colocó la solución en un hot plate con agitador hasta llevarlo a punto de ebullición (Figura 8).

El Agar VRB es un medio para la investigación presuntiva y recuento de coliformes en alimentos y productos lácteos, este medio en particular no debe esterilizarse en autoclave, por el contrario el Agar Plate Count si fue esterilizado en el autoclave.

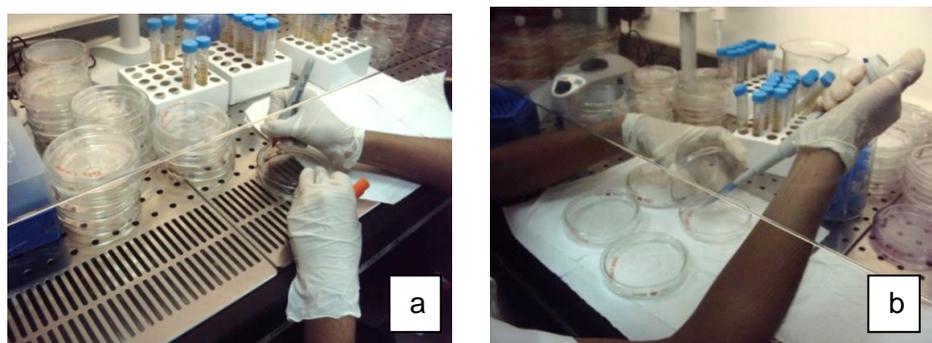


**Figura 8.** Preparación de medios de cultivo (a) Plate count y (b) Bilis rojo violeta.

### Siembra

Para la Inoculación de las diluciones se utilizaron cajas Petri de vidrio. Se desarrolló a partir de los siguientes pasos:

Cada caja Petri fue identificada con la dilución correspondiente (1:1000 o 1:10,000) y la identificación de la vaca en duplicado (Figura 9). Se inoculó 1ml de la dilución con una pipeta con punta estéril descartable y luego se vertió 12 a 15 ml de agar Plate Count o Agar VRB mantenido líquido a 45°C.



**Figura 9.** Siembra en caja Petri(a) Rotulación de cajas Petri. (b) Colocación de la dilución.

Para homogenizar, se mezcló mediante seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis en sentido contrario y seis de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr la completa incorporación del inóculo en el medio. El tiempo transcurrido desde el momento en que la

muestra se incorporó al diluyente hasta que finalmente se adicionó el medio de cultivo a las cajas, no excedió los 20 minutos.

La dilución y siembra se llevaron a cabo en una cámara de flujo laminar marca Safe Classic la cual evita la contaminación de las placas a la hora de la siembra. Para seguridad una mayor seguridad en la cámara de flujo laminar ésta fue desinfectada con una lámpara UV cada vez que se utilizaba, también se utilizaron testigos, para un mejor control de dicha desinfección.

### Incubación

Las condiciones de incubación de las bacterias fue a una temperatura de 35 °C, durante un periodo de 24 horas. (Swanson *et al.* 2001).

La incubadora (Figura 10) se limpió con alcohol 90 antes de colocar las cajas Petri.



**Figura 10.** Incubadora donde se trabajó el área de microbiología.

### Lectura

La lectura se realizó 24 horas después de la siembra, primero se ordenaban las cajas Petri según ganadería y número de repetición para evitar errores, el conteo fue realizado utilizando un contador de colonias para facilitar y agilizar el proceso de placas (Figura 11).



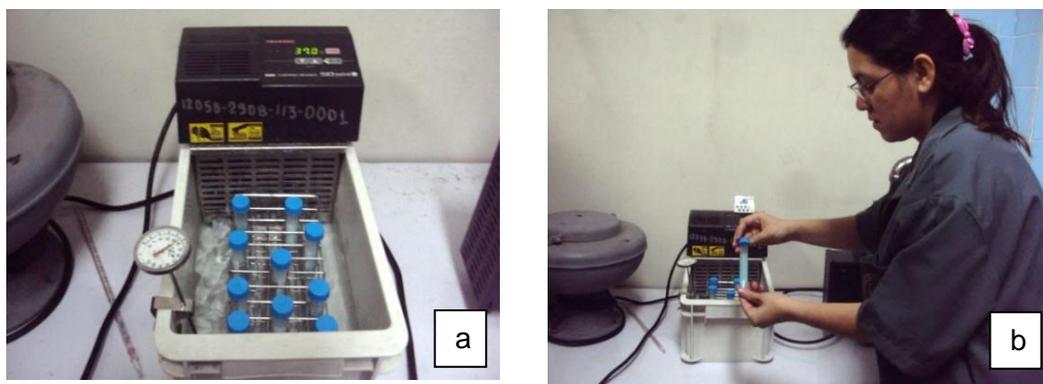
**Figura 11.** Conteo de colonias en caja Petri.

### 3.3.3.2 Prueba de reductasa

La carga o contenido microbiano de la leche se evaluó mediante la prueba de la reductasa con el método de reducción de azul de metileno.

#### Procedimiento

El tiempo de acción de la reductasa se determinó al añadir un mililitro de solución de azul de metileno a 10 ml de leche. Los tubos con las muestras se sumergieron hasta el nivel de la leche en baño María a 37 °C por 10 min y luego se mezclaron nuevamente al invertir los tubos y se registró el tiempo inicial de incubación; después los tubos se regresaron al baño María y se mantuvieron a una temperatura de 37 °C (Figura 12).



**Figura 12.** Prueba de reductasa

a) Baño María a 37°C. b) Verificación de cambio de color

#### Lecturas

Se realizaron las lecturas cada 30 min para observar la decoloración de la leche e interpretar resultados (Cuadro11) (Pinto y Vega 1996).

El resultado se anotaba como horas hasta que se presentaba el viraje de color.

**Cuadro 11.** Relación entre el número de bacterias y reacción a reductasa.

Calidad de la leche	Tiempo de coloración
Grado A	6 horas o mas
Grado B	4 horas y menos de 6 horas
Grado C	Menos de 4 horas

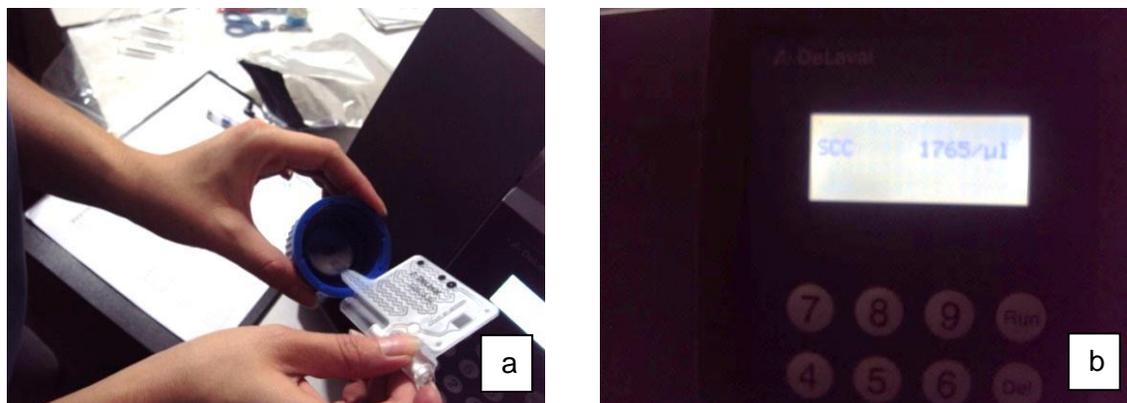
**Fuente:** CONACYT 2006

### 3.3.3.3 Conteo de células somáticas

#### Procedimiento

El análisis se hizo por medio del aparato especializado para el recuento de Células Somáticas marca DeLaval (DCC)®, el cual hace una lectura por medio de cassette.

Se succionó una pequeña cantidad de leche en el cassette y se introdujo en el DCC. La temperatura de la muestra era de 25 °C (Figura 13).



**Figura 13.** Conteo de células somáticas. a) Cassete DeLaval. b) Equipo DeLaval (DCC).

Los resultados de las muestras se expresaron en células por mililitro de leche, para la cual se hizo una conversión multiplicando por 1,000 la cantidad dada por el equipo DeLaval, ya que este expresa las cantidades de células por microlitros ( $\mu$ ) en el visor exactamente 45 segundos después de haber insertado el cassette (DeLaval 2005).

### 3.3.3.4 Determinación de antibiótico en leche

El procedimiento se realizó con el Kit para detección de Antibiótico de la marca Delvotest SpNt, el cual contiene en cada celda un medio de agar sólido conteniendo una cantidad estandarizada de esporas de *Bacillus stearothermo philusvar*, *Calidolactis*, junto con nutrientes y bromocresol púrpura para testear el crecimiento del organismo.

#### Procedimiento

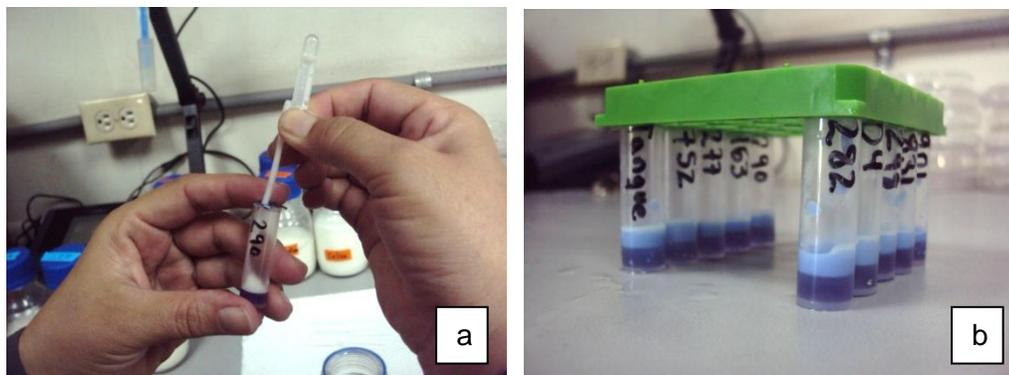
Se pipeteó 0.1 ml de una muestra de leche en cada celda, identificando cada una de ellas. Las celdas fueron colocadas en baño maría precalentado a una temperatura de  $64.0^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , donde se incubaron las celdas por tres horas (Figura 14).

## Lectura

Luego de este tiempo se procedió a la lectura, donde:

Un color amarillo indicó ausencia de sustancias antibacterianas en una concentración por encima del límite del test.

Un color amarillo-púrpura indicó la presencia de sustancias antibacterianas cerca del límite de detección del test (Delvotest SP NT 2011).



**Figura 14.** Determinación de antibiótico a) Colocación de muestra. b) Resultado de la prueba.

## 3.4 Metodología estadística

Las variables fueron analizadas a través de métodos de estadística descriptiva según el tipo de resultados de prueba CMT para los parámetros analizados presentados como promedio ( $\bar{x}$ ) y la desviación estándar (SD).

### 3.4.1 Variables independientes

Resultados del test california mastitis. Las vacas individuales fueron clasificadas en tres grupos, según su resultado a CMT como positivas, subclínicas y negativas.

### 3.4.2 Variables dependientes

Las variables respuesta se clasificaron en grupos.

**Composición nutricional.** Proteína %, Grasa %, Lactosa %, Solidos no grasos %.

**Parámetros físicos.** Densidad ( $\text{g/cm}^3$ ), pH y Acidez titulable.

**Parámetros microbiológicos.** Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas (ufc/ml), coliformes totales, recuento de células somáticas (células/ml), presencia de antibiótico y prueba de reductasa (horas), prevalencia por ganadería (%).

El tipo de muestreo utilizado en la investigación es del tipo dirigido ya que se han seleccionado las unidades elementales de la población a juicio de los investigadores, sabiendo que estas unidades gozan de una representatividad adecuada.

Se realizó el estudio en seis ganaderías tomando nueve muestras de vacas individuales según prueba de CMT, y una muestra directamente del tanque, haciendo un total de 10 muestras por ganadería. Teniendo un total de 120 muestras ya que se efectuaron dos muestreos en cada una de las ganaderías en estudio.

Los datos obtenidos de las muestras de vacas individuales fueron analizados por medio de la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del 5%, ya que es el método más adecuado para comparar poblaciones cuyas distribuciones no son normales, también es adecuado cuando las desviaciones estándares de los diferentes grupos no son iguales entre sí. Se utilizó el programa estadístico InfoStat versión 2008, el cual es un software para análisis estadístico de aplicación general. Cubre tanto las necesidades elementales para la obtención de estadísticas descriptivas y gráficos para el análisis exploratorio, como métodos avanzados de modelación estadística y análisis multivariado.

