



CREER... CREAR... CRECER

T.689

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

**CARACTERIZACIÓN DE LA CALIDAD DE
LECHE EN TAMBOS DE LA CUENCA
LECHERA DE VILLA MARÍA**

**TESIS FINAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
MASTER EN INOCUIDAD Y CALIDAD DE ALIMENTOS**

Microbióloga Marina R. Militello

Dr. Alejandro L. Oriestra

Dra. Liliana Odierno

Río Cuarto, Marzo de 2010

68889

MILITELLO, M.R.
Caracterización de l

2010

68889



"La utopía está en el horizonte. Me acerco dos pasos, ella se aleja dos pasos. Camino diez pasos y el horizonte se desplaza diez pasos más allá. Por mucho que camine, nunca la alcanzaré. ¿Para que sirve la utopía? Para eso, para caminar..."

Eduardo Galeano

65889

MFN:
Clasf: T.689

Agradecimientos:

A papá y mamá, por haber incentivado en mí las ganas constantes de aprender y saber, pero sobre todo por haberme dado una familia con la que contar el resto de mi vida...

A mis hermanitas y cuñados, por traer al mundo los cables a tierra más firmes, más dulces..., capaces de sostenerme en los momentos de mayor fragilidad: mis hermosos pupis...

Timi y Vico, no me olvido de ustedes, gracias por estar conmigo desde siempre hermanas.

A mis queridas amigas de la vida: Paolita, Caro, Colo, Pao, Momy, Celi, Pato, Belén, Patri y Nani, por estar pendientes de mi bienestar y presentes cuando las necesito. Una mesa compartida con ustedes en cualquier lugar del mundo me hace sentir en casa...

Verilo, amiga del corazón, gracias por el aliento, la fuerza y el empuje que me diste para llegar a esta instancia. Gracias por dejarme ser parte de tu familia y sentirla como un refugio.

Maguita y Rocío, sostenes desde mi adolescencia, gracias por compartir y ser parte de cada una de mis metas.

A mis amigos del Frigo, que no pudieron estar para verme terminar, pero que sin su ayuda inicial y generosidad no hubiera logrado cruzar la línea final. Gracias, de corazón...

A mis compañeros de la maestría, por haber logrado que cada día de clases fuese tomado como un bálsamo de placer y alegría, en vez de una dura jornada de estudio. Gracias en especial a mi amiga y compañera de estudio, Daniela B.

Dr. Larriestra, Dra. Odierno; mis mentores, mis guías, mis consejeros. Un infinito gracias por la paciencia, por la dedicación y la entrega a una tarea que no fue fácil de plasmar.

Al Dr. César Bonetto y el personal del laboratorio LABVIMA por colaborar con su tiempo y darme un espacio para realizar parte de esta tesis.

A la Cooperativa Arroyo Cabral y los productores que la integran, por brindarse sin cuestionamientos a las consultas y los pedidos de información realizados. En especial gracias al Sr. Pedro Ledesma por la predisposición y la amabilidad en cada comunicación.

A las chicas de Micro de Alimentos, por soportarme más de una vez y darme guía en otras tantas...

he. militeles

Índice de Contenidos:

	Nº de página
Abreviaturas	6
Resumen	7
Introducción	8
Situación de la lechería en el mundo	9
Situación en Argentina	9
Cuencas lecheras nacionales	10
Marco regulatorio nacional	11
Concepto de calidad en la industria láctea	11
La mastitis bovina	13
Residuos de antibióticos (ATB) en la leche	15
Objetivos	18
Materiales y Métodos	20
Análisis retrospectivo de los valores de recuento celular somático y recuento bacteriano total, período 2005 – 2007	21
Determinación de la presencia de microorganismos y de recuento celular somático a nivel de tanque concentrador	23
Detección de inhibidores en la leche	28
Encuesta de manejo	29
Resultados	31
Estudio retrospectivo	32
Estudio de corte transversal	42
Análisis microbiológico en tanque	42
Recuento celular en tanque	52
Presencia de inhibidores en leche	54
Encuesta de manejo	55
Discusión y Conclusiones	61
Estudio retrospectivo	62
Estudio de corte transversal	63
Conclusiones	72
Bibliografía	73
Anexos	88

Abreviaturas:

- **ADN:** Ácido desoxi ribonucleico
- **AOAC:** Association of Analytical Communities
- **ATB:** Antibiótico
- **C.A.A.:** Código Alimentario Argentino
- **CCC:** Caldo Cerebro Corazón
- **EMB:** Agar Eosina Azul de Metileno
- **FIL:** Federación Internacional de Lechería
- **FAO:** Food Agriculture Organization
- **ICMSF:** Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas en Alimentos
- **IDF:** International Dairy Federation
- **IMViC:** Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer y Citrato
- **ISO:** International Organization for Standardization
- **ml:** mililitros
- **NAHMS:** National Animal Health Monitoring System
- **NMC:** National Mastitis Council
- **PCA:** Plate Count Agar
- **RAM:** Recuento de aerobias mesófilas
- **RBT:** Recuento bacteriano total
- **RC:** Recuento de Coliformes
- **RCS:** Recuento de células somáticas
- **RP:** Recuento de Psicrófilas
- **RS:** Recuento de Staphylococcus
- **RT:** Recuento de Termófilas
- **SAGPyA:** Secretaría de Agricultura Ganadería, Pesca y Alimentos
- **SCN:** Staphylococcus coagulasa negativos
- **SPRyRS:** Secretaría de Políticas, Regulaciones y Relaciones Sanitarias
- **TSA:** Agar Trypticase Soya
- **ufc:** Unidades formadoras de colonias
- **USDA:** United State Department of Agriculture
- **VRBL:** Agar Violeta Rojo Bilis

RESUMEN

El sector lechero cordobés representa un tercio de la producción nacional. Está constituido por dos conglomerados que incluyen el Dpto. de San Justo y San Martín. En este último, donde se desarrolló el presente trabajo, co-existen más de un centenar de pequeñas y medianas industrias lácteas. En este contexto, es necesario conocer la problemática de calidad de leche producida, en particular los estándares microbiológicos y aquellos derivados del control de la mastitis.

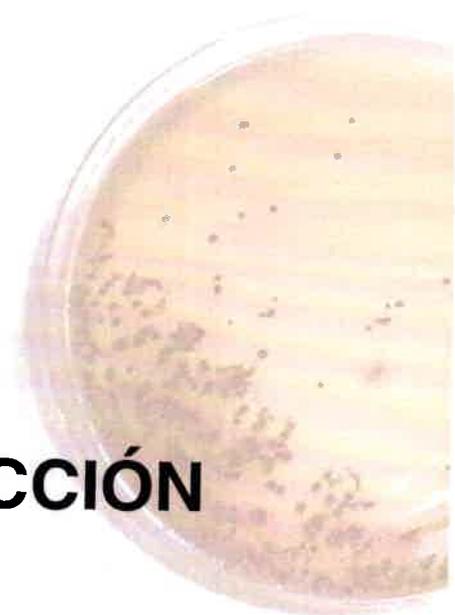
Los objetivos de este trabajo fueron analizar las variaciones de los RCS y RBT en el tiempo, determinar la presencia de los microorganismos alteradores de la calidad de la leche, asociados a la mastitis e indicadores de contaminación, la presencia de inhibidores y describir prácticas de manejo de salud mamaria de los tambos.

La población en estudio involucró establecimientos de la Coop. A. Cabral (Dpto. San Martín). El análisis retrospectivo se realizó con datos de tanque existentes de los años 2005 a 2007. Entretanto las determinaciones microbiológicas y de Inhibidores se realizaron mediante un muestreo transversal y en el contexto del mismo estudio, se realizaron encuestas a productores, las que fueron administradas telefónicamente.

La tendencia de los RBT en los tambos evidenció disminución gradual, mientras que los RCS no manifestaron mejoramientos relevantes, además no se observaron señales de estacionalidad en las series. Las frecuencias de aislamiento bacterianas señalaron a los RAM (100%) como los más usuales, seguidos por Psicrótrofos (86%), Termodúricos (84%), SCN (60%), Coliformes (50%), Citrobacter (36%), *S. aureus* (34%) y *E. coli* (2%), respectivamente. Solo en el 3,63% de las muestras se detectaron residuos de antibióticos, lo que reflejaría un buen manejo de la leche de vacas tratadas y la efectividad de los controles establecidos. Los tambos de la cooperativa expresaron cierta variabilidad respecto de distintas acciones de manejo de la salud mamaria entre distintos estratos de RCS en tanque para el año 2007, mostrando solo tendencias numéricas estadísticamente no significativas.

El presente estudio constituye una contribución para entender la problemática de la calidad de la leche, entre los pequeños y medianos productores de la cuenca de Villa María,

INTRODUCCIÓN



Situación de la actividad lechera en el mundo

La leche es un alimento básico en la dieta humana por lo que la producción de cada país se destina fundamentalmente a satisfacer los requerimientos de su mercado interno. Durante los años 2002-2003, el consumo total de leche y productos lácteos alcanzó, en el mundo, los 80 litros equivalentes leche / habitante / año. En los países desarrollados el consumo aparente promedió los 197,4 litros, mientras en las naciones en desarrollo alcanzó los 45,2 litros (Schaller et al., 2003).

Según las perspectivas planteadas por el USDA para el 2009, la producción mundial de leche crecería a un ritmo menor que lo hecho en los últimos años. Dicho pronóstico de crecimiento se ha visto afectado, entre otros factores, por la crisis financiera de las economías Estadounidense, Europea y Japonesa (Magfor, 2009).

En los últimos años, el mundo ha experimentado un proceso de disminución del número de establecimientos, con una tendencia al aumento de la escala productiva, resultando en un sector dominado por los establecimientos con un tamaño considerable de rodeo y con vacas alta productividad individual (Marca Líquida Agropecuaria, 2009). Es importante aclarar que nuestro país no está exento de este fenómeno; en el caso de la provincia de Córdoba, que representa 1/3 de la producción nacional, solo el 33% de los productores registrados en 1990 continuaban en el mercado lechero al cabo del año 2009. Cabe destacar que a pesar de esta disminución en el número de productores, el volumen de leche producida a partir del 2004 fue equivalente a la del año 1990. En el caso de particular de los EE.UU., más de 60.000 granjas lecheras han experimentado cambios importantes a los efectos de reducir sus costos para adecuarse al escenario de precios actual, los que experimentaron un 35% de reducción durante el año 2009 (Agromeat, 2009).

Situación en la Argentina

La actividad lechera es una de las principales producciones agropecuarias en la Argentina, industria en la que ocupa el segundo lugar en el concierto latinoamericano. (CIL, 2003).

Según datos de la FAO, en el año 2004 la Argentina poseía un 2,6 % del total de las exportaciones de leche fluida equivalente, indicador que resume la totalidad de los productos lácteos vendidos, expresándolos en litros totales. Al examinar las exportaciones de derivados lácteos, Argentina constituye el 2º exportador mundial de leche en polvo entera (8,4%) y esta ubicado en el puesto 17º, 19º y 27º, entre los exportadores de leche en

polvo descremada, quesos y manteca respectivamente. En los últimos años el Mercosur y Argelia han estado entre los principales compradores (Schaller, 2006).

La producción de leche en la Argentina ha manifestado un sostenido crecimiento desde comienzos de la década de los noventa y hasta fines del año 1998, con una crisis que tuvo su plena manifestación en el año 1999, y que se prolongó hasta fines del 2001.

Aunque resulta difícil pronosticar con exactitud el comportamiento futuro de la producción de leche, todos los factores de producción analizados estarían demostrando una continuación de la tendencia positiva desde el año 2006, con estimaciones que promediarían entre el 5% al 7% de incremento anual acumulado para la producción total nacional. Esta tendencia podría mantenerse para el mediano y largo plazo, a pesar de la sequía del año 2009, aunque seguramente a un ritmo menor al hasta ahora registrado.

Cuencas lecheras nacionales

Tanto la producción primaria, como el sector secundario, se encuentran concentrados en la región central de Santa Fé, el centro y sudeste de Córdoba y el oeste de Buenos Aires.

El sector lechero Cordobés esta representado por dos conglomerados que incluyen el Departamento de San Justo y San Martín, este último llamado genéricamente cuenca de Villa María (Ghida Daza y Sánchez, 2009).

La actividad agropecuaria es el principal motor económico del Departamento San Martín, en donde un alto porcentaje de su población recibe sus ingresos directa o indirectamente de ese sector, y dentro del mismo la lechería es la principal fuente de ingresos (Barrenechea y Bitar Tachi, 2006).

En la cuenca lechera de Villa María, co-existen más de un centenar de industrias lácteas dedicadas a la elaboración de quesos, leche en polvo, dulce de leche y manteca, predominando las pequeñas y medianas fábricas de carácter artesanal (Ghida Daza y Sánchez, 2009). En este conglomerado de pequeñas y medianas industria, los niveles de salud animal, condiciones de producción y estándares de calidad de leche son muy diversos. El mejoramiento de esta situación constituye un gran desafío si se desea producir alimentos de mejor calidad o adecuarse a las demandas de los mercados internacionales (Barrenechea y Bitar Tachi, 2006).

Marco regulatorio nacional

En el ámbito nacional, las industrias realizan sus propios controles de productos de acuerdo a los estándares de ISO/FIL, AOAC, entre otros. De esta manera cumplen con la normativa que establece el Código Alimentario Argentino (C.A.A.).

Por Resolución Conjunta de la Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias (SPRyRS) y de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (SAGPyA) se actualizó el régimen legal para los productos lácteos que contempla el capítulo VIII del C.A.A. Estas reglamentaciones intentaron adecuar las especificaciones nacionales a parámetros internacionales (Codex Alimentarius).

Concepto de calidad en la industria láctea

Establecer una definición de “calidad” en leche resulta muy complejo. Esto es debido a la diversidad de estándares requeridas por las industrias y la remitida por los productores (Taverna, 2007).

La calidad, considerada desde el punto de vista de los productores, es decir desde la producción primaria; depende de aspectos relacionados al sistema de producción, las prácticas y técnicas empleadas en el manejo del tambo, la capacidad de la mano de obra, etc. (Taverna, 2007).

La relación entre los productores y la industria, forma parte de una delicada trama de objetivos. Los sistemas de incentivo de pago por calidad de leche, son parte tangible de la reciprocidad necesaria entre los protagonistas de estos primeros eslabones de la cadena (Taverna, 2007). Además, refleja cuales son las preferencias de la industria, la que considera el producto a elaborar y las demandas específicas del mercado donde los productos son vendidos.

El aspecto físico de la leche puede ser modificado involuntaria o voluntariamente, alterando su color, olor o sabor (Hazard, 1997). La leche bovina, en promedio, presenta un 87,6% de agua, mientras que el resto de los componentes está representado por grasa (3,4%), proteína cruda (3,5%), lactosa (4,6%) y cenizas (0,8%). Los sólidos no grasos ascienden a un 8,9% y los sólidos totales llegan a un 12,3%.