Los datos obtenidos de las muestras de tanque no se analizaron con el método anterior, estas únicamente se analizaron realizando una comparación con las normas de leche cruda establecidas por la Norma Salvadoreña NSO 67.01.01:06 (CONACYT 2006).

Durante la investigación se observaron las características higiénicas de las ganaderías, tomando en cuenta puntos como la limpieza en la zona de ordeño, limpieza de la ubre de la vaca, desinfección de la máquina de ordeño y forma del almacenamiento de la leche, también se observó la limpieza de las manos de los ordeñadores que están en contacto con la ubre de la vaca.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Análisis Nutricional de Leche Cruda

#### 4.1.1 Proteína

Los contenidos de proteína en leche de vacas con resultados negativos, subclínicas y positivas al CMT de las seis ganaderías en estudio que se presentan en el Cuadro 12. Los valores promedio de proteína variaron desde 3.09 a 3.28 % y tienden a disminuir con la reacción a CMT, sin embargo esta diferencias no fueron significativas (Cuadro A-1).

**Cuadro 12.** Contenido de proteína en leche (%), de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	3.27	3.48	3.14	3.26	2.95	3.40	3.28	0.36
<b>Subclínicas</b>	3.11	3.37	3.12	3.12	3.03	3.19	3.15	0.28
<b>Positivas</b>	3.29	3.31	3.11	2.70	2.75	3.26	3.09	0.52

La proteína es un nutriente que no presenta grandes variaciones en la leche, algunos estudios reportaron relación entre CMT y la proteína mientras que otros no. Guerra (1999), no observó relación entre la concentración de proteína total y clasificación de CMT, lo cual fue atribuido a la disminución de la caseína y aumento de las proteínas séricas en la leche (inmunoglobulina y seroalbúmina). Por otra parte Barria y Jara (1998), analizaron el efecto del CMT subclínica sobre la producción de proteína, encontrando una disminución del 0.016-0.014 Kg en la producción diaria de dicho componente, respectivamente por un aumento de células somáticas.

Se considera que la concentración de caseína disminuye durante la mastitis lo cual es en gran parte debido a su degradación post-secretoria por las proteasas procedentes de organismos que causan mastitis, leucocitos o la sangre y en parte a una reducción en la síntesis y secreción de caseína como consecuencia del daño físico en las células epiteliales mamarias por las toxinas microbianas (Auld *et al*, 1998).

La Norma Salvadoreña para leche cruda NSO 67.01.01:06 (CONACYT, 2006) establece un nivel de proteína de 3.2%, los resultados de este estudio muestran que los promedios de leche en vacas sanas (negativas a CMT), se encuentran por encima de este límite, mientras que la de vacas con alguna reacción a CMT (subclínicas y positivas) se encuentran por debajo de lo reglamentado.

#### 4.1.2 Grasa

Los porcentajes de grasa obtenidos en el estudio se presentan en el Cuadro 13, los cuáles se han clasificado de acuerdo a la reacción a CMT, los datos muestran una aparente disminución de la grasa cuando se presenta un grado mayor de mastitis, ya que las vacas negativas y subclínicas tuvieron 3.77 y 3.76% respectivamente, mientras que las positivas tuvieron 3.56%, sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Cuadro A-2).

**Cuadro 13.** Contenido de grasa en leche (%) de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	3.82	3.60	3.96	4.05	3.35	3.70	3.77	0.53
<b>Subclínicas</b>	3.69	3.84	3.82	3.69	3.70	3.84	3.76	0.69
<b>Positivas</b>	3.57	3.64	3.87	2.84	3.78	3.76	3.56	0.85

Según Bruckmaier y Blum (2004), una reducción en la síntesis de lactosa y en el volumen de leche conlleva a una síntesis de grasa deprimida ligeramente, o que la reducción sólo se debe a un menor volumen de leche.

La aparente disminución de grasa en las muestras de leche en la investigación puede explicarse considerando que ha sido propuesto que la mastitis afecta la calidad de la leche debido al incremento de enzimas proteolíticas y lipolíticas de origen sanguíneo y bacteriano que tienen la capacidad de descomponer la grasa, razón que conlleva a encontrar menor cantidad de grasa en leches mastíticas (Schalm 1997).

#### 4.1.3 Lactosa

El resultado del análisis de lactosa realizado a leches crudas en las ganaderías, clasificadas según la prueba de California para mastitis, se presenta en el Cuadro 14. Se observa valores más pequeños en la medida que hay mayor reacción a CMT, ya que para las vacas con CMT negativo se obtuvo un 4.98%, las de resultados subclínico un 4.81% y las de resultados positivos a mastitis un 4.72%, sin embargo estas diferencias no fueron significativas (Cuadro A-3). Se encontraron valores de lactosa que variaron de 3,7% a 5,26%.

**Cuadro 14.** Contenido de lactosa en leche (%) de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	5.12	4.71	5.07	5.26	4.67	5.07	4.98	0.59
<b>Subclínicas</b>	4.65	4.57	5.06	5.09	3.70	4.74	4.81	0.44
<b>Positivas</b>	4.62	4.68	5.03	4.63	4.60	4.72	4.72	0.65

La lactosa juega el papel más importante en la síntesis y secreción de la leche, ya que es el principal componente osmótico y por tanto responsable de la formación de la fase acuosa de la misma, influyendo de forma decisiva en el volumen total (Vilotte 2002). Por lo que cualquier falla en la capacidad de la glándula mamaria para sintetizar y secretar lactosa es de particular importancia por la influencia que ejerce en el volumen de leche proporcionada por la glándula mamaria (Shuster 1991).

El componente químico que proporciona el sabor a la leche es la lactosa (Francis 2005), este puede verse alterado en procesos de mastitis, patología que provoca una disminución en la concentración de lactosa en leche, lo cual se debe al daño a las células epiteliales alveolares (Auldis *et al.*1998).

En un estudio acerca de la concentración de la lactosa y como esta se ve influida cuando las vacas poseen mastitis, Smith (2013) encontró que aunque los niveles de lactosa varían poco entre razas, cuando hay mastitis el porcentaje de la lactosa en leche disminuye. Este resultado está en concordancia con los hallazgos en Sonsonate en donde mostramos un decrecimiento en la lactosa por efecto de mastitis que no fue significativo por variación alta en los datos.

#### **4.1.4 Sólidos no grasos**

Los valores obtenidos para sólidos no grasos en leche de vacas, clasificadas según CMT se presentan en el Cuadro 15. Observándose un decrecimiento en relación al aumento en la reacción a CMT, el porcentaje en las vacas con CMT positivo fue de 8.67%, en subclínicas 8.72% y en negativas de 8.95%. Las diferencias obtenidas dentro del estudio en sólidos no grasos fueron no significativas (Cuadro A-4).

**Cuadro 15.** Concentraciones de sólidos no grasos en leche (%) de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	8.80	9.08	9.57	8.56	8.04	9.62	8.95	0.86
<b>Subclínicas</b>	8.02	8.78	9.59	8.56	8.27	9.09	8.72	0.84
<b>Positivas</b>	8.44	8.96	9.54	7.87	7.98	9.08	8.67	1.25

De acuerdo a Álvarez *et al.*(2012), el porcentaje de los sólidos no grasos disminuye en vacas que poseen CMT clínico ya que esta enfermedad produce una disminución tanto en la proteína como en la lactosa, ambas incluidas dentro de los sólidos no grasos. En ese sentido, Barbosa *et al.*(2013) determinaron que altos recuentos de células somáticas se asociaron con reducción de los sólidos no grasos y Bachman (1994) en la que se observa cambio en leches entre vacas con CMT negativo y subclínico teniendo que se produce una reducción en los sólidos no grasos de la leche.

#### 4.1.5 Análisis nutricional de tanques en leche cruda

En el Cuadro 16 se presentan los componentes nutricionales de los tanques de leche cruda en las seis ganaderías incluidas en el estudio, observando ciertas variaciones en las cantidades de dichos componentes, de manera que por ejemplo, la ganadería 6 es la que presentó mayor proteína con 3.35%, la ganadería 4 es la que más tuvo mayor concentración de grasa con un valor de 4.15%, la ganadería 3 presentó el mayor contenido de lactosa con un 4.99% y en sólidos grasos con 9.44%.

**Cuadro 16.** Composición nutricional de leche de vaca, obtenida en tanques en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Componentes	Ganaderías						Promedio
	1	2	3	4	5	6	
<b>Proteína</b>	3.29	3.34	3.07	2.98	2.92	3.35	3.16
<b>Grasa</b>	4.02	3.51	3.81	4.15	3.97	4.06	3.92
<b>Lactosa</b>	4.96	4.53	4.99	4.84	4.60	4.78	4.78
<b>Sólido no grasos</b>	8.55	8.70	9.44	8.24	7.98	9.16	8.68

Se observó que la concentración promedio de proteína en leche en tanque en las seis ganaderías fue de 3.16%, con algunas variaciones entre ellas. Las ganaderías 1, 2, y 6 presentaron la cantidad mínima de proteína cruda que, según la Norma Salvadoreña NSO 67.01.01:06 para leche cruda (CONACYT 2006) es de 3.2% mientras que las ganaderías 3, 4, y 5 presenta valores menores a los que dictamina la Norma (Figura A-1).

Debido a que la Norma Salvadoreña no proporciona regulación en componentes como la grasa y la lactosa, éstas se analizan con la Norma Mexicana (COFOCALEC 2004) y Costarricense dado que es de estos países donde se recibe el mayor número de leche y productos lácteos hacia El Salvador. Según la Norma Mexicana NMX-FX-700 para leche cruda entera la cantidad de grasa requerida es mayor o igual a 3.5%. En el estudio se observó que en todas las ganaderías el porcentaje de grasa es mayor a 3.5% con lo que se puede establecer que las leches cumplen con la norma mexicana (Figura A-2).

Con respecto a la lactosa, según la Norma Mexicana NMX-FX-700 la concentración en leche debe ser mayor a 4.9%, entre las ganaderías en estudio, solo la ganadería 1 y 2 cumplen con lo establecido (Figura A-3). La Norma de Costa Rica RTCR: 395-2006 (La Gaceta Para el Uso de Términos Lecheros 2006) reglamenta que los sólidos no grasos debe poseer un porcentaje de 8%. En el estudio realizado se verifica que en las ganaderías se cumple con este nivel de sólidos no grasos (Figura A-4).

## 4.2 Análisis Físico de Leche Cruda

### 4.2.1 Densidad

En el Cuadro 17 se presentan los promedios de densidad de la leche de las ganaderías consideradas en el estudio. Se encontraron densidades que tendieron a disminuir en vacas más reactivas a CMT, teniendo una densidad de 1.0268, en positivas, 1.0277 en subclínicas y en vacas negativas la densidad fue de 1.0298 (Cuadro A-5).

**Cuadro 17.** Densidad en leche de vaca, con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipos de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	1.0305	1.0265	1.0302	1.0364	1.0266	1.0287	1.0298	0.0058
<b>Subclínicas</b>	1.0264	1.0253	1.0304	1.0298	1.0267	1.0273	1.0277	0.0045
<b>Positivas</b>	1.0242	1.0262	1.0302	1.0279	1.0256	1.0263	1.0268	0.0061

Según un estudio realizado en Colombia, se relaciona la presencia de valores muy bajos de densidad a la adición de agua (Corpoica 1995). En México, mayores densidades se asociaron a altos porcentajes de proteína y sólidos totales (Bernal *et al.*2007).

En un estudio realizado en Medellín por Corbellini (2002), se atribuye que la disminución de la densidad de la leche con CMT subclínica y positiva puede obedecer al descenso del contenido de lactosa y sólidos no grasos en la leche, como consecuencia de la reducción de la actividad sintética del tejido alveolar. Los resultados del estudio en Sonsonate son, en gran medida, coincidentes con lo anterior ya que se encontró valores promedio más bajos de nutrientes y de densidades en vacas subclínicas y positivas.

#### 4.2.2 pH

En el Cuadro 18 se presentan los resultados obtenidos de la medición de pH de acuerdo a la categorización por CMT. En vacas negativas el pH fue más ácido, en este estudio fue de 6.72, en vacas con mastitis subclínica fue de 6.78 y en vacas positivas fue de 6.86 siendo más neutro en estas últimas. Se encontró diferencia significativa entre las vacas con mastitis negativas y positivas ( $P=0.003$ ), sin embargo no se encontró significancia en vacas con mastitis subclínicas y las otras dos clasificaciones.