Es importante señalar que el 60% de la variación de los componentes de la leche es hereditario y el resto está influenciado por el medio ambiente (Hazard, 1997). La variación de los componentes sólidos totales de la leche se ve afectado por factores no nutricionales, como la genética del animal, estado de lactancia, estación del año y mastitis, y los nutricionales, como el balance de nutrientes, composición y tipo de sustancias que predominan en la dieta de forrajes (Barbano, 1999; Kennelly et al., 1999).

La calidad composicional (organoléptica y físico-química) se ve también afectada directamente por la alimentación del animal (tipo, calidad, cantidad, equilibrio de la dieta). A su vez, la concentración y el equilibrio entre los componentes químicos de la leche definen dos aspectos substanciales de la aptitud tecnológica, el rendimiento industrial y la calidad organoléptica de los productos (Taverna, 2007).

Por ser la leche un producto biológico rico en hidratos de carbono, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y oligoelementos y por poseer un pH cercano a la neutralidad, se constituye en un medio adecuado para la multiplicación de la mayoría de las bacterias (Hazard, 1997). En este marco, la calidad microbiológica constituye el factor más limitante de la calidad de la leche, pero ésta también se ve afectada por sus constituyentes, su aspecto físico, el contenido de células somáticas y la presencia de inhibidores (Hazard, 1997).

La característica de algunas bacterias contaminantes de la leche es su alta capacidad de adaptación metabólica, muy necesaria para resistir medios y condiciones desfavorables. El proceso metabólico llevado adelante por las bacterias puede variar de acuerdo al grupo (Taverna y Calvino, 2007). Estas propiedades biológicas establecen la relevancia de un grupo bacteriano determinado, de acuerdo a la etapa del proceso productivo.

Los principales grupos bacterianos que pueden provocar alteraciones en la leche son, el de las lácticas, las psicrótrofas, las termófilas, las coliformes y las de carácter patógeno para la vaca lechera (Taverna y Calvino, 2007).

Una elevada carga de bacterias contaminantes en la leche disminuye la vida útil de los productos elaborados, altera la calidad organoléptica y nutricional, y contribuye al desarrollo de procesos de fermentación ácido láctica y a la coagulación enzimática, promoviendo la proteólisis de las proteínas como la caseína.

Conservar la leche recién ordeñada a temperaturas por debajo de 4°C permite mantener estable la carga bacteriana (Revelli et al., 2004). Sin embargo, el mantenimiento a bajas temperaturas por largo tiempo puede involucrar el desarrollo de la flora psicrótrofa (*Pseudomonas* spp. y *Bacillus* spp.), con la consecuente alteración en la composición denominada rancidez.

Estudios realizados en leche de tanque demostraron un incremento significativo en la lipólisis asociado al recuento de bacterias psicrótrofas y coliformes (Páez et al., 2001). En nuestro país, la lipólisis aparece como un problema reciente, pero de creciente preocupación en el sector. La intensificación del sistema de producción asociado al uso de equipamiento de ordeño cada vez más complejo, el enfriamiento y tiempo de almacenamiento, el transporte en cisternas y los numerosos bombeos a la que se somete la leche, son algunos de los factores que explican el incremento de esta problemática.

Según Revelli et al. (2004), para asegurar al consumidor productos inocuos, íntegros y legítimos es imprescindible partir de animales sanos, genéticamente aptos, condiciones apropiadas de alimentación y manejo, así como también adecuadas prácticas de higiene, control y tratamiento de la mastitis.

La mastitis bovina

Como se mencionó, la mastitis bovina es uno de los factores no nutricionales relacionados con la calidad de leche en el tambo y la enfermedad endémica de los bovinos de leche de mayor impacto económico en el mundo (Miller et al., 1993).

La mastitis se define como una inflamación de la glándula mamaria en respuesta a traumas o a una invasión de la ubre por microorganismos (Ma et al., 2000). Se caracteriza por hinchazón, fiebre, enrojecimiento, dolor e interrupción de las funciones normales de la ubre (Harmon, 1994; Kehrli y Shuster, 1994), en su forma clínica (Peters, 2002), y por cambio en la composición de la secreción láctea mediadas por el proceso inflamatorio y exudación, en su forma subclínica (Kehrli y Shuster, 1994).

Como parte del proceso inflamatorio, los neutrófilos se movilizan rápidamente desde el torrente sanguíneo hacia los cuartos afectados, en respuesta a la agresión, resultando de esta manera en un incremento de las células somáticas en la leche (Kehrli y Shuster, 1994). El recuento de células somáticas (RCS) que entran a la glándula depende del tipo y cantidad de patógenos que ganan acceso a la ubre (Peters, 2002).

La mastitis reconoce dos formas de presentación; la forma clínica es evidenciada mediante la detección de los signos cardinales de la inflamación en la ubre, por la detección de cambios en la secreción láctea, tales como la presencia de coágulos o sangre (NMC, 2009). Además, el animal afectado por mastitis clínica puede exhibir signos sistémicos como fiebre y decaimiento.

Por otro lado, la mastitis en su forma subclínica, debe ser detectada mediante técnicas diagnósticas (NMC, 2009). Esta forma es más trascendente, porque afecta a una mayor proporción de vacas y es responsable de las mayores pérdidas por la enfermedad (Philpot y Nickerson, 1991).

El diagnóstico de mastitis subclínica puede realizarse a través de métodos directos o indirectos. El primero implica el aislamiento del microorganismo causal y el segundo incluye técnicas de medición de variables que se ven modificadas por la infección. Tales efectos incluyen la evaluación del número de células somáticas, concentración de lactosa, albúmina sérica, N-acetil-D-glucosaminidasa (NAGasa), antitripsina, enzimas, conductividad eléctrica y métodos de detección inmunológicos (Sandholm, 1995).

Si bien se ha investigado mucho con el propósito de disponer de un método con alta fiabilidad y validez en el diagnóstico de la mastitis, aún hoy, esto recae mayormente en el asilamiento e identificación de los patógenos en la leche y su correspondencia con el recuento celular somático (Kehlri and Shuster, 1994; Jayarao et al., 2004; Vissio et al., 2009).

Los productores lecheros, veterinarios, especialistas en calidad de leche y empresas procesadoras disponen de dos herramientas para realizar el monitoreo de salud mamaria y calidad de leche en los rodeos, el recuento de células somáticas (RCS) y el recuento bacteriano total (RBT) de leche de tanque (Godden et al., 2002). Ambos indicadores, uno específico de la mastitis y el otro relacionado a todo tipo de microorganismos, son sujetos a monitoreo dada su relación con la calidad de la leche y sus derivados.

La mastitis es considerada un factor condicionante de la calidad integral de la leche. Si bien su etiología es de carácter infeccioso, es entendida como una enfermedad de naturaleza multifactorial, donde factores tales como el inapropiado funcionamiento de los equipos de ordeño, higiene inadecuada de equipos, dormideros de vacas sucios, malas rutinas de ordeño, factores genéticos, intervienen moderando su magnitud y severidad en la población (Hazard, 1997, Fourichon y col., 2001).

El uso de los RCS para evaluar la salud de la ubre ha mostrado ser una herramienta útil para la detección y control de la mastitis y para la identificación de los principales patógenos causantes de ésta (Kehlri y Shuster, 1994; Jayarao et al., 2004).

La mastitis puede ser producida por diversos agentes microbianos con capacidad de multiplicación en la leche. Se han aislado más de 135 especies de microorganismos de infecciones intramamarias en el ganado lechero (Smith y Hogan, 1998). Aunque los microorganismos más frecuentemente asociados continúan siendo *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium pyogenes* y *Pseudomonas aeruginosa* (Magariños, 2000; Dieser et al., 2008).

Los organismos causantes de la mastitis se clasifican como “contagiosos” o “ambientales”, según el lugar más frecuente de exposición (Ruegg, 2004). Los patógenos contagiosos más comunes son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Mycoplasma bovis*, aunque cepas de *Streptococcus uberis* también pueden ser transmitidas por la leche (Zadoks, 2003). La fuente principal de infecciones causada por patógenos contagiosos son los cuartos infectados de otras vacas y la transmisión ocurre generalmente en el ordeño (Peeler et al., 2000).

Entre los patógenos ambientales causantes de la mastitis están las bacterias coliformes como *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., los Streptococos ambientales (Peeler et al., 2000) y la *Pseudomonas aeruginosa* (Corbellini, 2002). Los patógenos ambientales se

adquieren principalmente mediante el contacto con el estiércol, agua, suelo y camas contaminadas (Smith y Hogan, 1993; Zadoks, 2003). Este tipo de mastitis es normalmente de corta duración, además de que menos del 15 % de los animales afectados desarrollan infecciones crónicas o subclínicas (Ruegg, 2004). La incidencia de mastitis ambiental tiende a aumentar cuando la frecuencia de mastitis contagiosa disminuye, debido a las prácticas realizadas para el control (Guterbock et al., 1993).

En Argentina, la prevalencia de infecciones mastitogénicas en los rodeos es elevada, con un predominio de patógenos contagiosos. Estudios realizados en distintas cuencas lecheras de nuestro país muestran que los organismos aislados con mas frecuencia son los *S. aureus* y distintas especies del género *Streptococcus* (Calvinho y Tirante, 2005; Calvinho y Tarabla, 2007; Dieser et al., 2008).

Residuos de antibióticos (ATB) en la leche

El uso de antibióticos constituye uno de los pilares del control de la mastitis en el rodeo, el que es parte del plan de los cinco puntos del control de la misma (NMC, 2009). El principal objetivo de la terapia antibiótica es eliminar el microorganismo causante de la infección y mantener la droga activa por el tiempo adecuado para inhibir al agente infeccioso (Calvinho, 2007).

La terapia antibiótica en vacas en lactancia es fundamentalmente la más usada para el tratamiento de la mastitis y otras enfermedades (Oliver et al 1990, Calvinho, 2007). Las mastitis clínicas se tratan usualmente con antibióticos intramamarios, aunque también puede usarse la vía parenteral (Calvinho, 2007).

Las drogas antimicrobianas más comúnmente utilizadas para los tratamientos clínicos de la mastitis son β -lactámicos y aminoglucósidos, y menos frecuentemente, macrólidos y lincosamidas (Owens et al., 1996). La cantidad de antibióticos en la leche del animal tratado depende de diversos factores tales como el componente activo y el vehículo, la dosis y forma de aplicación, la producción del animal, el tipo y grado de afección mamaria y el tiempo que transcurre entre el tratamiento y el ordeño (Calvinho, 2007).

Entre las causas asociadas a la presencia de antimicrobianos en leche se mencionan el incorrecto registro del tratamiento, mezcla fortuita con leches contaminadas, no respetar el tiempo de retiro del ordeño luego del tratamiento, contaminación con residuos presentes en los envases de medición, descarte de leche solo del cuarto mamario tratado con antibiótico, adelanto de la fecha de parto en caso de vacas tratadas con antibióticos por vaca seca (Calvinho, 2007).

Para asegurar la calidad higiénica de la leche, el C.A.A. establece el decomiso de aquellas leches que presenten valores de β -lactámicos, tetraciclinas ó sulfonamidas que

superen los umbrales establecidos. De acuerdo con esto, las plantas lecheras utilizan métodos muy sensibles de detección de estos metabolitos para prevenir alteraciones de la calidad de los productos (Hazard, 1997).

La necesidad de reducir el nivel de antibióticos en la leche, tiene estrecha relación con los problemas que estos ocasionan a la salud pública y a los procesos tecnológicos.

Los seres humanos expuestos a antibióticos en leche están expuestos a sufrir problemas alérgicos (Calvinho, 2007; Magariños, 2000). Esta intolerancia de residuos de antibióticos se deriva del hecho de que algunos adultos tienen hipersensibilidad a las penicilinas, las que podrían incluso llevar a la muerte (Seymour et al., 1988).

Otro riesgo potencial para la salud es a través de la aparición de resistencia a los antibióticos, donde estos residuos pueden colaborar con la selección de bacterias resistentes y eliminar a las sensibles. La exposición de la microflora intestinal de los seres humanos a los antibióticos, puede inducir al surgimiento de especies patógenas resistentes (McGrane et al., 1996). Adicionalmente, los residuos de antibióticos en el tracto gastrointestinal podrían reducir la síntesis de vitaminas (Magariños, 2000).

Desde el punto de vista de los procesos tecnológicos, los daños causados por los residuos de antibióticos en leche son notorios; por lo que la calidad de la producción de fermentados se ve seriamente afectada (Magariños, 2000).

Los inóculos utilizados en la producción de queso y yogurt son muy sensibles a los niveles de antibióticos presentes en la leche, pudiendo provocar la pérdida total de una producción (Calvinho, 2007). En el caso del yogurt, el más sensible de los productos, concentraciones mínimas de penicilina en leche, permite el desarrollo de microorganismos resistentes, haciendo que el aroma y aspecto del producto sean inaceptables (Cravzov et al., 2002).

Por todo lo dicho hasta el momento, el monitoreo de la calidad de leche en el tambo, desde la óptica de una integración vertical como lo es una cooperativa u otra organización con similares objetivos, es la de disponer de controles rutinarios de recuentos bacterianos y celulares en tanque. A su vez, estas organizaciones requieren de un sistema de auditorías de las prácticas de manejo, que permitan determinar los estándares del control de mastitis, manejo adecuado de los antibióticos y la vigilancia de todos aquellos aspectos críticos relacionados a las rutinas de ordeño y el nivel de higiene de los establecimientos.

Los antecedentes antes descritos muestra la situación de la lechería en el mundo, en nuestro país y las particularidades de la cuenca de Villa María, así como también, la importancia e implicancias de una buena calidad de la leche y sus relación con la producción y salud de las vacas lecheras.

En este contexto, la presente tesis está dirigida a caracterizar la calidad de leche y el estándar de manejo en los tambos, de una cooperativa de pequeños y medianos productores tamberos de la cuenca de Villa María.

OBJETIVOS



1. Analizar retrospectivamente la variación de los valores de Recuento de Células Somáticas (RCS) y de Recuento Bacteriano Total (RBT) en los tambos de la Cooperativa Arroyo Cabral, durante los años 2005, 2006 y 2007.
2. Determinar la presencia de los microorganismos asociados a la mastitis, indicadores de contaminación bacteriana o con capacidad de alterar la calidad de la leche, mediante recuentos de bacterias aerobias mesófilas totales (RAM), Psicrótrofas (RP), Termodúricas (RT), Coliformes (RC) y *Staphylococcus aureus* (RS), en muestras de leche de los tambos de la Cooperativa Arroyo Cabral mediante un muestreo transversal, a nivel de tanque concentrador.
3. Determinar la presencia de inhibidores en leche de los tambos de la Cooperativa Arroyo Cabral mediante un muestreo transversal, a nivel de tanque concentrador.
4. Realizar una descripción de las prácticas de manejo relacionadas con el diagnóstico y control de la mastitis bovina, mediante una encuesta a los productores tamberos.