**Cuadro 18.** pH en leche de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	6.76	6.70	6.79	6.57	6.82	6.67	6.72 <sup>b</sup>	0.12
<b>Subclínicas</b>	6.80	6.62	6.86	6.71	6.85	6.82	6.78 <sup>ab</sup>	0.17
<b>Positivas</b>	7.01	6.81	6.86	6.68	6.91	6.81	6.86 <sup>a</sup>	0.20

Las leches mamáticas deben ser descartadas para su industrialización, ya que poseen una composición profundamente modificada lo que conlleva a un alargamiento en el tiempo de coagulación; las leches que presentan este problema tienen un pH elevado, con frecuencia muy próximo a 7 (Tallamy y Randolph 1970). Según Cabrera *et al.*(1987) los valores de pH para una leche normal deben oscilar entre 6.6 y 6.8, mientras que (Ponce 1988), afirma que la leche por encima 6.75 está asociado con mastitis subclínica. En el presente estudio se observó que las leches de vacas con CMT subclínica y clínica poseen un pH mayor a 6.75, lo cual está por encima del límite sugerido por la Norma

salvadoreña NSO 67.01.01:06 que establece que el pH se debe encontrar en un rango de 6.4-6.7.

#### 4.2.3 Acidez titulable

La acidez titulable en grados Dórníc (°D) en las leches crudas se presenta en el Cuadro 19, se observa que parece haber una tendencia a aumentar la acidez titulable con el aumento de la reacción a CMT, es así que vacas con CMT positivo presentan el valor más elevado de acidez (15 °D), el grupo de subclínicas tiene una acidez de 14.23 °D y vacas negativas presentaron acidez de 14.63. Se obtuvieron diferencias no significativas (Cuadro A-7).

**Cuadro 19.** Acidez titulable en leche de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	14.58	15.15	14.13	15.62	12.94	15.39	14.63	1.86
<b>Subclínicas</b>	14.13	15.17	13.98	14.57	13.83	13.68	14.23	2.15
<b>Positivas</b>	14.87	14.43	14.76	16.81	14.43	14.72	15.00	3.01

Valores de acidez titulable por encima de 22° D y pH inferiores a 6.5 ponen en evidencia leche en vías de alteración por acción de microorganismos, los pH superiores a 6.9 se relacionan con mayores niveles de mastitis (Negri *et al.* 2005).

Calderón *et al.* (2007), determinaron un promedio de 19 °D en leche en Montería, Colombia donde el incremento en la acidez se explicó por la falta de refrigeración de la leche, almacenamiento en materiales no apropiados y a la alta temperatura ambiental en la zona, que propicia un aumento en el crecimiento bacteriano.

Según Chacón (2004) en Costa Rica, la alta acidez es un indicador del detrimento bacteriológico de la leche y de un mal manejo antes de su recepción en las plantas procesadoras de leche.

De acuerdo a los promedios de las categorías de CMT, realizadas en el estudio la cantidad de acidez titulable se encuentran dentro de los rangos adecuados según las NSO 67.01.01:06, la cual reglamenta que se debe encontrar entre 14 a 17 °D.

#### 4.2.4 Análisis físico de leche en tanques

El Cuadro 20, se presenta los resultados obtenidos del análisis realizado a las leches obtenida de los tanques lecheros de las ganaderías implicadas en la investigación. Estos análisis incluyen la densidad, el pH y la acidez.

**Cuadro 20.** Análisis físicos de leche de vacas en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Parámetros físicos	Ganaderías						Promedio
	1	2	3	4	5	6	
<b>Densidad</b>	1.0275	1.0253	1.0300	1.0303	1.0253	1.0265	1.0275
<b>pH</b>	6.27	6.71	6.74	6.67	6.77	6.71	6.64
<b>Acidez</b>	16.06	14.73	14.28	16.06	14.59	15.45	15.19

Se midió la densidad de las leches en los tanques la cual se comparó con la NSO 67.01.01:06 que dictamina que debe poseer un rango de entre 1.028 a 1.033, las ganaderías 2, 5 y 6 se encuentran debajo de este nivel (Figura A-5). Con respecto a la medición de pH se observó que dos de las ganaderías no cumplen con los estándares establecidos por la Norma Salvadoreña, la ganadería 1 por encontrarse debajo del rango permitido, mientras que la ganadería 5 se encuentra levemente elevada; la NSO 67.01.01:06 dictamina que el pH debe encontrarse en el rango de 6.4 a 6.7, el resto de ganaderías se encuentra en los rangos permitidos (Figura A-6)

En acidez titulable, el rango que establece la Norma Salvadoreña NSO 67.01.01:06 es de 14 – 17 °D al realizar la comparación con los datos obtenidos se observa que las seis ganaderías cumplen lo establecido con la norma (Figura A-7).

### 4.3 Análisis Microbiológico en Leche Cruda

#### 4.3.1 Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas

Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas presentaron una amplia variación entre las ganaderías y el estatus de mastitis por CMT (Cuadro 21). Se observó un incremento en los valores de recuento de bacterias aerobias mesófilas con el aumento de la reacción a CMT, encontrándose promedios de 250,194 ufc/ml en vacas negativas, 311, 333 ufc/ml las subclínicas y 594,583 ufc/ml las positivas sin embargo no se encontró significancia en los resultados, (Cuadro A-8) probablemente debido a la gran variación de la poblaciones de bacterias formadoras de colonias.

**Cuadro 21.** Recuento de bacterias aerobias mesófilas en leche de vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	120,333	27,833	60,167	513,000	357,833	422,000	250,194	206199
<b>Subclínica</b>	134,000	15,167	69,667	604,000	665,167	380,000	311,333	280404
<b>Positivas</b>	421,667	49,000	954,833	1002,500	756,333	383,167	594,583	372719

Los datos de este estudio sugieren que existe una correspondencia entre la calificación de CMT y el número de ufc/ml de bacterias aerobias mesófilas, encontrando recuentos más altos en vacas positivas (Figura A-12).

Según Magariños (2000), la cantidad de bacterias en el interior de la ubre de la vaca depende del nivel de higiene que se realice durante el ordeño. Se ha descrito que la prueba CMT es una medición del grado de infección bacteriana en la ubre, ya que el reactivo CMT reacciona con el ADN (Smith 1990) de las células blancas que salen a combatir la infección (Medina y Montaldo 2003) y que son proporcionales al grado de la infección.

#### 4.3.2 Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas en Tanque

El recuento bacteriano del tanque de las ganaderías en estudio (Cuadro 22), refleja la carga bacteriana de la leche total producida a diferencia de los recuentos en vacas seleccionadas por grado de CMT, las cuales no necesariamente representan el hato. La ganadería 4 resulto en 1311,000 ufc/ml, un recuento de bacteriano muy por encima del promedio total que fue de 264,167 ufc/ml, caso contrario la ganadería 1 refleja un resultado del recuento total bacteriano disminuido siendo de solo 5,500 ufc/ml.

**Cuadro 22.** Recuento de bacterias aerobias mesófilas en los tanques de seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tanque	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
	5,500	26,000	69,500	1311,000	80,500	92,500	264,167	513,924

Uno de los parámetros que establece La NSO 67.01.01:06 para la leche cruda en El Salvador es la cantidad de microorganismos presentes. Para la calidad A los microorganismos presentes en la leche deberán ser menores a 300,000, calidad B son

entre 300,000 y 600,000 microorganismos y para la calidad C son de 600,000 a menos de 900,000, sin embargo no especifica qué clase de microorganismos. Los valores requeridos internacionalmente para países como Australia, Estados Unidos y La Unión Europea con respecto a bacterias aerobias mesófilas son de 100,000 ufc/ml (Norman 2000 y Van Schaiket *al.* 2002). De acuerdo a lo anterior, el promedio de ufc/ml encontrado en los resultados de los tanques de las ganaderías en estudio, muestran que no todas las ganaderías cumplen con los parámetros internacionales. La ganadería 4 presentó los recuentos bacterianos más altos con 1,311,000 ufc/ml, (Figura A-8) lo cual tendría importantes repercusiones en la calidad de la leche. Si se considera el promedio de las seis ganaderías en estudio, el resultado de ufc/ml de bacterias aerobias mesófilas en leche cumple los requerimientos nacionales, sin embargo no cumple los requerimientos internacionales de los países antes mencionados.

#### 4.3.3 Recuento de Bacterias Coliformes

Los datos encontrados con respecto al recuento de ufc/ml de coliformes presentan alta variación (Cuadro 23). Los recuentos de coliformes no muestran una relación directa con los agrupamientos por resultado de CMT. Las vacas con CMT negativa y subclínica tuvieron recuentos de coliformes parecidos 22,806 y 21,792 ufc/ml respectivamente mientras que las positivas tuvieron más bacterias coliformes (179,000 ufc/ml), sin embargo las diferencias no fueron significativas (Cuadro A- 9).

**Cuadro 23.** Recuento de Bacterias Coliformes en vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	46,000	5,000	34,333	29,833	4,667	17,000	22,806	16,733
<b>Subclínicas</b>	14,167	1,667	8,667	90,833	3,167	12,250	21,792	34,176
<b>Positivas</b>	28,333	5,833	88,000	796,833	146,750	8,250	179,000	307,533

La NSO 67.01.01.06, no especifica valores normales para bacterias coliformes en la leche cruda. Los resultados presentados en el Cuadro 23, muestran que el nivel de contaminación durante el proceso de ordeño es considerablemente variable, por ejemplo en la ganadería 4 se encontró 796,833 ufc/ml de bacterias coliformes, mientras que en la ganadería 2 los valores fueron de 5,833 ufc/ml. En un estudio realizado por Oliver *et*

al.(2009) se muestra que las muestras de leche obtenidas son contaminadas por bacterias coliformes mayormente con objetos utilizados durante el ordeño o posterior a éste, en el caso de la leche cruda recién ordeñada, estos niveles se convierten en un evaluador del grado de limpieza de las manos de los operarios, de la limpieza y de la desinfección de la piel de los pezones y pezoneras, entre otros por lo tanto son estos implementos los que se encargan de trasladar estas bacterias a la leche recién ordeñada. Es conocido que las bacterias coliformes no son las principales causantes de mastitis. David *et al.* (1996), realizó una investigación en el cual se realizó el cultivo a 50,926 vacas con infección intramamaria de lo cuáles se obtuvo mayor prevalencia de agentes causantes de mastitis son *Staphylococcus spp.* 11.3%, *Streptococcus agalactiae* 10.1%, *Staphylococcus aureus* 9.1%, las bacterias coliformes representaron un 0.6%.

#### 4.3.4 Recuento de Coliformes en Tanque

Los datos obtenidos en el recuento de coliformes totales de los tanques de las ganaderías en estudio (Cuadro 24) reflejan diferencias entre ganaderías. La ganadería con mayor recuento fue la numero 4 con 145,500 ufc/ml, y la de menor recuento fue la numero 2, que presentó 2,250 ufc/ml.

**Cuadro 24.** Recuento de Coliformes en los tanques de seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
Tanque	5,500	2,250	9,000	145,500	12,500	4,000	29,792	56,804

Según la norma costarricense RTCR: 395-2006, el límite permisible de recuento de coliformes en leche cruda es 2,000 ufc/ml. En éste estudio se contabilizan en promedio 29,792 ufc/ml bacterias coliformes, y todas las ganaderías sobrepasan este valor de referencia por lo tanto es posible que la higiene deba mejorarse.

#### 4.3.5 Recuento de Células Somáticas

Los valores de células somáticas resultaron ascender proporcionalmente al resultado de la prueba California para Mastitis (CMT) (Cuadro 25); Se observó un incremento significativo ( $P= 0.0001$ ) de Células Somáticas cuando se comparó vacas negativas (137,028 cs/ml) con subclínicas (673,333 cs/ml) y positivas (1720,194 cs/ml) de manera que estas variables se relacionan positivamente (Figura A-11).

**Cuadro 25.** Recuento de células somáticas en vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

Tipo de mastitis	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Negativas</b>	21,167	67,000	59,833	115,833	357,833	200,500	137,028	124,515
<b>Subclínica</b>	708,000	710,333	493,833	507,500	665,167	955,167	673,333	168,398
<b>Positivas</b>	2387,167	951,167	1487,167	1834,833	756,333	2904,500	1720,194	828,892

Según Tomasinsig (2010) el recuento de células somáticas se utiliza corrientemente como una medida de calidad de la leche cruda, altos niveles de estas células en la leche son indicativos de una leche anormal, de calidad disminuida, causada por una infección bacteriana intramamaria (mastitis). Según García (2004) el recuento de bacterias aerobias mesófilas, el recuento celular somático y la prueba CMT están estrechamente relacionados puesto que cuando las bacterias atacan las células del interior de la ubre, la respuesta inmunitaria del organismo es enviar glóbulos blancos de la sangre para neutralizar a tales bacterias invasoras, estos glóbulos blancos son en esencia lo que constituye el recuento celular somático. Si este valor resulta elevado, significará que las bacterias han invadido la ubre de la vaca. En el presente estudio, no se estableció una relación significativa entre CMT con bacterias, pero si con células somáticas.

#### 4.3.6 Recuento de Células Somáticas en Tanques

Los recuentos de células somáticas para el tanque en las ganaderías variaron de entre los 186,500 cs/ml para más baja, y 807,500cs/ml para la más alta, con un promedio total de 506,833 (Cuadro 26, figura A-9).

**Cuadro 26.** Recuento de Células Somáticas en los tanques de seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

	Ganaderías						Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6		
<b>Tanque</b>	186,500	374,500	355,000	664,000	807,500	653,500	506,833	236,555

La leche naturalmente puede contener células somáticas, sin embargo, se ha reportado que un alto recuento de las mismas puede relacionarse con la presencia de microorganismos patógenos (Oliver 2009). La NSO 67.01.01.06 menciona que los niveles aceptados de células somáticas contenido en la leche cruda destinada para consumo humano debe ser 750,000 en El Salvador. Sin embargo, las normas internacionales establecen una clasificación de las leches según su contenido de células somáticas que

es más exigente por ejemplo en Chile se tiene clasificación 1: <100,000 a 200,000; 2: 200,000 a 500,000, 3: 500,000 a 1,000,000 y 4: >1,000,000 (Butendieck, 1997). Si se considera la norma chilena, solamente la y leche de la ganadería 1 tiene clasificación 1, las ganaderías 2 y 3 serían clasificación 2 y las ganaderías 4, 5 y 6 serían clasificación 3.

#### 4.3.7 Reacción de la prueba de Reductasa

En el Cuadro 27 se presentan los resultados obtenidos de la prueba de reductasa en leche cruda obtenida de diferentes ganaderías de Sonsonate.

La clasificación de las categorías A, B y C corresponden a la clasificación que se encuentra en la Norma Salvadoreña para la Leche Cruda, a través de la Prueba de Reductasa (prueba de reducción de azul de metileno) es para el Grado A=6 horas o más en el cambio de viraje de color por la reacción del azul de metileno, Grado B= 4 horas y menos de 6 horas en el cambio de viraje de color por la reacción del azul de metileno y para el Grado C= menos de 4 horas en el cambio de viraje de color por la reacción del azul de metileno.

En cuanto a la cantidad de bacterias presentes según el grado del cambio de viraje de la prueba es para la leche calidad A: 100,000 a 200,000 bacterias/ml; calidad B: de 200,000 a 2,000,000 bacterias (ml y para la leche calidad C: 2-10 millones de bacterias/ml (García 2004).

**Cuadro 27.** Reacción de la prueba reductasa en vacas con tres calificaciones a la prueba California para Mastitis en seis ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador.

CALIDAD DE LECHE SEGÚN LA PRUEBA DE REDUCTASA								
Resultado de CMT	Calidad de leche	Ganaderías						Total de muestras procesadas
		1	2	3	4	5	6	
Negativas	A	6	6	6	3	6	5	32
	B	0	0	0	2	0	1	3
	C	0	0	0	1	0	0	1
Subclínicas	A	6	6	6	2	6	6	32
	B	0	0	0	4	0	0	4
	C	0	0	0	0	0	0	0
Positivas	A	5	6	3	1	5	6	26
	B	0	0	3	2	1	0	6
	C	1	0	0	3	0	0	4
Tanque	A	2	2	2	0	2	2	10
	B	0	0	0	2	0	0	2
	C	0	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>		20	20	20	20	20	20	120

Los valores obtenidos en la prueba Reductasa para leche muestran tiempos de viraje que en general las clasifican como calidad A en la mayoría de casos, independientemente del grado de mastitis de las vacas, es decir, que incluso en las muestras positivas a CMT hubo una reacción de seis horas o más en la gran mayoría de los casos.

Según los resultados obtenidos en tanque, la leche que están entregando las ganaderías en estudio a las plantas procesadoras es de calidad A en su mayoría, en la ganadería 4 se encontró calificación B.

Al comparar los resultados obtenidos en las otras pruebas microbiológicas realizadas con respecto a la prueba de reductasa se puede señalar que esta última no es exacta, pues refleja un rango amplio y no tan específico como las pruebas de recuentos de bacterias aerobias y coliformes o células somáticas.

#### **4.3.8 Prueba de antibiótico en leche cruda**

Se contempló la búsqueda de residuos de antibióticos utilizados para combatir mastitis o algún otro tipo de enfermedad infecciosa en las vacas muestreadas según CMT en todas las ganaderías. Los resultados fueron negativos en los dos muestreos de las seis ganaderías, en las tres categorías a CMT y los tanques, es decir no se observó cambios positivos en el viraje de la prueba realizada. Lo cual estaría reflejando que las vacas que están siendo tratadas son retiradas del ordeño en todas las ganaderías. Según Saini, (2012), actualmente son necesarios datos sobre el uso de antimicrobianos y la resistencia bacteriana a ellos para manejar esa resistencia, Saini realizó un estudio donde determinaron las asociaciones a nivel de hato entre uso de antimicrobianos y resistencia de *Staphylococcus aureus* aislado de muestras de leche de 89 granjas lecheras canadienses. El uso de una combinación de penicilina y novobiocina para tratamiento de vacas al secado se encontró relacionado positivamente con resistencia a ampicilina. La administración sistémica de florfenicol se encontró asociada positivamente con resistencia a ampicilina. También se observaron diferencias regionales en resistencia a antimicrobianos.

Se ha demostrado que después de la administración de cualquier tratamiento veterinario, los residuos del medicamento aparecen en los productos comestibles obtenidos de los animales tratados (Cogan 1972). Los residuos de antibióticos, producen numerosos problemas en el humano, siendo el de mayor importancia la aparición de resistencia múltiple en bacterias patógenas, lo cual representa un peligro potencial para la salud del consumidor y además, para la industria láctea, ya que los cultivos iniciadores empleados

en la producción de derivados lácteos fermentados, tales como queso y yogurt, son extremadamente sensibles a bajas concentraciones de antibióticos en la leche (Schiffmann 1992).

La presencia de antibióticos en leche, puede provocar efectos adversos en los humanos tales como: Alergia, disbacteriosis, sobrecrecimientos, resistencias y algunos efectos tóxicos. Además, los antibióticos presentes en la leche pueden inducir alteración de la flora intestinal, desarrollo de microorganismos patógenos y reducción de la síntesis de vitaminas. (Khachatryan *et al.* 2006).

A pesar que en los registros de las ganaderías en ordeño no contemplan en su protocolo un registro donde controlen los residuos de antibióticos, la FDA (2013) sugiere que cada ganadería o lechería guarde consigo un registro durante dos años de antigüedad de todos los animales tratados con fármacos usados fuera de indicaciones.

#### 4.3.9 Prevalencia de Mastitis de las ganaderías en estudio

**Cuadro 28.** Prevalencia de diagnósticos positivos a mastitis por medio de la prueba CMT en seis ganaderías de Sonsonate, El Salvador durante octubre y noviembre del 2014 (Porcentajes del hato).

Ganadería	1	2	3	4	5	6	Promedio
Octubre	6.48	47.30	10.60	6.20	28.80	1.70	16.85
Noviembre	6.40	39.60	10.40	33.20	22.90	7.70	20.03
Promedio	6.40	43.45	10.50	19.70	25.85	4.70	18.44

La prevalencia de mastitis de las ganaderías en estudio durante la investigación en leches fue variable, cada ganadería cuenta con condiciones de ordeño diferentes con respecto al tipo de agua, máquina de ordeño, materiales de higiene y procedimiento, etc. La ganadería número 2 tuvo la mayor relación de vacas con reacción positiva a CMT de mastitis con un promedio de 43.45% entre octubre y noviembre lo cual contrasta los valores obtenidos en la ganadería uno (6.44%) y la ganadería 6 (4.7%) para el mismo período de tiempo. Considerando las implicaciones de la ocurrencia de mastitis detectada por CMT sobre la composición láctea, el conteo de bacterias y la salud de las vacas, es muy necesario prestar atención al número de vacas afectadas para implementar estrategias de control de mastitis en las ganaderías.

Dentro del estudio se contempló que la ganadería con alto índice de prevalencia de mastitis es la ganadería número 2 con un índice de 43.50% y la ganadería con el más bajo índice de mastitis es la ganadería número 6 con un 4.7% de prevalencia.

Según un estudio realizado en Tarímbaro, Michoacan, México, la prevalencia de mastitis en ese municipio fue de un 43% que según Guízar y Bedolla (2008) resulta elevado de acuerdo a lo reportado internacionalmente por varios autores, si se compara el resultado obtenido en el presente estudio se obtienen resultados menores que los que se obtuvieron con ese estudio realizado en México con una diferencia notoria.

En relación a la higiene observada en las ganaderías, no hubo relación entre dichas condiciones higiénicas y los resultados de vacas de acuerdo al grado de mastitis.

## 5. CONCLUSIONES

La composición nutricional de la leche fue afectada por el grado de mastitis en las vacas en este estudio, ya que la concentración de todos los nutrientes tendió a disminuir con el aumento del grado de mastitis detectado por la prueba California para Mastitis.

El promedio de la composición nutricional de las muestras de tanque de leche cruda en las ganaderías no cumplió con la NSO 67.01.01:06 para requerimiento de proteína. Según la norma de México y Costa Rica, los promedios de leche de tanques si llena los requisitos para grasa y solidos no grasos, no así para lactosa.

La densidad y la acidez titulable no mostró diferencia significativa respecto al grado de mastitis detectado con la categorización al CMT, pero si se presentó significancia estadística en los valores de pH en vacas con CMT subclínica y clínica del estudio, esto se debe a que las leches con mastitis tienden a la alcalinidad.

El promedio de los parámetros físicos medidos en leches de tanques, no cumplió con el parámetro requerido por la NSO 67.01.01:06 para la densidad, pero si obtuvo un valor aceptable para pH y densidad.

El recuento de células somáticas presentó un aumento significativo respecto a la categorización a CMT, siendo mayor a medida que aumenta el grado de mastitis, lo cual confirma el principio de reacción del CMT en donde a mayor a número de células somáticas, se observa mayor solidificación del reactivo utilizado para la prueba.

El recuento de bacterias aerobias mesófilas en leche presentó variaciones de acuerdo al grado de CMT, observando un incremento en vacas que presentan reacción a dicha prueba.

Los recuentos de bacterias coliformes en leche no obtuvieron diferencias significativas al comparar tres categorías de CMT, lo cual refleja que su origen es principalmente ambiental y que no están presentes en las vacas con mayor grado de mastitis en las ganaderías.

Los resultados de prevalencia de mastitis de las ganaderías en estudio durante los meses de octubre y noviembre resultan variados, esto se debe al registro que cada ganadería posee sobre sus vacas enfermas de mastitis con ayuda del CMT y al control que tienen sobre la enfermedad.

Dentro del estudio no se detectaron antibióticos en las leches muestreadas esto se explica a que las empresa procesadoras exigen la ausencia de antibióticos en la leche.

## 6. RECOMENDACIONES

Monitorear por parte de las ganaderías y plantas procesadoras de leche cruda, el grado de mastitis en las vacas al menos una vez mensualmente por medio de herramientas de campo como la prueba California para mastitis y recuento de células somáticas, de esta manera el control de estas enfermedades se podrá realizar a tiempo y así evitar pérdidas económicas.

Se debe analizar la composición nutricional y propiedades físicas de la leche de forma constante tanto en la planta procesadora como en laboratorios independientes para garantizar el cumplimiento de los parámetros mínimos requeridos por las normativas, y garantizar mejor calidad a los consumidores

Seguir protocolos de ordeño higiénico adecuado, como mínimo, para disminuir la incidencia de mastitis en las vacas y con ello los posibles daños a la calidad de la leche, con ello se reducen gastos económicos implicados en la curación de la mastitis y el retiro de vacas en producción.

La Norma Salvadoreña necesita incorporar parámetros físico-químicos y microbiológicos para leche cruda, con ello la población se sentirá más segura acerca del consumo de leche de procedencia interna.