MATERIALES Y MÉTODOS



Selección de los tambos en estudio

La población de tambos en estudio se basa en 60 establecimientos lecheros pertenecientes a la Cuenca Lechera de Villa María, agrupados en la Cooperativa Arroyo Cabral Ltda., con sede en Arroyo Cabral, provincia de Córdoba (República Argentina).

Descripción de la población

El número de tambos pertenecientes a esta Cooperativa se modifica cada año, manteniéndose en alrededor de 50 a 60 establecimientos por año. El promedio de litros diarios producido por todos los tambos que integran la cooperativa se mantiene en aproximadamente 128.200 litros., con un total de 7.077 vacas y un promedio de 18,1 litros de leche por cada vaca ordeñada. El 17% de los establecimientos opera con tamberos medieros, a cargo de las tareas de ordeño y participación en las ganancias, y cuenta con 100 o mas hectáreas dedicadas a la explotación lechera.

Durante un relevamiento realizado por la cooperativa durante el mes de enero de 2009 se concluyó que el 98% de la producción está destinado a la fabricación de quesos de pasta dura, semidura y blanda; variando este porcentaje de acuerdo a la época del año y la demanda del mercado. Con el 2% restante se elabora dulce de leche y subproductos como crema, manteca y ricota.

Hasta el mes de diciembre de 2008, se enviaron al mercado internacional 25 toneladas de queso duro cada 45 días aproximadamente. El resto de la producción se comercializó en el mercado interno, con destino final a las provincias de Mendoza, San Juan, Buenos Aires, Rosario, Córdoba, La Rioja y Salta; estas dos últimas son alternativas que se manejan de acuerdo a la estación.

1. Análisis retrospectivo de los valores de Recuento Celular Somático y de Recuento Bacteriano Total, período 2005-2007

Los datos utilizados para realizar el análisis retrospectivo fueron recopilados a partir de registros individuales de tambos pertenecientes a la Cooperativa Arroyo Cabral y puestos a disposición del equipo de investigación. La información obtenida consistió en los valores de RCS y RBT a nivel de tanque concentrador, determinados una vez por mes entre los años 2005 a 2007. Cada análisis fue realizado por el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario Villa María (LABVIMA S.H.), como así también la determinación de la calidad bacteriológica de la leche y sanidad de las ubres de las vacas pertenecientes a los tambos de la Cooperativa.

1.1. Obtención de las muestras

Las muestras de leche fueron recogidas en frascos plásticos estériles de los tanques concentradores de establecimientos lecheros, tarea a cargo de personal del Laboratorio de Diagnóstico Veterinario Villa María (LABVIMA S.H.). Cada recipiente con leche fue adicionado con azidiol, un potente bacteriostático, para evitar la multiplicación bacteriana (Real Decreto, BOE N°. 15, 2008).

1.2. Recuento de Células Somáticas

Para realizar el RCS se empleó el método de Fluorocitometría Laser recomendado por la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF 148A:1995). Las muestras conservadas con azidiol fueron procesadas en un lapso no mayor a 24 horas en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de Villa María con un equipo Somacount 300 (Bentley). Inicialmente la muestra de leche fue colocada en un baño María a 40°C, luego homogeneizada con un agitador incorporado al equipo para la posterior determinación de RCS. Este equipo detecta mediante un sistema óptico automático la fluorescencia emitida por cada célula como consecuencia de la unión de un fluorocromo (bromuro de etidio) al ADN. Los resultados fueron expresados como células por mililitro (cél/ml) x 1000.

1.3. Recuento Bacteriano Total

El recuento bacteriano total se llevó a cabo por el método de Citometría Laser, con un equipo Bactocount IBC (Bentley) dentro de las 24 horas post-colección de la muestra en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de Villa María. Las muestras de leche para su procesamiento fueron incubadas a 50° C y adicionadas con un buffer de clarificación para lisar las células somáticas, una enzima proteolítica para solubilizar los glóbulos de grasa y las proteínas y un marcador fluorescente para permeabilizar las bacterias y teñir el ADN bacteriano. Luego de un período de incubación, las muestras fueron transferidas automáticamente a la celda de lectura y expuestas a un rayo láser. La señal fluorescente se transforma a conteo de bacterias individuales mediante la calibración del instrumento.

1.4. Análisis de los datos

Se realizó el análisis de la totalidad de los tambos a partir de la descripción de los valores de las medias de los RBT tanto en función del período 2005-2007, como en relación a los meses del año para el mismo período y a cada año por separado. Se realizó el mismo análisis para el RCS.

Además se realizaron estudios para cada tambo por separado, describiendo los valores correspondientes a los percentiles 75 y 90 de RBT y RCS, para el período 2005-2007 como así también para cada año por separado.

La interpretación de los resultados obtenidos para cada tambo se realizó de acuerdo a la legislación vigente en la República Argentina, según el Código Alimentario Argentino (C.A.A.) (Tablas 1 y 2).

Tabla 1. Valores máximos establecidos para Recuento Bacteriano Total		
Parámetro	Límite máximo*	Vigencia**
Recuento Bacteriano Total (ufc/cm ³)	500.000	2007
	350.000	2008
	200.000	2011

* Valores establecidos según el artículo 556 tris del C.A.A.

** Vigencia de los valores de límite máximo

Tabla 2. Valores máximos establecidos para Recuento de Células Somáticas		
Parámetro	Límite máximo*	Vigencia**
Recuento de Células Somáticas/cm ³	750.000	2007
	550.000	2008
	400.000	2011

* Valores establecidos según el artículo 556 tris del C.A.A.

** Vigencia de los valores de límite máximo

2. Determinación de la presencia de microorganismos y de Recuento Celular Somático a nivel de tanque concentrador

La toma de muestra estuvo a cargo de personal del Laboratorio de Diagnóstico Veterinario Villa María (LABVIMA S.H.). Se realizaron muestreos mensuales de leche de tanque concentrador de 50 tambos que integraban la Cooperativa Arroyo Cabral. Un

volumen de 50 ml de cada muestra fue recolectado asépticamente en recipiente estéril directamente de los tanques de acopio que recibe la Cooperativa. Las muestras utilizadas para las determinaciones de RCS fueron adicionadas con azidiol para su conservación (Real Decreto, BOE N. 15, 2008). Las muestras fueron refrigeradas inmediatamente después de su toma y derivadas al laboratorio para su análisis.

2.1. Recuento de Células Somáticas

La determinación del recuento de células somáticas se realizó según el punto 1.2

2.2. Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas

La determinación del RAM se realizó por distribución de 1 ml de cada muestra de leche sin diluir y sus diluciones en agua peptonada, en el centro de placas de Petri estériles. Luego se agregó a cada placa aproximadamente 15 ml de Agar para Recuento (PCA) a 45°C. Se homogenizó la muestra con el medio realizando movimientos de rotación suave con la placa. Una vez solidificado el agar, se incubaron las placas en forma invertida a una temperatura de 30°C durante 48 horas (Federación Internacional de lechería (FIL) 100 B; 1991 e I.S.O 4833; 2003).

Se realizó el recuento de RAM en aquellas placas que presentaron entre 30 y 300 colonias. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml) (Martin et al., 1983).

2.3. Recuento de Bacterias Termodúricas

La determinación del RT se realizó por calentamiento de la muestra por 30 minutos a 63° C en baño de agua. Posteriormente, un volumen de 1 ml de cada muestra de leche sin diluir y sus diluciones en agua peptonada, fue distribuido en el centro de placas de Petri estériles. Luego se agregó a cada placa aproximadamente 15 ml de Agar para Recuento (PCA) a 45° C. Se homogenizó la muestra con el medio realizando movimientos de rotación suave con la placa. Una vez solidificado el agar, se incubaron las placas en forma invertida a una temperatura de 63° C durante 48 horas (Federación Internacional de lechería (FIL) 100 B; 1991 e I.S.O 4833; 2003).

Se realizó el RT en aquellas placas que presentaron entre 30 y 300 colonias. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml) (Martín et al., 1983).

2.4. Recuento de Bacterias Psicrótrofas

La determinación del RP se realizó por distribución de 1 ml de cada muestra de leche sin diluir y sus diluciones en agua peptonada, en el centro de placas de Petri estériles. Luego se agregó a cada placa aproximadamente 15 ml de Agar para Recuento (PCA) a 45° C. Se homogenizó la muestra con el medio realizando movimientos de rotación suave con la placa. Una vez solidificado el agar, se incubaron las placas en forma invertida a una temperatura de 7°C durante 96 horas (Federación Internacional de lechería (FIL) 100 B; 1991 e I.S.O 4833; 2003).

Se realizó el RP en aquellas placas que presentaron entre 30 y 300 colonias. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml) (Martín et al., 1983).

2.5. Recuento de Bacterias Coliformes Totales

La determinación del RC se realizó por distribución de 1 ml de cada muestra de leche sin diluir y sus diluciones en agua peptonada, en el centro de placas de Petri estériles. Luego se agregó a cada placa aproximadamente 15 ml de Agar Violeta Rojo y Bilis Lactosa (VRBL). Se homogenizó la muestra con el medio realizando movimientos de rotación suave con la placa. Una vez solidificado el agar, se agregó una fina capa de agar virgen y se incubaron las placas en forma invertida en a una temperatura de 35° C 24-48 horas (International Standard FIL 100 B; 1991, FIL 73 A; 1985 e I.S.O 7932; 1993).

Se realizó el recuento de colonias de bacterias coliformes obtenidas en aquellas placas que presentaron entre 30 y 300 colonias rodeadas de un halo de precipitado rojo-violeta. Se expresó el resultado como unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml).

2.6. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*

El aislamiento de *Escherichia coli* se realizó por siembra de 1 ml de la leche sin diluir en un tubo con 10 ml de Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (BRILLA - Britania) con campanita Durham y se incubó durante 24-48 h en estufa a 35-37° C. Luego se sembró una ansada a partir de los tubos positivos (con crecimiento y producción de gas) en estrías por agotamiento en Agar Eosina Azul de Metileno. Las placas se incubaron invertidas durante 24 horas a 35° C.

Las colonias identificadas presuntivamente como *E.coli* por ser rojas, nucleadas, con o sin brillo metálico característico en Agar Eosina Azul de Metileno, fueron confirmadas mediante las pruebas del IMViC (Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer, Citrato) luego de

incubación durante 24 horas a 35-37° C (Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF 1983).

2.7. Pruebas metabólicas

Prueba del Indol: la prueba detecta por adición del reactivo de Kovacs (dimetilaminobenzaldehído) la producción de indol a partir del triptófano mediante la actividad de la enzima triptofanasa.

Reacción positiva: producción de indol; anillo rojo en la superficie; presencia de triptofanasa.

Reacción negativa: ausencia de producción de indol; anillo amarillo en la superficie; ausencia de triptofanasa.

Prueba de Rojo de Metilo: este medio contiene glucosa como hidrato de carbono fermentable. La glucosa puede ser metabolizada por los microorganismos a través de distintas vías metabólicas. Según la vía utilizada, se originarán productos finales ácidos o neutros. Estos productos podrán ser diferenciados por la adición de un indicador como rojo de metilo, para revelar la presencia de productos ácidos.

Reacción positiva: color rojo del medio por descenso del pH a valores inferiores a 4,3.

Reacción negativa: sin cambio de color del medio por poseer valores de pH superior a 4,3.

Prueba de Voges-Proskauer (V-P): se realiza al mismo tiempo que la prueba del Rojo de Metilo. Según la vía utilizada por los microorganismos para la metabolización de la glucosa, se originarán productos finales ácidos o neutros. Esta prueba identifica la fermentación butanodiólica de la glucosa. Las bacterias que llevan a cabo esta fermentación aumentan la acetoina en el medio, la que reacciona con el α -naftol en medio alcalino (KOH).

Reacción positiva: color rojo - rosado en el medio de cultivo.

Reacción negativa: sin cambio de color.

Prueba de Citrato de Simmons: en el medio de cultivo, el fosfato monoamónico y el citrato de sodio constituyen la única fuente de nitrógeno y carbono, respectivamente. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. El azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino. Los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad y viraje al azul.

Reacción positiva: desarrollo microbiano con utilización de citrato; el medio vira al color azul.

Reacción negativa: ausencia de desarrollo microbiano con incapacidad de utilización de citrato; el medio continúa verde.

Tabla 3. Identificación del género de las bacterias coliformes				
Género bacteriano	Pruebas bioquímicas			
	Indol	Rojo de metilo	Voges-Proskauer	Citrato
<i>Escherichia</i>	+	+	-	-
<i>Citrobacter</i>	+/-	+	-	+
<i>Klebsiella</i>	-	-	+	+
<i>Enterobacter</i>	-	-	+	+

2.8. Recuento de *Staphylococcus aureus*

La determinación del Recuento de presuntos *Staphylococcus aureus* (RS) se realizó por siembra con espátula de Drigalsky de 1 ml de cada muestra de leche sin diluir y sus diluciones en agua peptonada en la superficie de Agar Baird-Parker en placa. Este medio selectivo contiene piruvato de sodio, que ayuda a la protección y recuperación de células dañadas, y yema de huevo, que colabora en la diferenciación de los microorganismos. La glicina, el telurito y el litio inhiben a las demás bacterias, sin afectar el desarrollo de *S. aureus*. Esta especie bacteriana reduce el telurito, formando colonias negruzcas brillantes con zonas claras alrededor, producto de la actividad proteolítica sobre la yema de huevo. En algunas ocasiones, la incubación de cepas de *S. aureus* genera zonas opacas alrededor de las colonias por la actividad de las lecitinasas. Las placas se incubaron invertidas a 35° C durante 72 h. Luego se realizó el recuento de aquellas placas que presentaron desarrollo de 30 a 300 colonias de color negro, brillantes y rodeadas por un halo transparente y un halo opaco, las cuales fueron identificadas presuntivamente como *Staphylococcus aureus*. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml) (Federación Internacional de lechería (FIL) 145; 1990 e I.S.O 6888-1:1999).

2.8.1. Confirmación de *Staphylococcus aureus*

Las colonias identificadas presuntivamente como *S. aureus* fueron ensayadas para la prueba de la coagulasa. A un volumen de 1 ml de cultivo de cada colonia en Caldo Cerebro-Corazón (Britania) incubado por 24 horas a 35-37° C, se le adicionó 0,3 ml de plasma de

conejo. La lectura se realizó luego de incubar 4 horas a 35° C. La lectura se repitió a las 24 horas cuando resultó negativo a las 4 horas. La formación de un coágulo de fibrina debido a la reacción de la enzima extracelular coagulasa con el fibrinógeno del plasma permitió identificar a *S. aureus*, mientras que la ausencia de coágulo fue registrado como una cepa de *Staphylococcus coagulasa* negativa (International IDF Standard (Provisional) 145; 1990; Federación Internacional de Lechería (FIL) 145; 1990 e ISO 6888-1; 1999).

2.8.2. Criterios establecidos en base a los valores de Recuento Celular Somático y Recuento Bacteriano Total

Las Tablas 4 y 5 muestran los criterios establecidos según los valores de RCS y RBT dirigidos a categorizar las muestras de leche de cada tambo en base a los Recuentos de *S. aureus* obtenidos.

Tabla 4. Categorización según el RBT	
< 50.000 bacterias/ml	Categoría 1
≥ 50.000 a 100.000 bacterias/ml	Categoría 2
≥ 100.000 bacterias/ml	Categoría 3

Tabla 5. Categorización según el RCS	
< 250.000 células/ml	Categoría 1
≥ 250.000 a 500.000 células/ml	Categoría 2
≥ 500.000 a 750.000 células/ml	Categoría 3
≥ 750.000 células/ml	Categoría 4

3. Detección de inhibidores en la leche

Se realizó la detección de sustancias inhibidoras del desarrollo bacteriano en las muestras de leche de tanque concentrador mediante la prueba biológica del Delvotest® SP – NT. El sistema incluye ampollas con un número estandarizado de esporas de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* en un medio agarizado conteniendo nutrientes específicos para este microorganismo y el indicador púrpura de bromocresol. Para evitar

contaminación cruzada con sustancias antibacterianas como sulfamidas, desinfectantes, detergentes, entre otros, se realizó la manipulación de los materiales y de las muestras con manos limpias y secas, y bajo estrictas normas de higiene.

Se cortó un número indicado de ampollas, cuidando de no dañar el papel aluminio que las recubría, según la cantidad de muestras a analizar. Se abrieron las ampollas realizando un pequeño hoyo atravesando el papel con la punta de una jeringa. Hasta ese momento las muestras se deben mantener en el freezer a una temperatura aproximada de -18°C . Previo a la siembra, las ampollas se descongelaron y se agitaron vigorosamente para evitar que se depositaran sustancias en el fondo. Posteriormente, un volumen de 0,1 ml de cada muestra se sembró en cada ampolla y se incubó a 64°C durante 2 a 3 horas.

Los resultados se interpretaron en base al cambio de color resultante de la acidez provocada por el metabolismo bacteriano y detectada por el indicador de pH, púrpura de bromocresol (Berruga et al., 2005).

Color amarillo: indica ausencia de sustancias inhibidoras, según el límite de detección del sistema.

Color amarillo/púrpura: indica la presencia de sustancias inhibidoras cercana al límite de detección del sistema.

Color púrpura: indica la presencia de sustancias inhibidoras.

4. Encuesta de manejo

Se realizó una encuesta entre los meses de abril y mayo del año 2007, destinada a productores tamberos de la Cooperativa Arroyo Cabral. La encuesta se redactó en forma sencilla y directa para que fuera de fácil entendimiento para los productores, y se basó en una encuesta elaborada y administrada previamente dentro del marco del proyecto PICTO 30368 (Vissio et al., 2008A). Los ítems considerados en la encuesta fueron status de mastitis en el tambo, mastitis clínicas, mastitis subclínicas, máquinas de ordeño e instalaciones, rutinas y personal de ordeño (Anexo 1).

La encuesta fue validada temáticamente mediante la consulta con expertos de la Cooperativa en contacto constante con los productores y profesionales relacionados con el medio. La misma se administró telefónicamente, estableciendo previamente un contacto con la Cooperativa, quien informó sobre nuestro trabajo a cada uno de los productores a través de cartas. La confección, validación y administración de la encuesta fue llevada a cabo siguiendo las sugerencias de Hennekens y Buring (1987).

4.1. Análisis de datos

Los ítems de la encuesta se analizaron para el conjunto de los productores mediante el uso de frecuencias relativas. Posteriormente, los tambos fueron clasificados de acuerdo a su historia, desde el punto de vista de la calidad. Con ese propósito los tambos fueron asignados a distintos grupos de acuerdo a los resultados de 9 de las 12 mediciones (75%) realizadas a nivel de tanque, durante el año 2007. Para esto, se utilizaron criterios de categorización independientes, cambiando los límites de corte a fin de observar las modificaciones en los porcentajes de cada ítem, de acuerdo a su impacto en la calidad (Tablas 6 y 7).

Para el análisis realizado en base a las categorías, solo se tomaron 7 ítems de la encuesta, de acuerdo a los límites de calidad planteados por la Cooperativa Arroyo Cabral durante los años 2007/2008.

Tabla 6. Categorización según el RBT

≥ 50.000 bacterias/ml	Categoría 1
≥ 100.000 bacterias/ml	Categoría 2

Tabla 7. Categorización según el RCS

≥ 300.000 células/ml	Categoría A
≥ 400.000 células/ml *	Categoría B
≥ 500.000 células/ml	Categoría C

* Según Reglamento 853/2004 (UE) y (DHIA) de EE.UU.
Las categorías A y C son puntos de contraste.

RESULTADOS



ESTUDIO RETROSPECTIVO

Evolución del Recuento Bacteriano Total para el conjunto de los tambos de la Cooperativa, durante el período 2005 – 2007

La figura 1 representa las medianas del RBT para los tambos en estudio de la Cooperativa durante los años 2005, 2006 y 2007. La tendencia de los datos no responde a una matriz de estacionalidad, pero si evidencia una disminución gradual y sostenida de los valores en el período estudiado. Se observa que los RBT durante los primeros doce meses presentaron una marcada variabilidad, pero si se avanza en el tiempo los valores comienzan no solo a disminuir sino también muestran una tendencia a nivelarse entre los tambos.

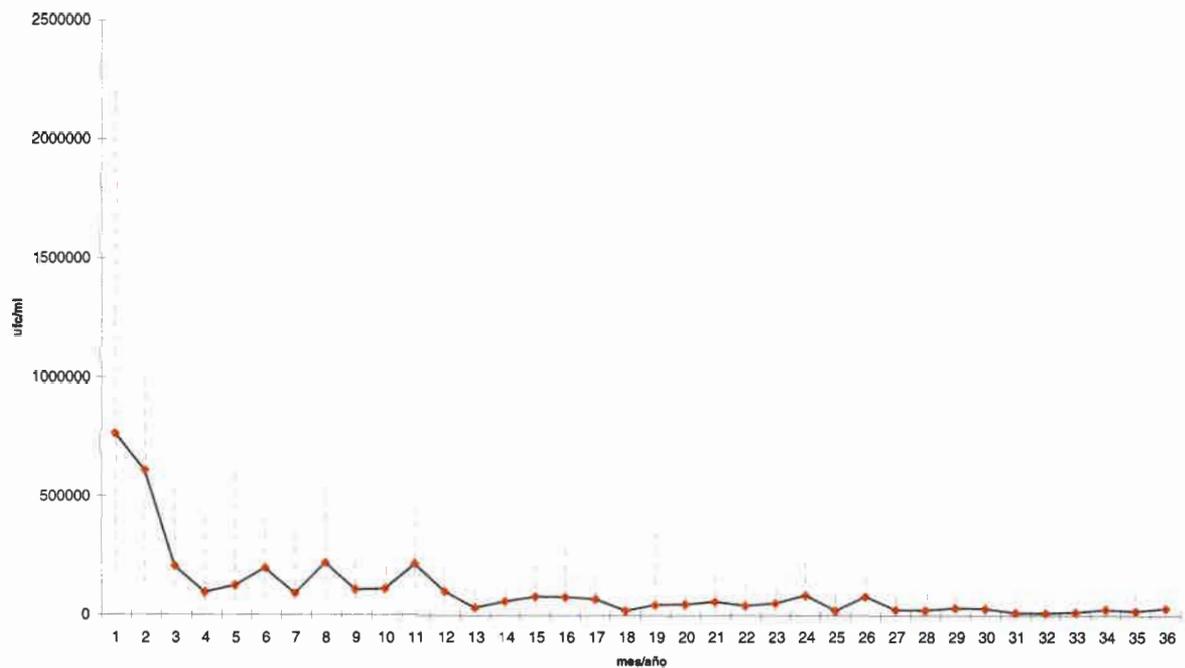


Figura 1. Mediana del Recuento Bacteriano Total en la Cooperativa durante los 36 meses del estudio (Arroyo Cabral, 2005-2007)

Evolución del Recuento Celular Somático para el conjunto de los tambos de la Cooperativa, durante el período 2005 – 2007

La figura 2 representa las medianas del RCS para los tambos en estudio de la Cooperativa durante los años 2005, 2006 y 2007. En este caso, la tendencia de los datos tampoco responde a una matriz de estacionalidad, además de no manifestarse mejoramiento alguno en los valores obtenidos durante los años analizados. Además, se observa que los valores de RCS de los tambos mostraron marcada variabilidad a lo largo del período estudiado.

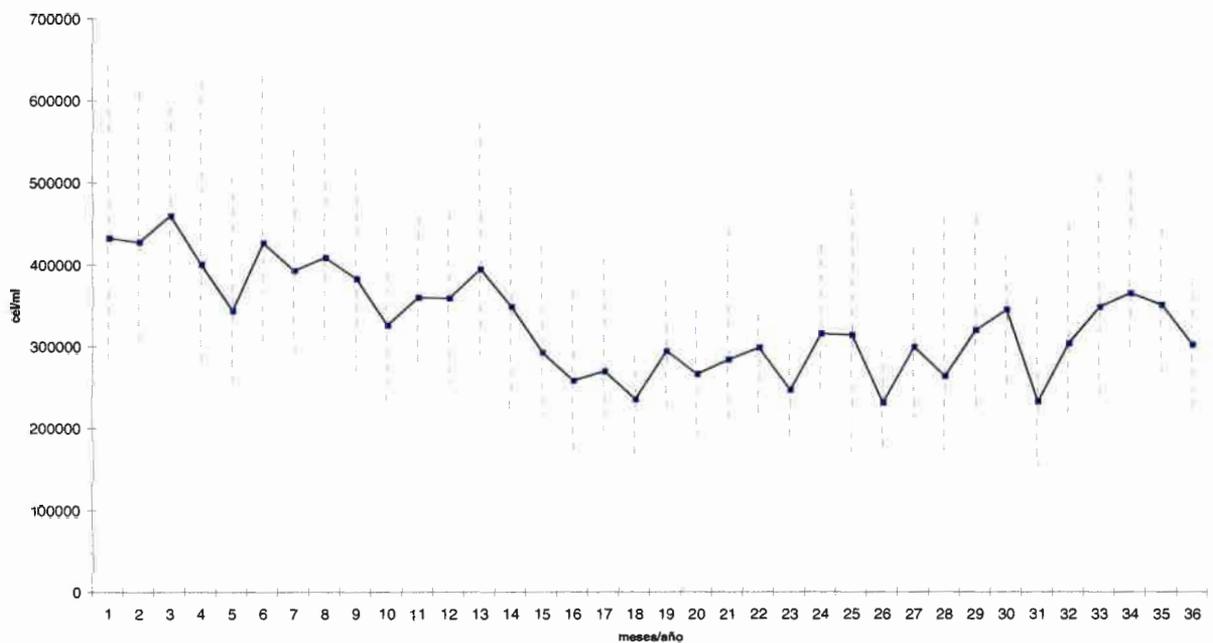


Figura 2. Mediana del Recuento de Células Somáticas en la Cooperativa durante los 36 meses del estudio (Arroyo Cabral, 2005-2007)

Distribución del Recuento Bacteriano Total por tambo durante el período 2005 – 2007

La figura 3 representa la distribución de los valores de RBT para cada uno de los tambos, a través del percentil 90 y 75, durante el período 2005 – 2007. Para el caso del tambo 38, el percentil 90 indica que el 90% de los resultados está por debajo de $1,05 \times 10^6$ ufc/ml y el percentil 75 indica que el 75% de los valores está por debajo de 1×10^6 ufc/ml.

Se observa que solo el 30% de los tambos mantiene el 90% de sus recuentos por debajo del valor (5×10^5 ufc/ml) exigido por el C.A.A.; mientras que el porcentaje disminuiría a un 28% si se ajustan al valor ($3,5 \times 10^5$ ufc/ml) que fue exigido a fines de 2008.

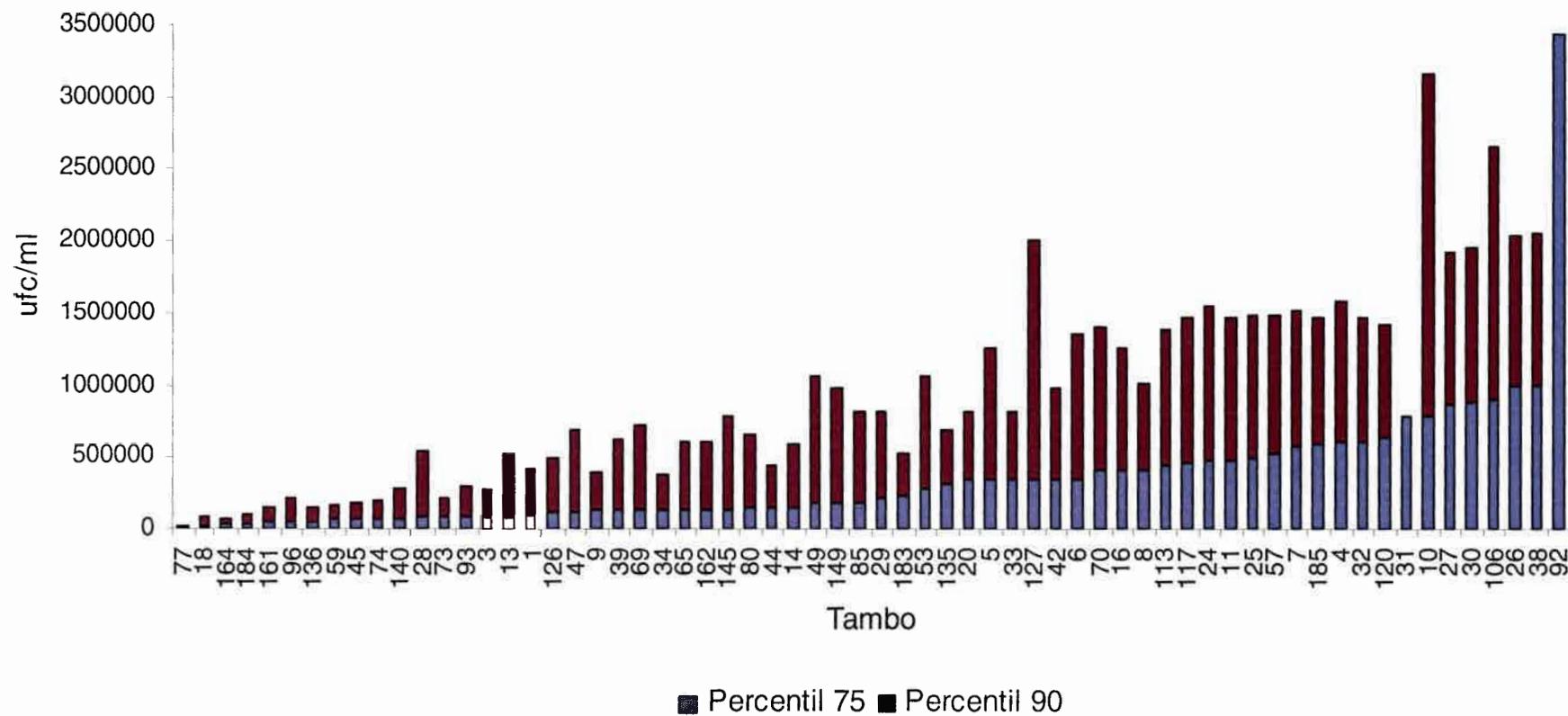


Figura 3. Percentiles 75 y 90 para Recuento Bacteriano Total de los tambos de la Cooperativa Arroyo Cabral en el período 2005-2007