Se recomienda realizar estudios sobre mastitis y calidad de leche en otras regiones del país, con el objetivo de conocer más generalizadamente el tipo de leche que se comercializa a nivel nacional, y con ello concientizar al ganadero a brindar leche de mejor calidad, con lo que inclusive se podría exportar.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

**Acuña, M; Rivadeneira, E. 2008.** Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha. Quito, EC. Angolquí. p. 32-34.

**Adasca, J; Silva, A; Berge, A; Sischo, W. 2006.** Genetic and phenotypic variability among salmonella, serovar, typhimurium Isolates from California dairy cattle and humans. EU. p. 90-95.

**Alais, C. 1984.** Ciencia de la leche. Distrito Federal, MX. 5 ed. Continental. p.574.

**Álvarez, F; Herrera, H; Barreras, S. 2012.** Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México. Archivos Médicos Veterinarios N°44:237-242.

**Amiot, J. 1991.** Ciencia y tecnología de la leche. Trad. Rosa Almudi. Zaragoza, ES. Acribia.p. 31.

**AOAC (Association of official analytical chemists). 2000.** Official methods of analysis collection of milk laboratory sample. 15ed. Virginia, EU. p. 802.

**Auldist, M; Walsh, B; Thomson, N. 1998.** Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. Journal of Dairy Research. N° 15: 401-411.

**Ávila, S. 2009.** Producción de leche con ganado bovino: Grupos Genéticos de Ganado bovino Destinados a la Producción de Leche. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. DF, MX. p. 221-227.

**Bachman, K. 1994.** Managing milk composition. University of Florida. Dairy Report.EU. p 336-346.

**Báez, J. 2002.** Estudio epidemiológico de mastitis subclínica bovina en el sector II de Tejano Michoacán. Tesis de licenciatura veterinaria. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Michoacán, MX. p 120.

**BAM (Bacteriological Analytical Manual).2001.** Food and Drug Administration (FDA).8 ed. EU.25 p.

**Barbosa, C; Barreiro, R; Mestieri, L. 2013.** Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyracows. BMC Veterinary Research EU.N°9(67):1-7.

**Barkema, HW.1997.** Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. Journal of dairy science.Elsevier.EU.p.411-419.

**Baró, L. 2001.** Bioactive milk peptides and proteins. Ars Pharmaceutica. Ingeniería Química, Universidad de Granada. ES. p.111

**Barría, N; Jara, A. 1998.** Efecto del recuento de células somáticas sobre la producción y los componentes lácteos en vacas lecheras. XXIII Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Chillán, CL. p. 3.

**Bedolla, P. 2008.** Métodos de Detección de la Mastitis Bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, MX. p.10.

**Bernal, M; Rojas, G; Vázquez, F. 2007.** Determinación de la calidad fisicoquímica de la leche cruda producida en sistemas campesinos en dos regiones del Estado de México. Revista Veterinaria. N°38(4):395-407.

**Blood, D. 1992.** Medicina Veterinaria. McGraw-hill INTERAMERICANA.7 ed. MX.v 2, p.33

**Blowey, R; Edmondson, P. 1995.** Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Zaragoza, ES. Acribia. p. 210-215.

**Bradley, F. 2005.** Use and Interpretation of Somatic Cell Count data in dairy cows. British Veterinary Association.EU.p.11.

**Bruckmaier, R; Blum, J. 2004.** Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. *Veterinary medicine-Czech.* N°8:283-290.

**Butendieck, N. 1997.** Células somáticas, mastitis y calidad de leche. En: *Calidad de leche e interpretación de resultados de laboratorio. Curso – Taller. Serie Carillanca N° 62.* INIA, CL. p 1-15, 31.

**Cabrera, A; Alvarez J; Hedalgo, J. 1987.** Microbiología de la leche. *Leche y sus derivados. Manual de higiene de los alimentos.* Habana, Cuba. 2 ed. Isaac. p. 89-166.

**Calderón, A; Rodríguez, V; Vélez, S. 2007.** Evaluación de la calidad de leches en cuatro procesadoras de quesos en el municipio de Montería. *Tesis de licenciatura veterinaria.* Córdoba, CO. p. 10-11.

**Celis, M; Juárez D. 2009.** Procesos fundamentales físico-químicos y microbiológicos. *Especialización y maestría en medio ambiente, laboratorio de química.* Universidad Tecnológica Nacional de Argentina. p. 87-90.

**Cerón, F; Duarte, J; Oliveira, J. 2002.** Factors affecting somatics cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *Journal of Dairy Science.* N°85: 2870-2889.

**Chacón, V. 2004.** Acidez y peso específico de la leche de cabra de un grupo de capricultores de meseta central costarricense. *Agronomía Mesoamericana.* CR. p 179.

**CNPL (Cámara Nacional de productores de leche, Costa Rica) 2012.** Congreso Nacional Lechero 2012, Noviembre de 2012. Con base en reuniones de la Federación Centroamericana del Sector Lácteo (FECALAC), San José, CR. P 25-30

**Códex Alimentarius. 2009.** Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. 2 ed. Roma, IT. FAO/OMS. p. 187-190.

**COFOCALEC (Consejo para el Fomento de la Calidad de Leche y sus derivados). 2004.** Organismo Nacional de Normalización. Jalisco, MX. p. 75.

**Cogan MT. 1972.** Susceptibility of Cheese and Yogurt Starter Bacteria to Antibiotics. Applied Microbiology. N° 23: 925-975

**CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). 2006.** Norma Salvadoreña Obligatoria 67.01.01.06 "Leche Cruda de vaca". CONACYT. San Salvador, SV. p. 3.

**Corbellini, C. 2002.** La mastitis bovina y su impacto económico sobre la calidad de leche. Medellín. COLANTA. CO. p. 251-265.

**Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). 1995.** Entorno socioeconómico y problemática tecnológica de la ganadería de leche especializada. Informe técnico. Bogotá, CO. p 21.

**Cotrino, V. 2003.** Los antibióticos: Recurso no renovable (En línea). Carta Fedegan. No.81Bogotá, Colombia. Disponible en <http://www.fedegan.org.co/81sanidad.html-46k>; Consultado el 28-06-14.

**David, J; Ruben N. Helena H. 1996.** Bovine Mastitis Pathoenesss in New York and Pensylvania: Prevalence and effect on Somatic Cell Count and Milk Effects on Somatic Cell Count an Milk Production. Quality Milk Promotion Services, Cornell University, New York. American Dairy science Association.13: 2592-2598

**DeLaval. 2005.** Tomado del Manual de usuario del aparato DeLaval para detección de células somáticas. Madrid. ES.

**Delvotest SP NT. 2011.** Tomado del Manual de usuario del aparato Delvotest para detección de antibiótico en leche. Food specialties B.V. NL.

**De Vliegher. 2012.** Mastitis en vaquillas: Naturaleza de la enfermedad, impacto potencial, prevención y control. Hoard's Dairyman. Edición Abril 2012. p. 210.

**Dos Santos, J; Gentilini, E; Sordelli, D; de Freire Bastos, M. 2002.** Phenotypic and genetic characterisation of bacteriocin-producing strains of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis. Veterinary Microbiology. N° 85: 133 -144.

**Ellner, R. 2000.** Microbiología de la leche y de los productos lácteos: preguntas y respuestas. Díaz de Santos. Madrid, ES. 144 p.

**Escobal, I. 2000.** El manejo de las camas y las mamitis en vacuno lechero. Analítica veterinaria, VE. p. 2-3.

**FAO (Food and Agriculture Organization), Equipo Regional de Fomento y Capacitación en lechería para América Latina. 1981.** Manual de composición y propiedades de la Leche. Santiago, CL. p. 39.

**FAO (Food and Agriculture Organization), WHO (World Health Organization). 2005.** Working principles for risk analysis for application in the framework of the Codex Alimentarius. 15 ed. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome IT. Codex Alimentarius Commission. p. 101-107.

**FDA (Food and Drug Administration). 2013.** Pasteurized Milk Ordinance 2007 Revision. Department of Health and Human Services. Public Health Service. EU. Pg 135-136.

**Francis, P. 2005.** Introducción a la lactología. 2 ed. Limusa. Distrito Federal, Mx. p. 75.

**Frazier, W; Westhoff, D. 1993.** Microbiología de alimentos. 4 Ed. Zaragoza, ES. Acribia. p. 680.

**Fox, PG; McSweeney, P. 1998.** Dairy Chemistry and Biochemistry. Chapman & Hall. London. Vol 3. p. 12

**Gallegos, A; Moncada, JN. 2011.** Uso De Extractos De Semillas De Cítricos Para El Control De La Mastitis Bovina. Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias, Zootecnia. Caldas, AN. p. 120.

**García, AD. 2004.** Células Somáticas y Alto Recuento Bacteriano ¿Cómo Controlarlo?, Extension Extra. College of Agriculture & Biological Sciences. South Dakota State University USDA, Dairy Science Department, Septiembre. p. 2.

**García, G. 1987.** Derivados lácteos, manejo de la leche. Servicio nacional de aprendizaje. Bogotá, CO. p.5.

**García, M. 2004.** Determinación de la calidad higiénica de la leche mediante la medición indirecta del tiempo de reducción del azul de metileno o prueba de la reductasa microbiana. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, ES. P 6.

**Gaviria, B. 1980.** Manual de procedimientos microbiológicos en leche. Bogotá, CO. Merck. p. 73.

**Gaviria, B. 2007.** Calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda. Biogénesis. Universidad de Antioquia. CO. p. 27.

**González, RF; Juan, G. 2001.** Los riesgos microbiológicos. Resultados del estudio de calidad de leche de 150 tambos en 32 distritos de la provincia de Santa Fe. Santa Fe, p. 74.

**González, R; Wilson, D. 2002.** Realistic milk culture programs for herd expansion. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. N° 32.118-124 p.

**Guerra, M. 1999.** Evaluación del efecto de la mastitis subclínica sobre las fracciones proteicas del suero de la leche determinadas mediante electroforesis. Tesis licenciatura en veterinaria. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. CL. 74 p.

**Guízar, J; Bedolla, L. 2008.** Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. REDVET. N° 9 (10): 1-35.

**Hazard, TS. 1997.** Variación de la composición de la leche. Serie Carillanca. Curso taller Calidad de leche e interpretación de resultados de laboratorio. CL. N° 62: 5-69.

**Heringstad, B; Klemetsdal, G; Ruane, J. 2000.** Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science*. N° 64:95-106.

**Hernández, R. 2008.** Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *Revista Electrónica de Veterinaria*. Veterinaria Organización Málaga, ES. N°9:1-34.

**Hibma, J. 2012.** Avanzando en nuestra estrategia de tratamientos de mastitis. *Revista Hoard's dairyman*. Edición Septiembre 2012, EU. p 512-513.

**Hockett, M; Hopkins, F; Lewis, M; Saxton, A Dowlan, H; Oliver, S; Schrick, F. 2000.** Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation. *Animal Reproduction Science*. N°58:241-251.

**IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 2011.** Caracterización de la cadena productiva de lácteos en El Salvador. San Salvador, SV. p.22.

**INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 2014.** Prevención de mastitis. Argentina. *Rev. INTA informa*. Noviembre 2014. p.2

**Jaime, A. 2001.** Microbiología de la leche y sus productos. MX. p. 25-30.

**Judkins, H; Harry, k. 1984.** La Leche: Su producción y procesos industriales. Distrito Federal. MX. Continental. p. 20.

**Kruze, J. 1998.** La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. (UACH)Universidad Austral de Chile. p.45.

**Lactostar Funke, Gerber. 2009.** Tomado del Manual de usuario del aparato Lactostar Funke, Gerber para pruebas físico-química de productos lácteos. DE.

**La Gaceta Para el Uso de Términos Lecheros. 2006.** Norma de Costa Rica. Imprenta Nacional. 20 p.

**Levicán, J. 1992.** Caracterización de la flora psicotrófica y sus proteasas en leche cruda refrigerada. Tesis de Bioquímico. Universidad Austral de Chile. 149 p.

**MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador). 2011.** Anuario de estadísticas agropecuarias. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). p. 25.

**Magariños, H. 2000.** Producción higiénica de la leche cruda. Producción y servicios incorporados S. A. Guatemala. p. 37-41.

**Mahieu, G. 1976.** La Calidad de la leche: Aspectos relacionados con la calidad en la producción de quesos. Unión Europea. Instituto de Tecnología Industrial. ARG. p 14.

**Manterola, B. 2007.** Manejo nutricional y composición de la leche. Tesis de licenciatura en medicina veterinaria. Santiago, CL. (UCHILE) Universidad de Chile. p.112.

**Manual de química. 2008.** Facultad de Química Agrícola. Programa de química general. San Salvador, SV. Universidad de El Salvador. p. 8.