Distribución anual del Recuento Bacteriano Total por tambo durante el período 2005 – 2007

Las figuras 4A, 4B y 4C presentan la distribución anual de los datos de RBT para cada uno de los tambos, a través del percentil 90 y 75, durante el período 2005 - 2007. Se puede observar que los valores de RBT para cada tambo van disminuyendo notoriamente año a año. Sin embargo, durante el año 2007, el 13% de los tambos no cumplía con lo exigido en el C.A.A. dado que no logró mantener al menos el 90% de sus recuentos por debajo de 5×10^5 ufc/ml. El porcentaje de tambos que sobrepasan los límites permitidos sería del 32% si se extrapolara al valor ($3,5 \times 10^5$ ufc/ml) que fue exigido en el 2008. Al observar el caso del tambo 38 se evidencia que durante el año 2005, su percentil 90 fue el más elevado; sin embargo en el 2006, el percentil 90 disminuyó más de un 20%, manteniendo la tendencia en el 2007.

Por otro lado, el tambo 164 se mantuvo en los primeros lugares de calidad durante el período 2005-2007.

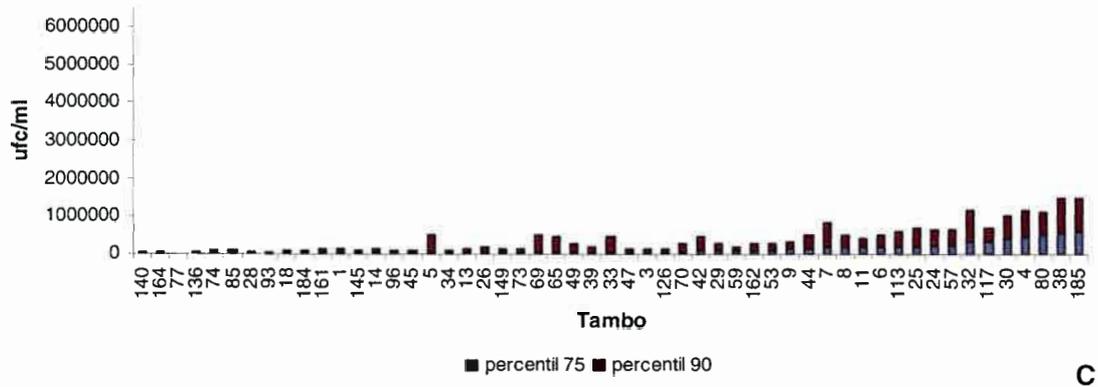
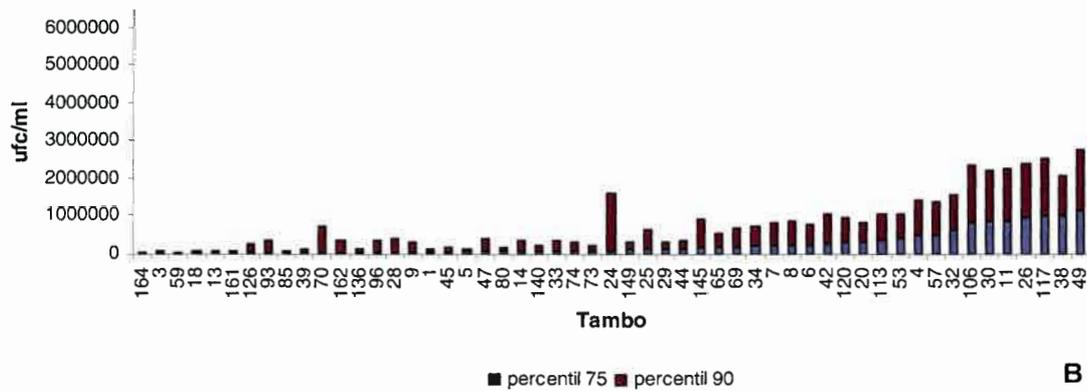
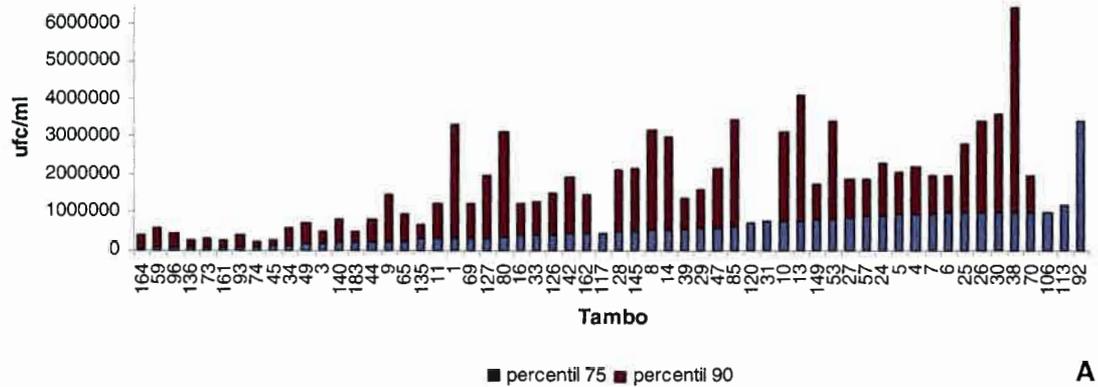


Figura 4. Percentiles 75 y 90 para Recuento Bacteriano Total de cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante los años 2005 (A), 2006 (B) y 2007 (C)

Distribución del Recuento Celular Somático por tambo durante el período 2005 – 2007

La figura 5 representa la distribución de los valores de RCS para cada tambo, a partir de los percentilos 90 y 75, durante el período 2005 – 2007. Se observa que solo el 25% de los tambos se mantuvieron en niveles de calidad aceptables según el C.A.A. durante todo el período 2005-2007. El 75% de los tambos tuvo dificultades para mantener el 90% de sus valores de RCS por debajo del umbral de $7,5 \times 10^5$ cél/ml que exigía el C.A.A..

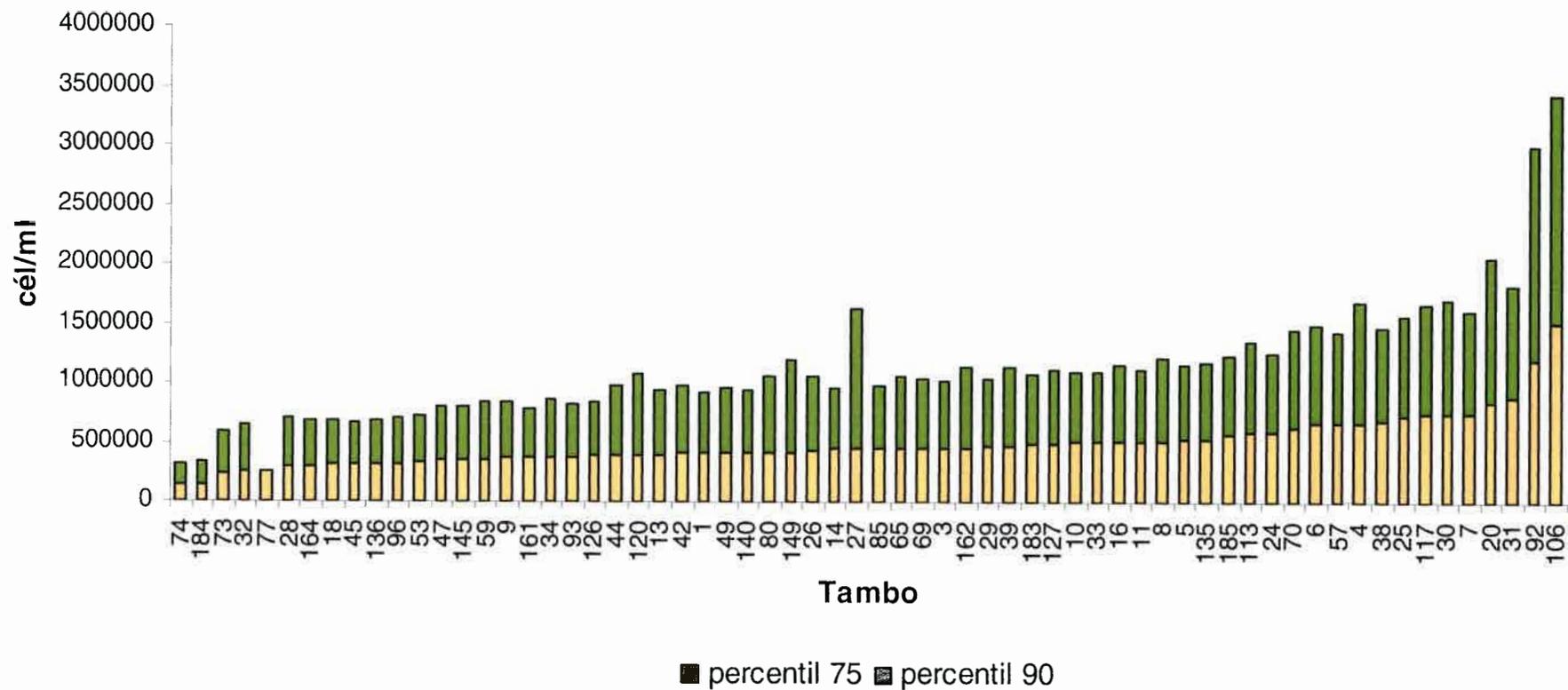
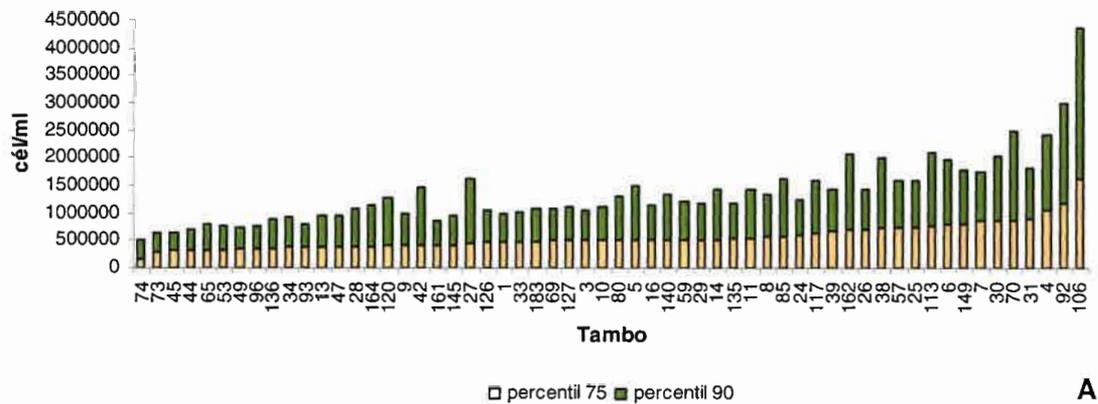


Figura 5. Percentiles 75 y 90 para Recuento Celular Somático de cada tambo perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral en el período 2005 a 2007

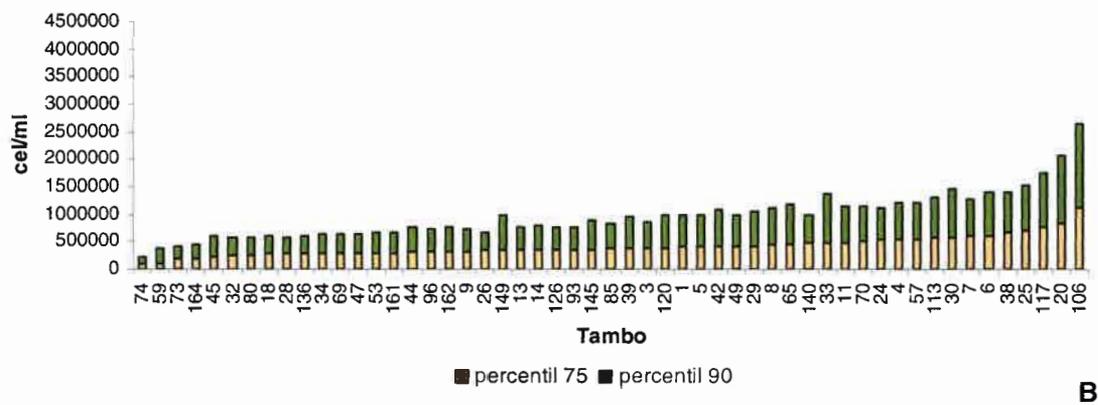
Distribución anual del Recuento Celular Somático por tambo durante el período 2005 – 2007

La figura 6A, 6B y 6C representan la distribución anual de los valores de RCS para cada tambo, a partir de los percentilos 90 y 75, durante el período 2005 – 2007. Se puede observar que una ligera disminución en los valores de RCS de cada tambo correspondiente al año 2005 en relación al año 2006; sin embargo esta tendencia no continúa en el 2007 donde las diferencias con el año anterior prácticamente son indetectables. Hacia finales del 2007, el 23% de los tambos no cumplía con lo exigido por el C.A.A. dado que no pudo mantener al menos el 90% de sus recuentos por debajo de 750000 cél/ml. Además, aproximadamente el 50% no cumplía con el valor (550000 cél/ml) que exigió el C.A.A. a partir de finales de 2008.