**Mateus, G. 1983.** Mastitis en bovinos. San José, CR. CATIE. p. 12-15.

**Medina, C; Montaldo, V. 2003.** El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para mastitis en: Congreso Nacional de Control de Mastitis. (IV congreso/ 2003/ Aguascalientes, MX). Aguascalientes, MX. p. 21-23.

**Medina, R. 2002.** Prevalencia e Identificación de Agentes Etiológicos Causantes de mastitis en el Municipio de Vista Hermosa, Michoacán. Tesis de licenciatura en medicina veterinaria. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Michoacán, MX. p. 83.

**Ministerio de Economía de El Salvador. 2011.** II Informe de Desarrollo para la cadena de valor de los productos lácteos: Modelo productivo para las MYPES del sector lácteo de El Salvador. 67 p.

**Morales, D. 2012.** Buenas prácticas en el manejo de la leche. Proyecto GCP/GUA/012/SPA II Fase. FAO. Guatemala. GT. Pg.2-10.

**Morales, MS. 1999.** Factores que afectan la composición de la leche. Facultad de Ciencias Veterinarias. Santiago, CL. Universidad de Chile. p. 93.

**Moreno, AS. 1987.** Manejo de razas lecheras. Lima, PE. Interamericana. p. 64.

**Morresey, PR. 1999.** Bovine mastitis: Current veterinary therapy for food animal practice. Philadelphia, EU. WB Saunders Co. p. 563-568.

**Negri L; Chávez M; Taverna M; Roberts L. 2005.** Factores que afectan la estabilidad térmica y la prueba del alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada. Informe técnico final de proyecto. AR.EEA-Rafaela INTA.p. 51-53.

**Nickerson, S. 2012.** ¿Está usted listo para el nuevo límite legal de CCS Hoard's Dairyman. Edición Marzo 2012. p. 176.

**NMC (Global organization for mastitis control and Milk Quality). 1987.** Wisconsin. EU. N° 34: 579-596.

**Norman, E. 2000.** Consecuencia de estándares alternos para cuenta de células somáticas en tanque de leche en hatos lecheros en Estados Unidos. Hoard's Dairyman. Edición Enero 2012. p. 26.

**OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria). 2007.** Manual de explotaciones lecheras para Centroamérica, Panamá y Belice. 35 p.

**Oliver, S; Boor, K; Murphy, S; Murinda, S. 2009.** Food Safety Hazards Associated with Consumption of Raw Milk. Foodborne Pathog Dis. Department of Animal Science, The University of Tennessee. p. 7.

**Philpot, WN. 1999.** Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que la afectan en: Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. (Tercer congreso/1999/León Guanajuato. MX). León Guanajuato. MX. p. 26.

**Pinto, MS; Vega, N. 1996.** Métodos de análisis de la leche y derivados: Garantía de calidad. Valdivia, CL. Universidad Austral de Chile. 100, 128p.

**Ponce, P. 1988.** Calidad de la leche y su control: una problemática nacional. ISCAH: 1-47, CU. P.5-6.

**Radostits, OM; Gay, CC; Blood, DC. 2002.** Mastitis Bovina. Madrid, ES. 9 ed. Mcgraw-Hill. p. 728, 812.

**Revilla, A. 1982.** Tecnología de la leche: Procesamiento, manufactura y análisis. 2 ed. San José, CR. IICA. p. 415.

**Saini, B. 2012.** Asociación a nivel de hato entre uso de antibióticos y resistencia a antibióticos en cultivos de *Staphylococcus aureus* aislado en casos de mastitis en granjas lecheras canadienses. Hoard's Dairyman. Edición Mayo 2012. P. 274.

**Sakemi C; Gallegos, A; Moncada, J. 2011.** Uso De Extractos De Semillas De Cítricos Para El Control De La Mastitis Bovina. Tesis Lic. en medicina veterinaria. Universidad Lasallista, Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias, Zootecnia. Caldas, AN. 120 p.

**Santana, R; Uribe, C. 2009.** Rutina de ordeño y calidad higiénica de la leche. Remehue, CL. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. p. 5.

**Saran A; Chaffer, M. 2000.** Tratamiento de la mastitis: Mastitis y calidad de leche. 3 ed. Buenos Aires, AR. Intermédica. p. 73-86.

**Sbodio, O; Rozycki, V; Freyre, M. 1988.** Calidad de leche: La Alimentación Latinoamericana. REDVET. N.º 171, 58-64.

**Schalm, OW. 1997.** Pathologic changes in the milk and udder of cows with mastitis. Journal of the American Veterinary Medical Association. N° 170: 1137- 1140.

**Schrack, F; Hocket, M; Saxton, M. 2001.** Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. Journal Dairy Science. N° 84:1407-1412.

**Schultz, P; Grohn, Y; McCulloch C. 1998.** Effects of Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. College of veterinary Medicine. Cornell University, New York. American Dairy science Association. N° 13: 1213-1220

**Sears, PM; González, RN; Wilson, DJ; Han, HR.1993.** Proceduresfor mastitis diagnosis and control. Vet Clinical North America. EU.N° 9:445-468.

**SENA (Servicio Nacional de Aprendizaje). 1987.** Microorganismos Útiles y Perjudiciales de la Leche: Derivados Lácteos. Centro Agropecuario de la Sabana. N° 5: 56-71.

**Shuster, DE. 1991.** Suppression of Milk Production During Endotoxin-Induced Mastitis. J. Dairy Sci. EU. N° 74: p. 3763-3774.

**Singh, H; McCarthy, OJ; Lucey, JA. 1997.** Physico-chemical properties of milk. Palmerston North, New Zealand. Institute of food, nutrition and human health, Massey University. Visitado 27 may. 2014. Disponible en [http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-84865-5\\_15](http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-84865-5_15).

**Sixtos, ES. 2011.** Frecuencia y etiología de la mastitis bovina en Cherán. Ar. p. 21-24.

**Smith, BP. 1990.** Large Animal Internal Medicine. St Louis Missouri, EU. The C.V. Mosby Co. p. 4-8.

**Smith, A. 2013.** Efecto de la mastitis sobre la lactosa en leche. Hoard's Daryman. N° 12: p15.

**Swanson, KM; Petran, R; Hanlin, J. 2001.** Culture methods for enumeration of microorganisms: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4 ed. Washington. EU. Downs F.P. &lto K. p. 53-67.

**Stanier, R; Duodoroff, M. 1976.** El mundo de los microbios. 3 ed. Madrid, ES. Aguilar. P.45

**Tallamy, PT; Randolph, HE. 1970.** Influence of mastitis on properties of milk: Total and free concentrations of minerals. Dairy Science. N°53:1220-1386.

**Tollersrud, T; Kenny, K; Reitz, AJ; Lee, JC. 2000.** Genetic and Serologic Evaluation of Capsule Production by Bovine Mammary Isolates of *Staphylococcus aureus* and Other *Staphylococcus* spp. United States. *Journal of Clinical Microbiology*. N°38:2998-3003.

**Tomasinsig, L; De Conti, G; Skerlavaj B; 2010.** Broad-Spectrum Activity against Bacterial Mastitis Pathogens and Activation of Mammary epithelial Cells Support a Protective. *Infection and Immunity*. N°78:1781-1815.

**UCA (Universidad Centroamericana José Simeón Cañas). 2001.** El sector lácteo en El Salvador. San Salvador, SV. UCA. p. 27.

**UNAVARRA (Universidad Pública de Navarra). 2002.** Crecimiento y muerte de microorganismos. ES. p.22.

**Van Schaik, G; Lotem, M; Schukken, Y. 2002.** Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York state during 1999–2000. *Journal of Dairy Science*. N° 27: 782-789.

**Vilotte, JL. 2002.** Lowering the milk lactose contents in vivo: potential interests, strategies and physiological consequences *Reproduction. Nutritional. Dev.* 42, 127 132.

**Walstra, P; Jenner, R. 1990.** Química y Física de la Leche. 3 ed. New York, US. John Wiley and Sons. p. 106.

**Wellenberg, G; Van der Poel, W; Van Oirschot, J. 2002.** Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology*. N° 231: 2-21.

**Wolter, W; Koppert, B. 2004.** La Mastitis Bovina. Guadalajara, MX. Instituto Estatal de Investigaciones de Hesse Universidad de Guadalajara. p.64.

**ZONU. 2003.** Colección de mapas continentales y regionales de todo el mundo (en línea). ES. Consultado 17 ago. 2014. Disponible en [http://www.zonu.com/mapas\\_el\\_salvador/Mapa\\_Departamento\\_Sonsonate\\_El\\_Salvador.htm](http://www.zonu.com/mapas_el_salvador/Mapa_Departamento_Sonsonate_El_Salvador.htm)

## 8. ANEXOS

**Cuadro A- 1.** Análisis estadístico de proteína con respecto a CMT

<b>Variable</b>	<b>CMT</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D. E.</b>	<b>Medianas</b>	<b>H</b>	<b>P</b>
<b>Proteína</b>	1	<b>36</b>	3.28	0.36	3,25	3.07	0.2157
<b>Proteína</b>	2	<b>36</b>	3.15	0.28	3.16		
<b>Proteína</b>	3	<b>35</b>	3,09	0.52	3.19		

**Cuadro A- 2.** Análisis estadístico de grasa con respecto a CMT

<b>Variable</b>	<b>CMT</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D. E.</b>	<b>Medianas</b>	<b>H</b>	<b>P</b>
<b>Grasa</b>	1	36	3.77	0.53	3,64	2.18	0.3369
<b>Grasa</b>	2	36	3.76	0.69	3.75		
<b>Grasa</b>	3	35	3,56	0.85	3.53		

**Cuadro A- 3.** Análisis estadístico de lactosa con respecto A CMT

<b>Variable</b>	<b>CMT</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D. E.</b>	<b>Medianas</b>	<b>H</b>	<b>P</b>
<b>Lactosa</b>	1	36	4.98	0.59	4.92	1.94	0.3797
<b>Lactosa</b>	2	36	4.81	0.44	4.79		
<b>Lactosa</b>	3	35	4.72	0.65	4.80		

**Cuadro A- 4.** Análisis estadístico de sólidos no grasos con respecto a CMT

<b>Variable</b>	<b>CMT</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D. E.</b>	<b>Medianas</b>	<b>H</b>	<b>P</b>
<b>SNG</b>	1	36	8.95	0.86	9.05	1.76	0.4146
<b>SNG</b>	2	36	8.72	0.84	8.74		
<b>SNG</b>	3	35	8.67	1.25	8.90		

**Cuadro A- 5.** Análisis estadístico de densidad con respecto a CMT

<b>Variable</b>	<b>CMT</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D. E.</b>	<b>Medianas</b>	<b>H</b>	<b>P</b>
<b>Densidad</b>	1	36	1.0298	0.0058	1.0283	4.6439	0.0979
<b>Densidad</b>	2	36	1.0277	0.0045	1.0267		
<b>Densidad</b>	3	35	1.0268	0.0061	1.0274		

**Cuadro A- 6.** Análisis estadístico de pH con respecto a CMT

Variable	CMT	N	Medias	D. E.	Medianas	H	P
pH	1	36	6.72	0.12	6.74	11.58	0.0030*
pH	2	36	6.78	0.17	6.77		
pH	3	35	6.86	0.20	6.82		

\*Significativo

Trat. Rangos \_\_\_\_\_

1.00 41.42 A

2.00 54.46 A B

3.00 66.47 B

**Cuadro A- 7.** Análisis estadístico de acidez con respecto a CMT

Variable	CMT	N	Medias	D. E.	Medianas	H	P
Acidez	1	36	14,63	1.86	14.28	3.06	0.2108
Acidez	2	36	14.23	2.15	14.28		
Acidez	3	35	15.00	3.01	15.17		

**Cuadro A- 8.** Análisis estadístico de bacterias totales con respecto a CMT

Variable	CMT	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Bacterias totales	1	36	250,194	719887.67	61500	4.21	0.122
Bacterias totales	2	36	311,333	320482.69	47500		
Bacterias totales	3	36	594,583	849870.87	110000		

**Cuadro A- 9.** Análisis estadístico de coliformes totales con respecto a CMT

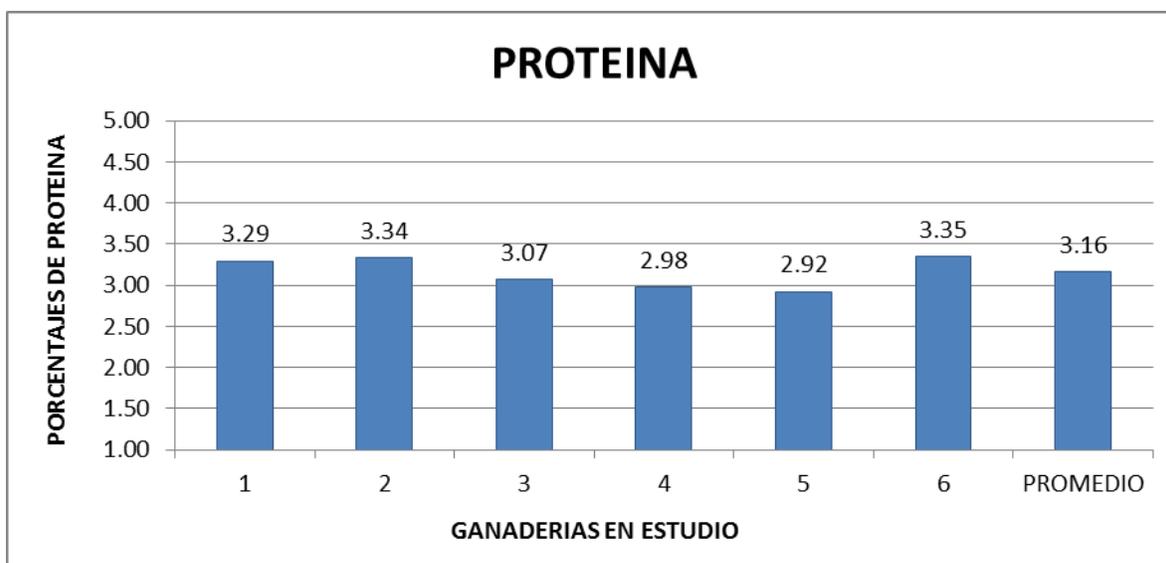
Variable	CMT	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Coliformes	1	36	22,806	153206.22	5000	2.47	0.2862
Coliformes	2	36	21,792	40041.3	5500		
Coliformes	3	36	179,000	419429.15	8000		

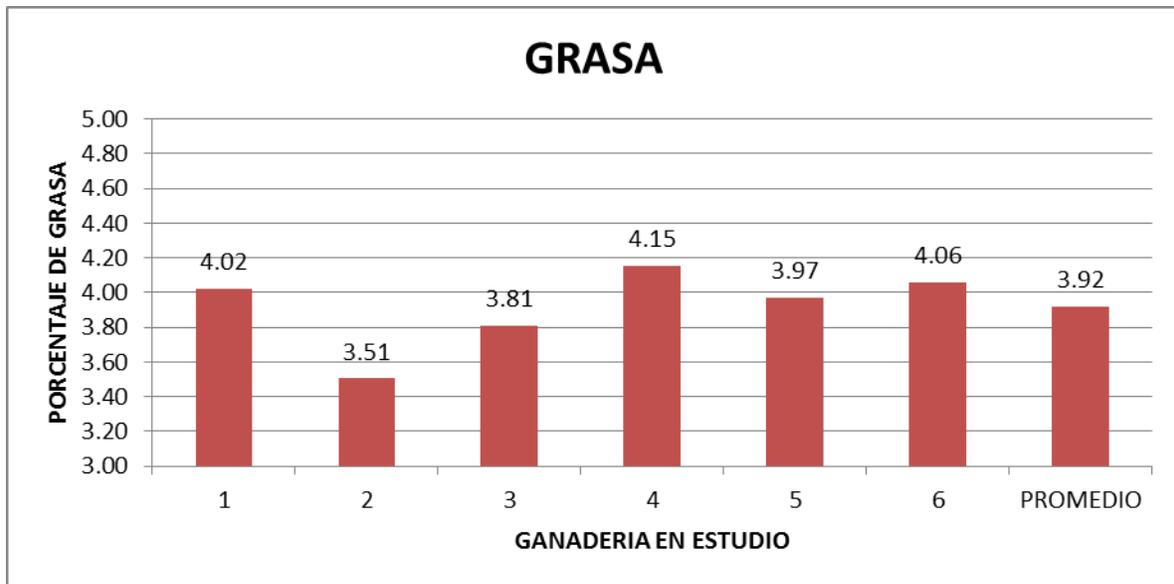
**Cuadro A- 10.** Análisis estadístico de recuento celular somático con respecto a CMT

Variable	CMT	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
RecCelSom	1	36	137,028	298998.55	52000	59.78	<0.0001*
RecCelSom	2	36	637,333	701922.88	447500		
RecCelSom	3	36	1720,194	1213018.1	1421500		

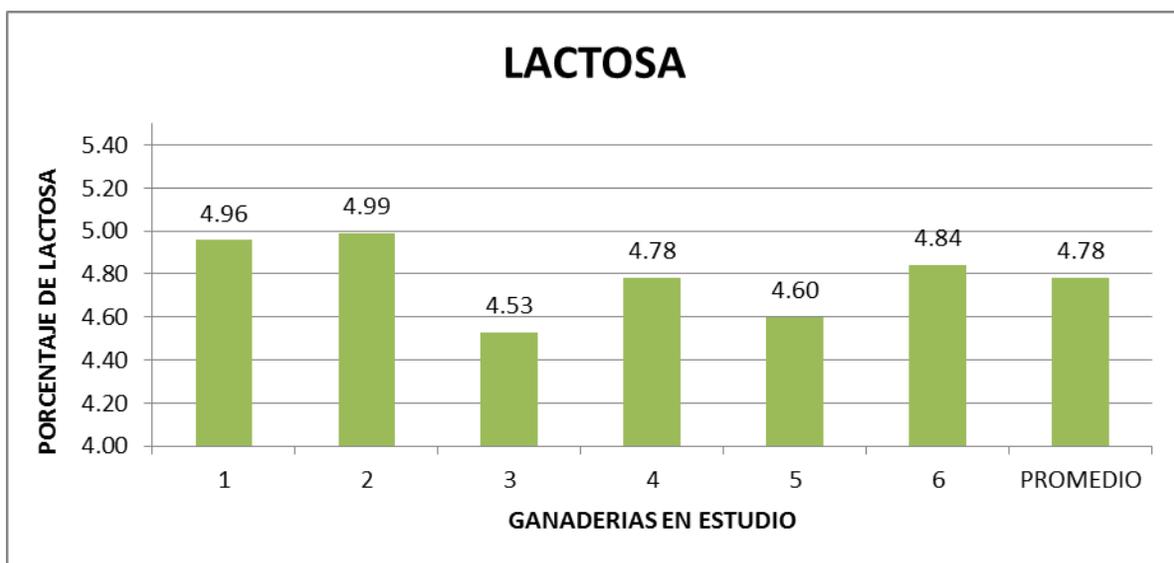
\*Significativo

Trat.	Ranks			
1	24.14	A		
2	58.58		B	
3	80.78			C

**Figura A- 1.** Resultados de proteína en leches de tanques.



**Figura A- 2.** Resultados de grasa en leche de tanques.



**Figura A- 3.** Resultados de lactosa en leche de tanques.

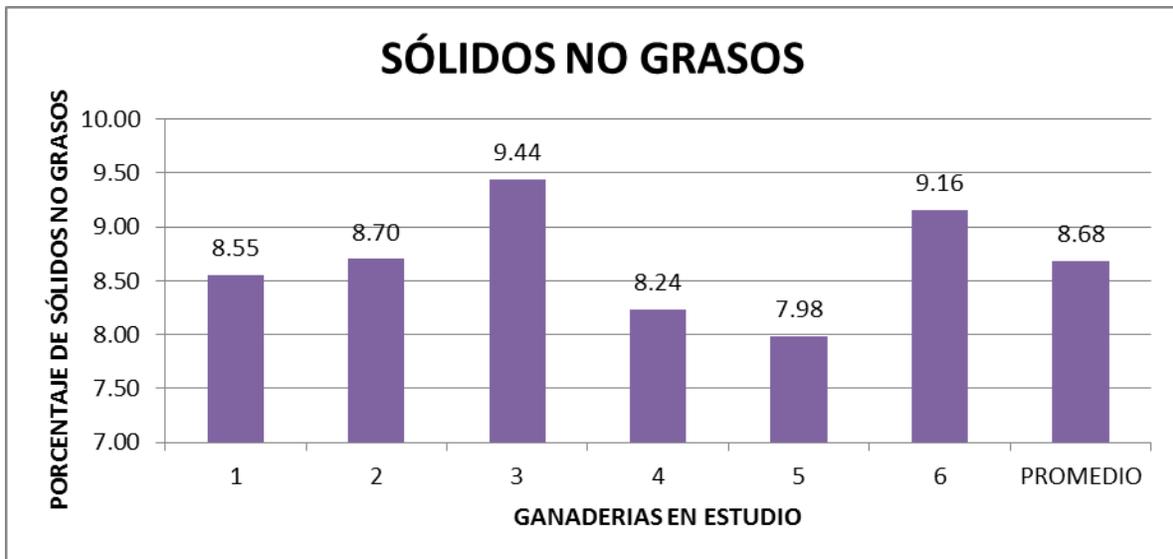


Figura A- 4. Resultados de sólidos no grasos en leche de tanques.

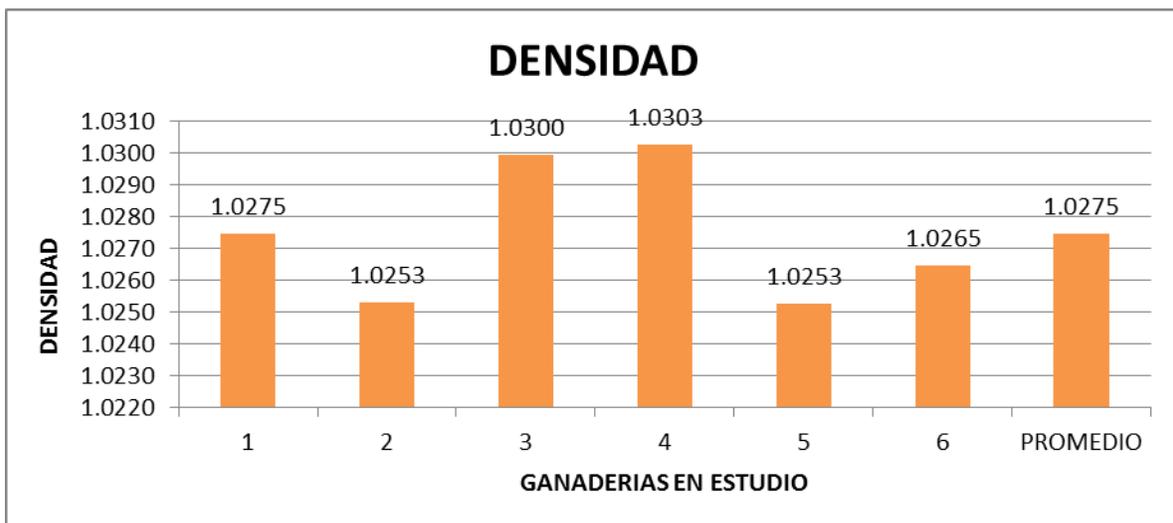


Figura A- 5. Resultados de densidad en leche de tanques.

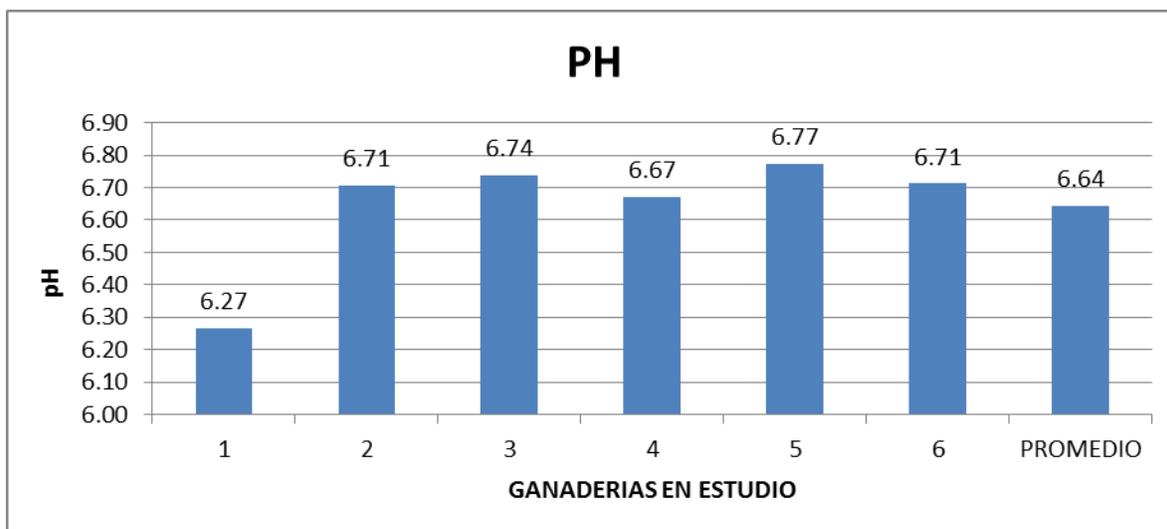


Figura A- 6. Resultados de pH en leche de tanques.