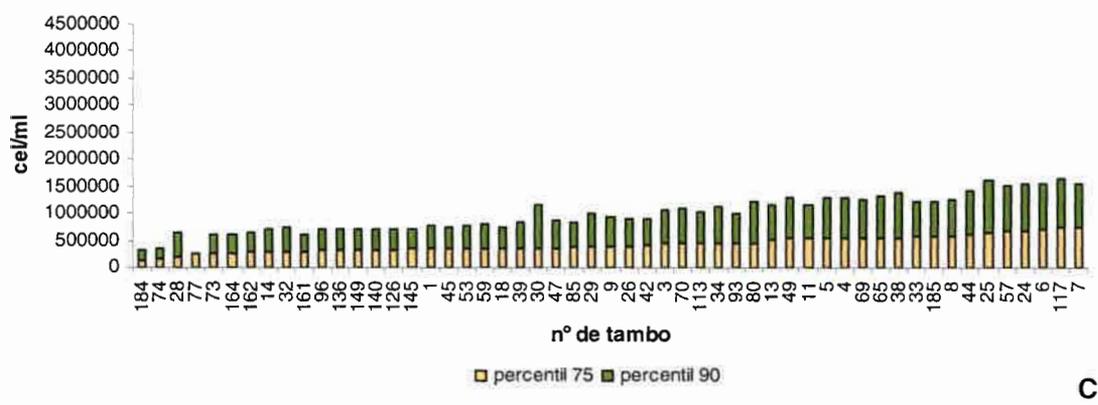
Por el contrario, el tambo 74 se destacó por estar dentro de los 3 primeros lugares en materia de RCS a lo largo del período 2005-2007.



A



B



C

Figura 6. Percentiles 75 y 90 para Recuento Bacteriano Total de cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante los años 2005 (A), 2006 (B) y 2007 (C)

ESTUDIO DE CORTE TRANSVERSAL

Análisis microbiológico de los tanques

Se determinó la presencia de microorganismos asociados a mastitis, indicadores de contaminación bacteriana o con capacidad de alterar la calidad de la leche, arrojando RAM en el 100% de las muestras, bacterias Termofílicas y Psicrófilas en el 84% y 86% de las muestras respectivamente. Las Coliformes totales crecieron en el 50% de los casos, la presencia de *E. coli* se determinó en el 2%, la de *S. aureus* en el 34%, los Staphylococcus coagulasa negativos se aislaron en el 60% de los tanques y el Citrobacter estuvo presente en el 36% de las muestras.

Determinación del Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas

Además, se analizó la distribución del RAM para cada tambo perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007. La figura 7 muestra los valores de RAM, luego de desarrollo en medio PCA a 30°C durante 48 horas, para cada tambo de la Cooperativa Arroyo Cabral durante el muestreo realizado de tanque concentrador en abril de 2007. El 16% de los tambos no cumplía con el valor (5×10^5 ufc/ml) establecido por el C.A.A. hacia fines del año 2007 como condición de calidad bacteriológica. Sin embargo, el porcentaje de tambos por encima de los límites permitidos se mantendría en la misma proporción si se aplica un umbral de $3,5 \times 10^5$ ufc/ml, el cual fue exigido a fines del año 2008.

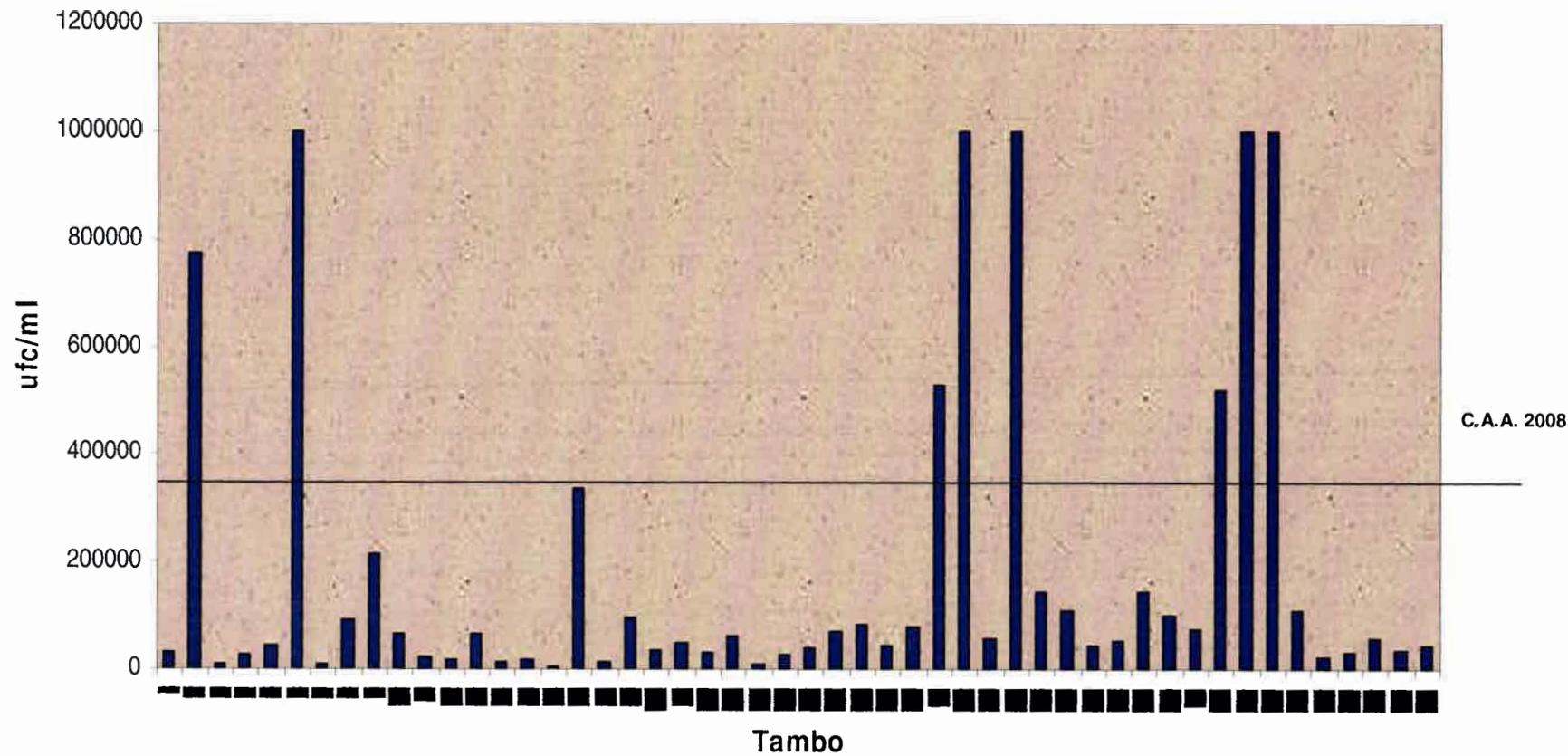


Figura 7. Recuento de Aerobios Mesófilas para cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007.

C.A.A. 2008: $3,5 \times 10^5$ ufc/ml, valor umbral de RBT establecido por el C.A.A. para el año 2008

Determinación del Recuento de Bacterias Termodúricas

La figura 8 presenta los valores de RT para cada tambo, durante el muestreo de abril de 2007. El 84% (42/50) de las muestras de leche desarrollaron bacterias termodúricas en medio PCA luego de incubación a 63°C durante 48 horas.

El 74% de los tambos presentó valores de recuento entre 1×10^2 y $3,4 \times 10^4$ cfu/ml. En particular, la muestra de leche del tanque concentrador 34, alcanzó un valor de $2,3 \times 10^5$ cfu/ml.

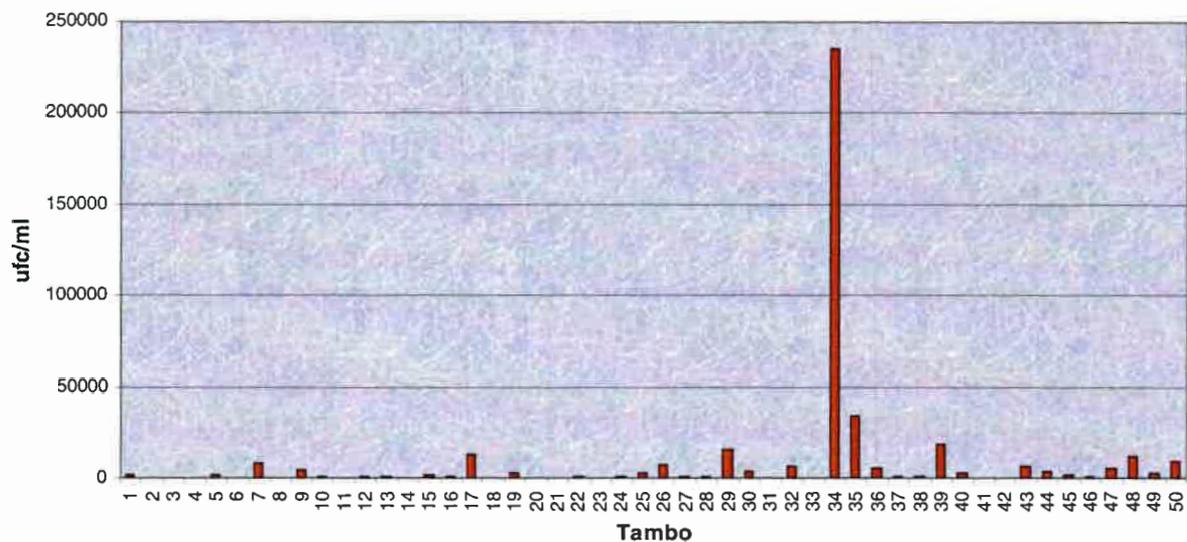


Figura 8. Recuento de Bacterias Termodúricas para cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007.

Recuento de Bacterias Psicrótrofas

La figura 9 presenta los valores de RP para cada tambo durante el muestreo de abril de 2007. El 86% (43/50) de las muestras de leche desarrollaron bacterias psicrótrofas luego de incubación en medio PCA a 7°C durante 96 horas. La mayoría (80%) de los tambos presentó valores de recuento entre 1×10^2 y $1,4 \times 10^5$ ufc/ml. Solo 3 tambos (6%) estuvieron por encima de estos valores.

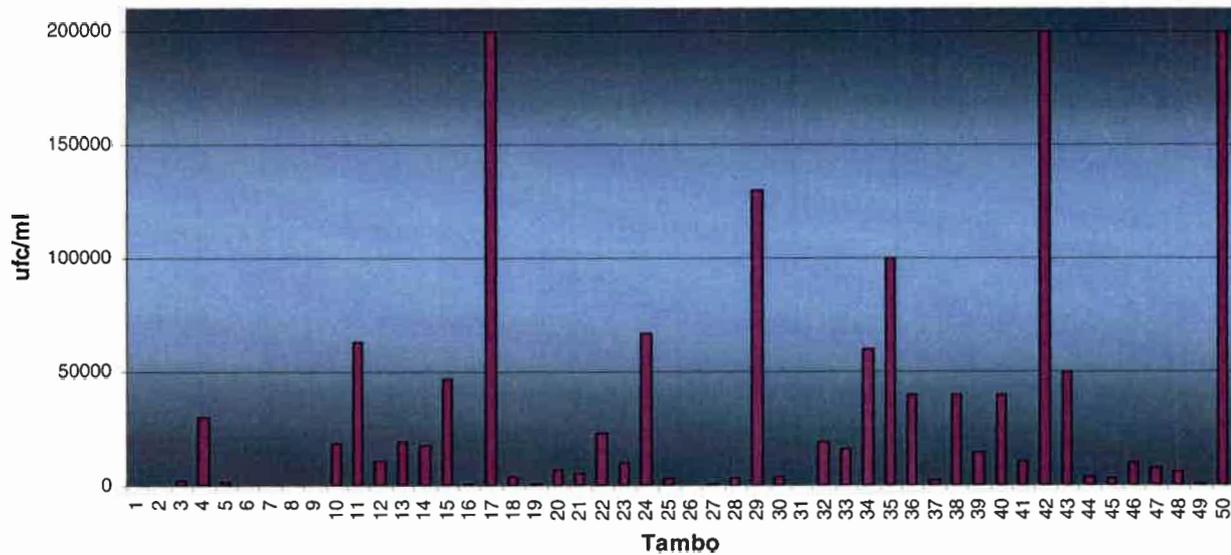


Figura 9. Recuento de Bacterias Psicrótrofas para cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007

Determinación del Recuento de Coliformes Totales

La figura 11 presenta los valores de RC para cada tambo durante el muestreo de abril de 2007. Veinticinco (50%) de las 50 muestras presentaron desarrollo de Bacterias Coliformes Totales en medio VRBL luego de una incubación a 35°C durante 24-48 horas (Figura 10). Los tambos 6 y 43 fueron los que presentaron los valores más altos, del orden de $3,9 \times 10^5$ y $3,15 \times 10^5$ ufc/ml respectivamente. Por el contrario, el resto de los tambos, presentaron recuentos inferiores a 30 ufc/ml, por lo que la escala no permite representarlos en la figura 11.

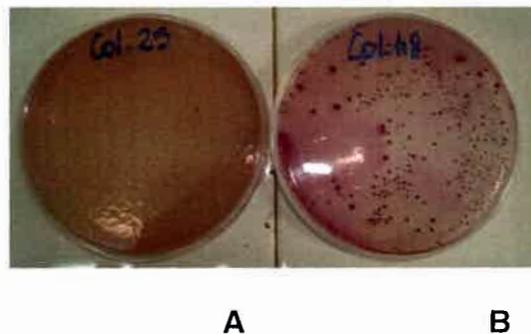


Figura 10. Recuento de Coliformes Totales en medio VRBL. A. Control sin desarrollo microbiano en medio VRBL; B. Colonias rojas (lactosa positiva) con halo de precipitado de sales biliares

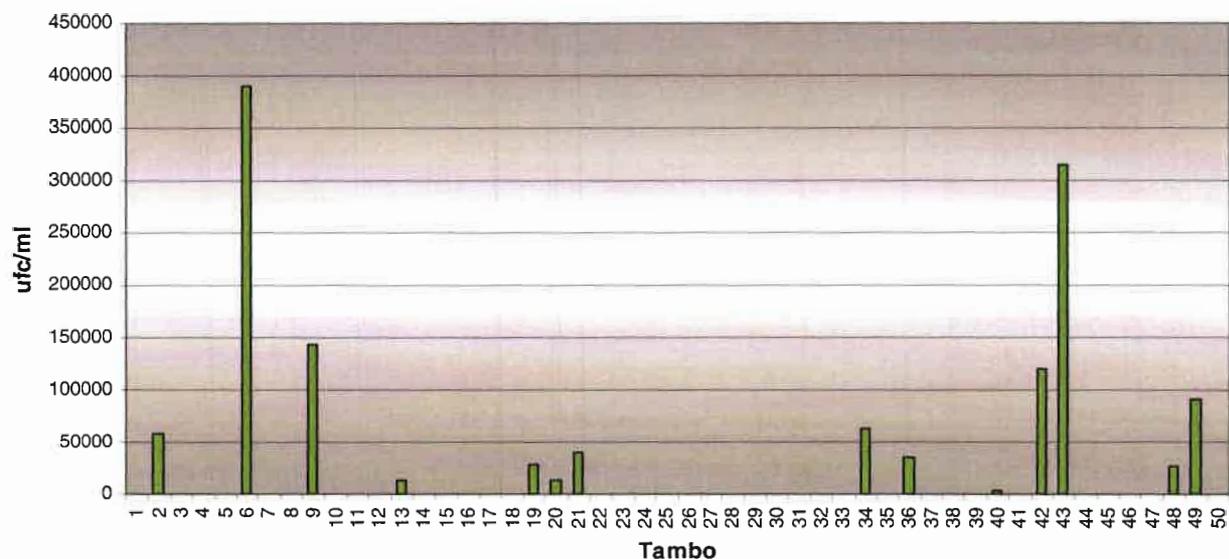


Figura 11. Recuento de Bacterias Coliformes Totales para cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007

Identificación de *Escherichia coli*

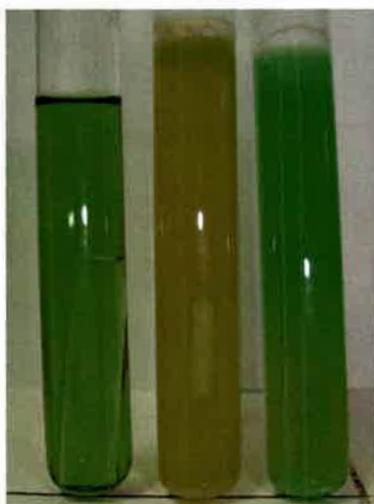
La determinación de la presencia de *Escherichia coli* se realizó por cultivo de la leche sin diluir en Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante con campanita Durham a 35-37°C durante 24-48 horas, y posterior siembra de los tubos positivos en Agar Eosina Azul de Metileno e incubación a 35°C durante 24 horas (Figura 12).

Diecinueve (38%) de las 50 muestras de leche presentaron crecimiento y producción de gas en el medio BRILLA, y por ende, indica la presencia de coliformes de origen fecal. Posteriormente, se observó crecimiento en Agar Eosina Azul de Metileno a partir de las 19 muestras de leche con desarrollo en BRILLA. Las colonias sospechosas (rojas, nucleadas, con o sin brillo metálico característico) en Agar Eosina Azul de Metileno (Figura 13) se confirmaron mediante la prueba de IMViC (Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer, Citrato) luego de incubación durante 24 horas a 35-37°C. La presencia de *E. coli* fue identificada en solo 1 (2%) de las 50 muestras de leche, mientras que 18 (36%) de las muestras se identificaron como *Citrobacter* (Figuras 14 y 15) (Tabla 08).

Por otro lado, 6 de las muestras de leche presentaron desarrollo en VRBL y ausencia de crecimiento en BRILLA, y por ende, representaban a aquellos tubos positivos para coliformes totales aunque negativos para coliformes fecales.

Tabla 8. Presencia de coliformes totales y coliformes fecales detectada en las 50 muestras de leche

	Nº muestras positivas / Nº muestras totales (porcentaje)
Coliformes totales	25/50 (50%)
Coliformes fecales	
<i>Citrobacter</i>	18/50 (36%)
<i>Escherichia coli</i>	1/50 (2%)



A B C

Figura 12. Desarrollo de coliformes fecales en Caldo BRILLA. A. Control sin desarrollo microbiano en medio BRILLA; B. Desarrollo de turbidez y producción de gas; C. Desarrollo de turbidez y sin producción de gas



A



B

Figura 13. Aislamiento de enterobacterias en Agar Eosina Azul de Metileno. A. Colonias rojas con brillo metálico. B. Colonias rosas sin brillo metálico.

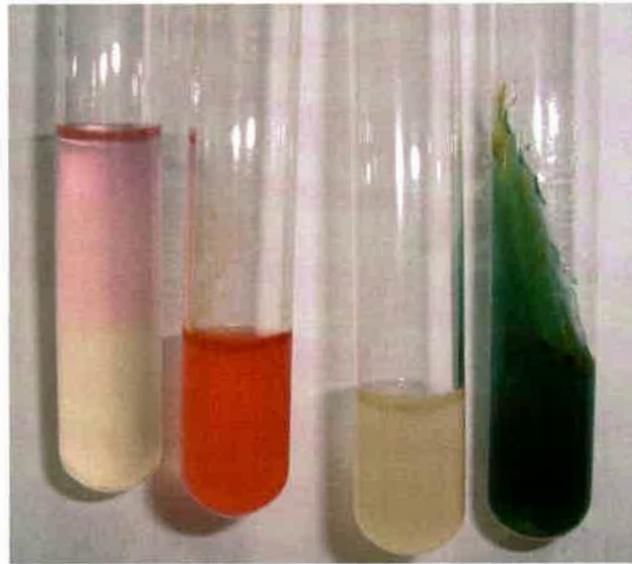


Figura 14. Prueba de IMViC para *E. coli*. A. Indol +, Rojo de Metilo +, Voges-Proskauer +, Citrato +

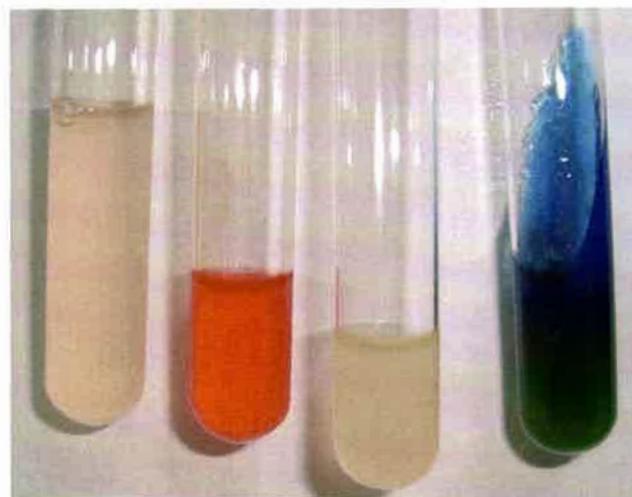


Figura 15. Prueba de IMViC para *Citrobacter*. A. Indol -, Rojo de Metilo +, Voges-Proskauer -, Citrato +

Recuento de *Staphylococcus aureus*

El recuento de presuntos *Staphylococcus aureus* se realizó por identificación de colonias de color negro, brillantes y rodeadas por un halo transparente en placas de Agar Baird-Parker con 30 a 300 colonias, luego de incubación a 35° C durante 72 horas (Figura 16).

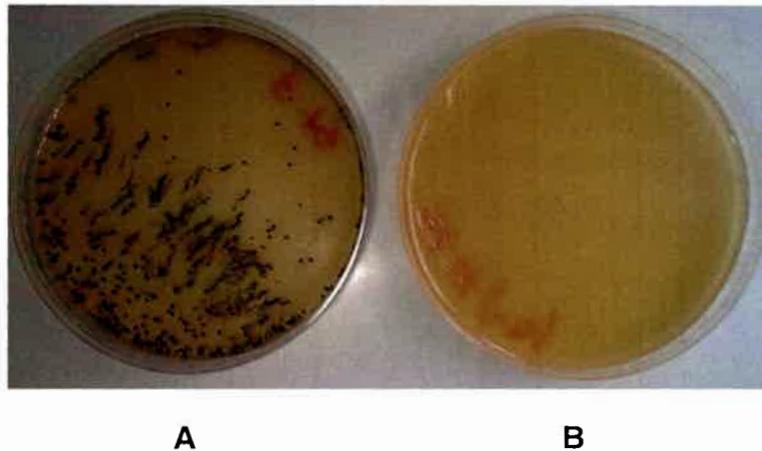


Figura 16. Recuento de colonias de presuntos *Staphylococcus aureus* en Agar Baird-Parker. A. Desarrollo de colonias de color negro, brillante y con halo de transparencia; B. Control sin desarrollo microbiano en medio Agar Baird- Parker.

Cincuenta y siete (94%) de las 50 muestras de leche mostraron desarrollo de presuntos *Staphylococcus aureus*, mientras que las restantes tres muestras resultaron negativas.

En la figura 17 puede observarse el recuento de presuntos *Staphylococcus aureus* en las muestras de leche provenientes de los 47 tambos. Esta determinación mostró que 41 (82%) de 47 de las muestras presentaron valores de recuento de presuntos *Staphylococcus aureus* entre 3×10^2 y 2×10^4 ufc/ml. Los tambos 2, 34, 43 y 50 presentaron los recuentos más elevados ($4,2 \times 10^4$ - $7,1 \times 10^4$ - $4,4 \times 10^4$ y $7,45 \times 10^4$ ufc/ml, respectivamente).

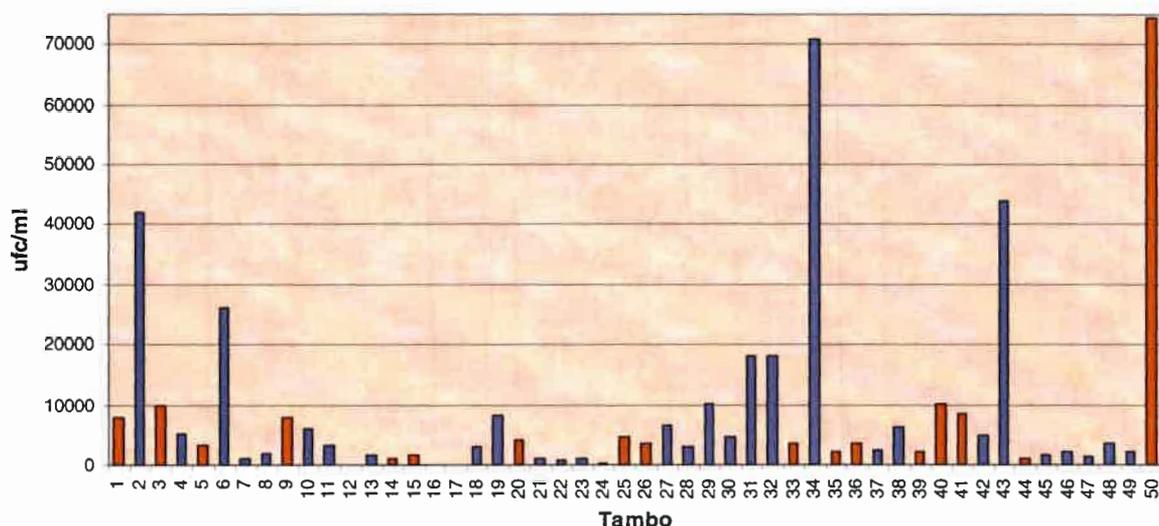


Figura 17. Recuento de presuntos *Staphylococcus aureus* para cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007.

● *Staphylococcus coagulasa negativos*, ● *Staphylococcus coagulasa positivos*

Confirmación de *Staphylococcus aureus*

Si bien las muestras de leche de 47 tambos presentaron desarrollo de presuntos *Staphylococcus aureus*, solo 17 (34%) de las colonias aisladas de leche de tanque resultaron *Staphylococcus aureus* coagulasa positivas y, por ende, consideradas como potenciales productoras de mastitis (Figura 18). Las colonias obtenidas de las restantes 30 (60%) muestras de leche resultaron *Staphylococcus coagulasa* negativas (Figura 18).



Figura 18. Prueba de la coagulasa. A. Cepa de *Staphylococcus coagulasa* negativa; B. Cepa de *Staphylococcus aureus coagulasa* positiva.

Recuentos celulares somáticos en tanques

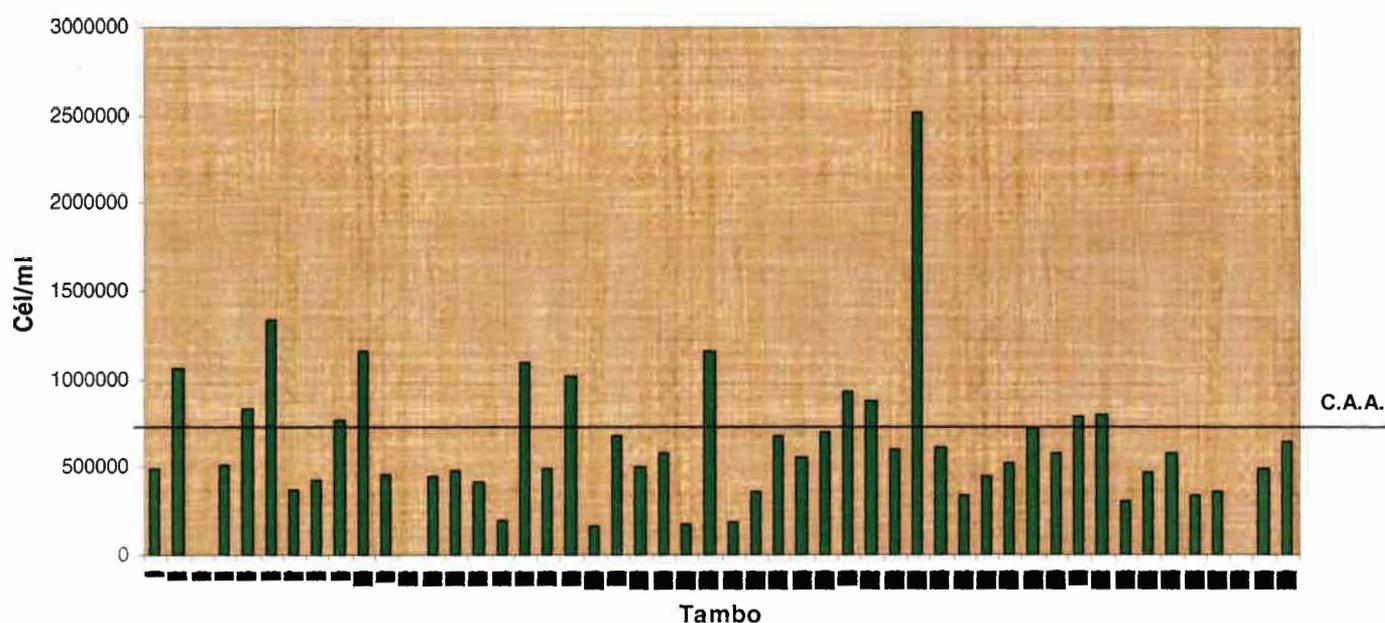


Figura 19. Recuento Celular Somático para cada tambo en estudio perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007.