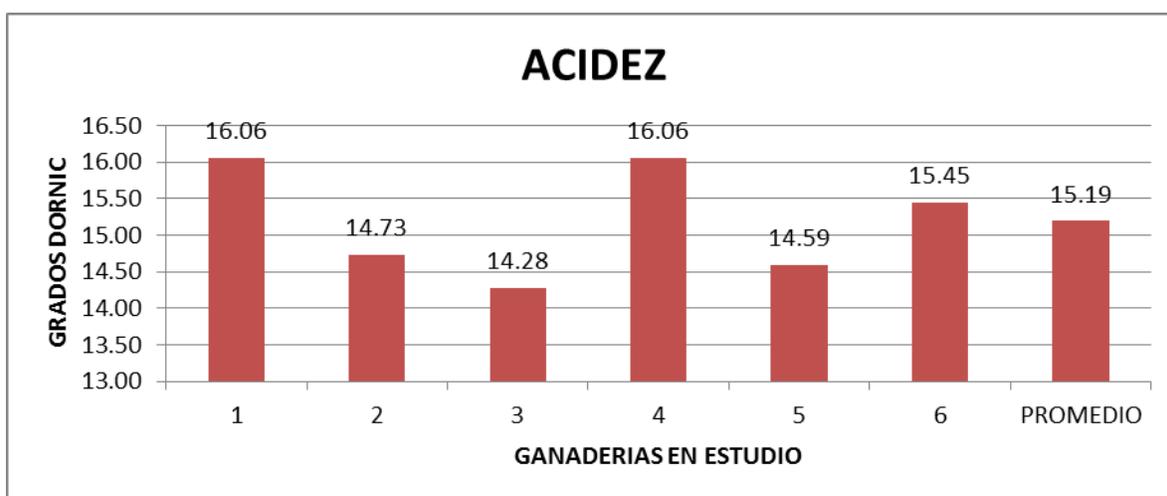


Figura A- 7. Resultados de acidez en leche de tanques.

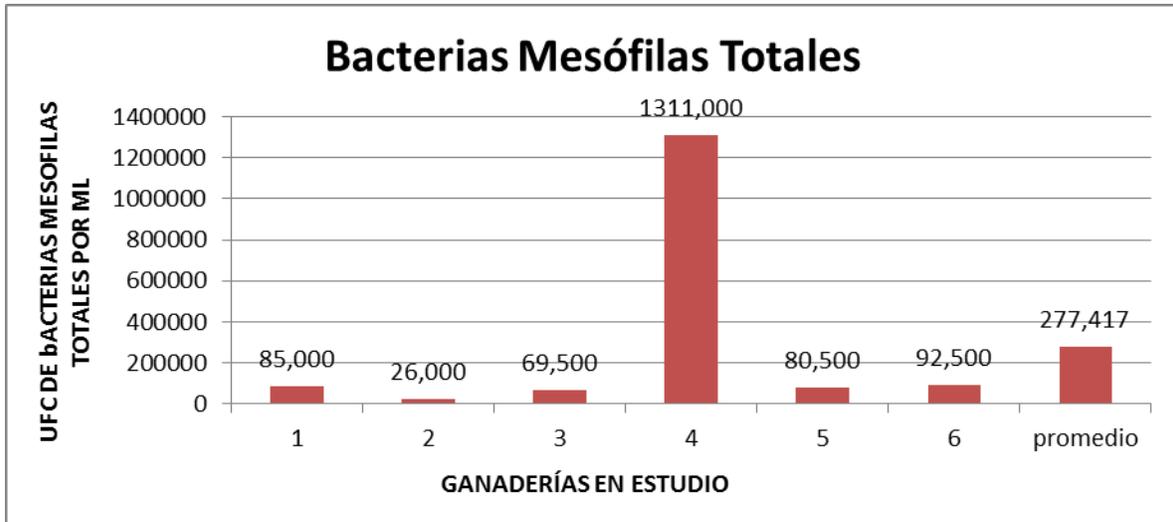


Figura A- 8. Resultados de bacterias aerobias mesófilas en leche de tanques.

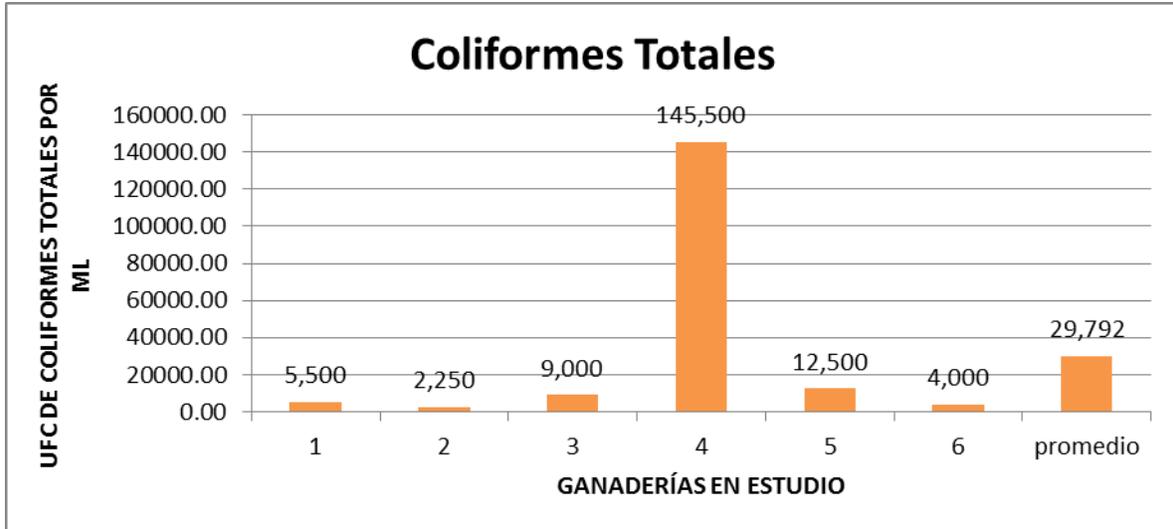
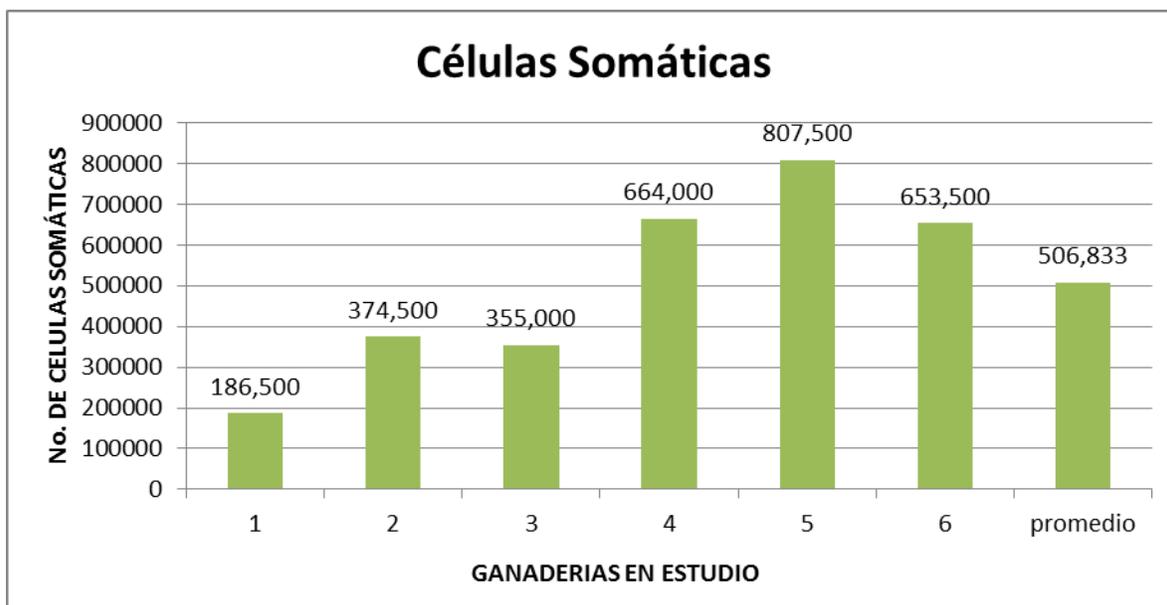


Figura A- 9. Resultados de coliformes totales en leche de tanques.



**Figura A- 10.** Resultados de células somática en leche de tanques.

## **A- 1. Tipos de ordeño**

### **Ordeño mecánico**

Es la extracción de leche de la ubre por medio de mecánicas que funcionan simulando la acción del becerro mediante la aplicación de vacío cuando este es alimentado con biberones y mamila de hule (Ávila 2009).

#### **Pasos del ordeño mecánico** (Acuña y Rivadeneira 2008).

El ordeñador debe lavarse las manos con agua y jabón.

Lavar los pezones con agua limpia y colocar una solución de presellado como el yodo.

Secar los pezones con papel absorbente preferiblemente.

Colocar correctamente las pezoneras para evitar que se caigan y se llenen de estiércol.

Controlar el flujo de leche.

Retira las pezoneras, una vez haya terminado de salir la leche; evitar el sobreordeño porque causa daños en los pezones y en la ubre.

Sellar los pezones, con la solución sellante de pezones así se evita la entrada de microorganismos.

Al terminar el ordeño, lavar las pezoneras con solución desinfectante.

### **Ordeño manual**

A continuación se mencionan los pasos que deben llevarse a cabo a la hora de realizar un ordeño manual (Morales 2012):

**Limpieza del local de ordeño:** Todos los días, antes de ordeñar, el piso y las paredes del local de ordeño deben limpiarse con agua y detergente, retirando residuos de estiércol, tierra, alimentos o basura.

**Arreado de la vaca:** Es importante arrear a la vaca con tranquilidad y buen trato, proporcionándole un ambiente tranquilo antes de ordeñarla. Esto estimula la salida de la leche de la ubre. El ordeño deberá efectuarse una vez al día en horarios fijos. Dependiendo de la condición de la vaca, se puede ordeñar hasta dos veces diarias.

**Amarrado de la vaca:** La inmovilización de la vaca durante el ordeño se realiza con un lazo, que debidamente amarrado a las patas y cola de la vaca (rejo), permite sujetarla, dando seguridad a la persona que va a ordeñar y previniendo algún accidente (como patadas de la vaca al ordeñador, o que la vaca tire el balde de la leche recién ordeñada).

**Lavado de manos y brazos del ordeñador:** Una vez que está asegurada la vaca y el ternero, la persona que va a ordeñar tiene que lavarse las manos y los brazos, utilizando agua y jabón. De esta manera se elimina la suciedad de manos, dedos y uñas.

**Preparación y lavado de los utensilios de ordeño:** Los utensilios de trabajo a utilizar son: baldes plásticos –tanto para el traslado de agua y el lavado de pezones como para la recogida de la leche–, mantas y cubetas.

**Realización del ordeño higiénico (OIRSA 2007)**

Para reducir al mínimo la contaminación durante el ordeño es necesario aplicar prácticas de higiene eficaces con respecto a la piel del animal, el equipo de ordeño (si se utiliza), el manipulador y el ambiente en general. El ordeño debe realizarse en condiciones, que incluirán:

Buen trato a las vacas durante el arreo y período previo al ordeño;

Realizarse dentro de una sala de ordeño, limpia y sin perturbaciones;

Asegurarse de que las personas que realizan el ordeño sigan las reglas básicas de higiene: Usar ropa limpia y apropiada, Mantener las manos y brazos limpios, especialmente durante el ordeño, cubrir cortes o heridas, No tener ninguna enfermedad contagiosa.

En caso de utilizar agua para lavar y masajear los pezones, ésta debe ser potable, secar los pezones con toallas individuales;

El empleo de recipientes y equipos de ordeño, limpios y desinfectados;

Los animales con síntomas clínicos de enfermedad deben ser separados y/o ser los últimos ordeñados.

Los animales sometidos a la aplicación de medicamentos que se eliminan por la leche deben ser separados y/o ser los últimos ordeñados.