C.A.A. 2008: $5,5 \times 10^5$ cél/ml, valor umbral de RCS establecido por el C.A.A. para el año 2008

Además de determinar la presencia de microorganismos asociados a mastitis, de indicadores de contaminación bacteriana o con capacidad de alterar la calidad de la leche, se analizó la situación sanitaria de los tambos durante el mes de abril del año 2007. Para ello, se investigó la distribución del RCS para cada tambo perteneciente a la Cooperativa Arroyo Cabral durante el mes de abril de 2007

La figura 19 muestra los valores de RCS para cada tambo de la Cooperativa Arroyo Cabral durante el muestreo realizado de tanque concentrador en abril de 2007. El 26% de los tambos no cumplía con el valor ($7,5 \times 10^5$ ufc/ml) establecido por el C.A.A. hacia fines del año 2007. El porcentaje de tambos se incrementa al 48% al considerar el valor umbral de $5,5 \times 10^5$ cél/ml que exigió por el C.A.A. a fines de 2008.

Frecuencia de aislamiento de *Staphylococcus aureus* según estrato de Recuento Celular Somático en tanque

La Tabla 9 muestra la asociación entre recuentos de *Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus coagulasa* positivos y categoría de RCS de 47 muestras de leche.

Tabla 9. Frecuencia de aislamiento *Staphylococcus aureus* según RCS en tanque

Categoría de RCS	N	Media	Porcentaje de aislamiento
		<i>Staphylococcus aureus</i> (ufc/ml)	
< 250.000 células/ml	5	5900	71%
≥ 250.000 a 500.000 células/ml	16	3020	100%
≥ 500.000 a 750.000 células/ml	14	18540	100%
≥ 750.000 células/ml	12	6175	92%

n: número de muestras de leche

Los resultados obtenidos muestran un incremento del valor de la media del recuento de *Staphylococcus aureus* en la categoría de RCS superior a 500.000 células/ml. Esta tendencia se observó de forma marcada también para la media del recuento de *Staphylococcus coagulasa* positivos en la categoría superior a 750.000 células/ml.

Inhibidores en leche

Determinación de la presencia de inhibidores bacterianos en la leche

Se realizó la detección de sustancias inhibidoras del desarrollo bacteriano en las muestras de leche de tanque concentrador mediante la prueba biológica del Delvotest® SP – NT. Dos (3,63%) de las 50 muestras analizadas mostraron presencia de inhibidores bacterianos.

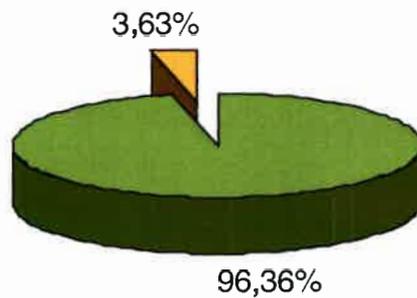


Figura 20. Porcentaje de muestras de leche con residuos de antibióticos provenientes de tanque concentrador de 55 tambos pertenecientes a la Cooperativa Arroyo Cabral.

● presencia de inhibidores bacterianos ● ausencia de inhibidores

Encuesta de Manejo

Encuesta: descripción estadística de las prácticas de manejo de los tambos

En lo que se refiere a la situación general de los tambos (Tabla 10), los datos relacionados a características generales del manejo de mastitis muestran que para la mayoría de los productores de la cooperativa la mastitis no constituye un problema importante. Un elevado porcentaje de los tambos se manejan con médicos veterinarios contratados por el establecimiento, llevando registros de los casos de mastitis clínicas. Es común el uso de tanques refrigerados para el acopio de la producción de leche.

Tabla 10. Características generales del manejo de mastitis en los tambos de la Cooperativa Arroyo Cabral

Situación de la mastitis en los rodeos	Alarmante	Superior a la de sus vecinos	Dentro del promedio de sus vecinos	No constituye un problema importante	
	2*	2	40	56	
Encargado del control de la mastitis	Médico Veterinario especializado en mastitis	Personal del establecimiento	Médico Veterinario del establecimiento	Personal del establecimiento y Médico Veterinario del establecimiento	
	22	0	78	0	
Acopio en tanques refrigerados	SI			NO	
	80			20	
Registro de mastitis clínicas	SI			NO	
	66			34	
Tipo de registros	Empírico	Informático	Veterinario	Planillas	No sabe
	3.3	6.7	16.7	70	3.3

*: porcentaje de tambos

La Tabla 11 muestra el detalle de los ítems de la encuesta relacionados las medidas y tratamiento dirigidos al control de la mastitis clínica. El perfil que presentaron los establecimientos de la cooperativa se caracterizó por realizar la prueba del chorro como una práctica común dentro de los tambos, al igual que la de evitar la eliminación de vacas con mastitis. Además, los tamberos tienden a retirar las vacas de 4 a 7 ordeños y evitan el ordeño de animales enfermos y sanos al mismo tiempo. La frecuencia de recambio de las pezoneras en la mayoría de los casos es de 5 a 8 meses y solo el 66% aseguró realizar siempre la desinfección de pezones post ordeño. El tratamiento más frecuente para los animales del rodeo se basa en la utilización de pomos y antibióticos, siempre por sugerencia del veterinario. Habitualmente no se remiten muestras para estudio ni se realiza diagnóstico a nivel de vaca.

La Tabla 12 presenta las características relacionadas al personal que trabaja en los tambos. En general los establecimientos son llevados adelante por 2 personas, menores a 30 años y con cierta capacitación técnica, en su mayoría obtenida en charlas en empresas. Solo el 60% de los trabajadores asegura haber terminado la escuela primaria. La indumentaria utilizada por la mayoría de los tamberos consiste en botas y delantal.

Tabla 11. Porcentajes de tambos con prácticas y tratamiento dirigidos al control de la mastitis clínica

Eliminación de vacas por mastitis	SI	NO		
	36*	62		
Prueba del chorro	Frecuentemente	Nunca	Esporádicamente	
	60	40	0	
Tratamiento utilizado en mastitis clínicas	Solo con pomos	Solo con ATB inyectable	Con pomos y ATB	No sabe
	20	20	56	4
Número de ordeños que se retiran las vacas	Nunca	De 1 a 3	De 4 a 7	Mas de 7
	2	18	56	4
¿Cómo selecciona los tratamientos?	Por sugerencia del veterinario	Por sugerencia del veterinario y por experiencia		Por experiencia propia
	90	4		6
¿Ordeña vacas enfermas y sanas juntas?	SI	NO		
	8	92		
Remisión de muestras para estudio	SI	NO		
	24	76		
Diagnóstico de mastitis subclínica a nivel de vaca	SI	NO	Muy esporádicamente	
	18	66	14	
Tipo de secado de las vacas	Secado brusco cuando llegue a la fecha (c/manejo nutricional)	Secado manejando la alimentación y salteo de ordeños	Secado paulatino salteando ordeños	
	26	40	28	
Trata con antibióticos	Todas	Ninguna	Algunas vacas c/antecedentes de mastitis	
	70	14	16	
Criterio de selección de pomos	Recomendación del comercio donde compra			Otra
	78			16
¿Cada cuánto cambia las pezoneras?	Cada 4 meses o menos	Cada 5 u 8 meses	Cada 8 o mas meses	Otras
	20	42	8	30
Desinfección de pezones post ordeño	Siempre	A veces	Nunca	
	66	0	34	

*: porcentaje de tambos

Tabla 12. Características relacionadas al personal que trabaja en los tambos

Cantidad de personas que trabajan en los ordeños	1 persona	2 personas	3 personas		
	2*	70	28		
Edad aproximada	Menos de 30	Entre 30 y 40	Entre 40 y 50	Mas de 50	
	45,13	30,10	15,10	9,70	
Capacitación técnica	SI		NO		
	74		24		
Tipo de capacitación	Cursos	Charlas en la empresa		Inseminación	
	2	18		2	
Nivel de instrucción	Primario incompleto	Primario completo	Secundario incompleto	Secundario completo	
	18,60	59,30	8	8,80	
Indumentaria	Botas, guantes, delantal, cofias y barbijos	Botas y guantes	Botas y delantal	Botas	Botas, guantes y delantal
	2	2	62	2	30

* Porcentaje de tambos

Análisis de la encuesta, según la categoría de Recuento Celular Somático y Recuento Bacteriano Total

La encuesta a productores fue analizada de acuerdo a las categorías de RCS y RBT a la que perteneció cada tambo durante el año 2007. En la Tabla 13, se observa la disminución progresiva del uso de medidas indicadoras de buen manejo de tambos, según el límite de corte utilizado para el RCS. Es importante destacar que, a medida que los tambos aumentaban sus RCS, las deficiencias en el manejo aumentaban.

Tabla 13. Aplicación de prácticas de manejo, según categoría de recuento celular somático					
ITEM ENCUESTA	SUB CATEGORÍAS	A: ≥ 300.000 (%)*	B: ≥ 400.000 (%)**	C: ≥ 500.000 (%)***	N
PRUEBA DEL CHORRO	FRECUENTEMENTE	90,91	54,55	22,73	22
	ESPORÁDICAMENTE	80,00	60,00	50,00	10
	NUNCA	87,50	62,50	50,00	8
TRATAMIENTO AL SECADO	1. Secado brusco cuando llegue a la fecha	88,89	66,67	44,44	9
	1 Y 2	33,33	0,00	0,00	3
	2. secado manejando alimentación y salteo de ordeños	92,86	50,00	28,57	14
	2 Y 3	100,00	100,00	50,00	2
	3. secado paulatino salteando ordeños	91,67	66,67	41,67	12
	SELLADO DE PEZONES	Siempre	85,71	50,00	28,57
A veces		80,00	60,00	60,00	5
Nunca		100,00	83,33	33,33	6
A veces en invierno		100,00	100,00	100,00	1
CAMBIO DE PEZONERAS	≤ 6 MESES	89,29	57,14	32,14	28
	> 6 MESES Y OTRAS	83,33	58,33	41,67	12
ORDEÑOS QUE SE RETIRAN	1 A 7	87,10	61,29	35,48	31
	> 7	100,00	100,00	100,00	1
	NS/NC	87,50	37,50	25,00	8
TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA	1. Solo con pomos	100,00	50,00	25,00	8
	1 Y 2	100,00	100,00	66,67	3
	1 Y 3	100,00	0,00	0,00	1
	2. solo con antibióticos inyectables	100,00	87,50	50,00	8
	3. con pomo y antibióticos inyectables	72,22	44,44	27,78	18
	NS/NC	100,00	50,00	50,00	2
SELECCIÓN DEL TRATAMIENTO	1. por sugerencia del veterinario	86,49	56,76	32,43	37
	1 Y 2	100,00	100,00	100,00	1
	2. por experiencia propia	100,00	50,00	50,00	2

(*) (**) (***) Los porcentajes se obtuvieron en base a los 41 tambos encuestados.

Tabla 14. Aplicación de prácticas de manejo, según categoría de recuento bacteriano total

ITEM ENCUESTA	SUB CATEGORÍAS	1: ≥ 500000 (%) [*]	2: ≥ 1000000 (%) ^{**}	N
PRUEBA DEL CHORRO	FRECUENTEMENTE	54,55	31,82	22
	ESPORÁDICAMENTE	80,00	50,00	10
	NUNCA	50,00	25,00	8
TRATAMIENTO AL SECADO	1. Secado brusco cuando llegue a la fecha	55,56	33,33	9
	1 Y 2	33,33	0,00	3
	2. secado manejando alimentación y salteo de ordeñes	71,43	42,86	14
	2 Y 3	100,00	50,00	2
	3. secado paulatino salteando ordeñes	50,00	33,33	12
SELLADO DE PEZONES	Siempre	60,71	35,71	28
	A veces	60,00	20,00	5
	Nunca	50,00	33,33	6
	A veces en invierno	100,00	100,00	1
CAMBIO DE PEZONERAS	≤ 6 MESES	60,71	28,57	28
	> 6 MESES Y OTRAS	58,33	50,00	12
ORDEÑOS QUE SE RETIRAN	1 A 7	64,52	38,71	31
	> 7	100,00	100,00	1
	NS/NC	37,50	12,50	8
TRATAMIENTO DE MASTITIS CLÍNICA	1. Solo con pomos	62,50	50,00	8
	1 Y 2	100,00	33,33	3
	1 Y 3	100,00	0,00	1
	2. solo con antibióticos inyectables	100,00	50,00	8
	3. con pomo y antibióticos inyectables	27,78	16,67	18
	NS/NC	100,00	100,00	2
SELECCIÓN DEL TRATAMIENTO	1. por sugerencia del veterinario	59,46	37,84	37
	1 Y 2	100,00	0,00	1
	2. por experiencia propia	50,00	0,00	2

(*) (**) Los porcentajes se obtuvieron en base a los 41 tambos encuestados.

La tabla 14 muestra idéntica tendencia a la observada en la Tabla 13. Es decir, a medida que los tambos aumentaban los valores de RBT, se detecta una disminución en la aplicación de las prácticas de manejo.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES



1. ANÁLISIS RETROSPECTIVO

1.1. Variación del RBT en el período 2005-2007

Una clara medida de las condiciones de higiene de un establecimiento tambero y su sistema de obtención de leche son los recuentos bacterianos totales (Calvinho et al., 1998; Jayarao et al., 2004; Berry et al., 2006). La tendencia de los RBT de los tambos estudiados no responde a una clara matriz de estacionalidad. De esta manera, los resultados obtenidos difieren de los descritos por Signorini et al. (2003). Los autores informan sobre un marcado impacto de las condiciones climáticas en épocas estivales, con alta temperatura y humedad, sobre el rendimiento de la producción de leche, coincidente con el aumento en los RBT.

Las elevadas temperaturas y habituales lluvias durante los meses de diciembre a marzo, favorecen el aumento en los RBT de microorganismos del ambiente que podrían pasar a leche favorecidos por la mala higiene del animal, las instalaciones y utensilios (Signorini et al., 2003).

La utilización de equipos de ordeño más sofisticados y de tanques de acopio con sistemas de refrigeración, contribuirían sensiblemente a la mejora de la calidad bacteriológica de la leche de los tambos (Revelli et al., 2004). Los tambos de este estudio mostraron una disminución gradual y sostenida del número de bacterias totales, así como también una reducción de la variabilidad entre ellos. Esto respondería al mejoramiento de la tecnología de almacenamiento de la leche que adquirió la cooperativa en los últimos años.

1.2. Variación de los RCS en el período 2005-2007

El RCS se considera un indicador de la condición sanitaria de un establecimiento lechero, además es un calificado estimador de la calidad tecnológica de la leche producida. Eso significa que el mismo es reconocido como un parámetro relacionado al rendimiento, la calidad composicional de la leche y de los productos derivados (Politis et al., 1988; Barbano et al., 1991; Basualdo, et al., 1993, Román et al., 2000; Barbano et al., 2006). Generalmente los RCS del animal aumentan con la edad y la etapa de lactancia (Harmon, 1994; Vissio et al., 2008A; Vissio et al., 2009).

El estrés causado por las altas temperaturas y humedad, colaboraría con el aumento de la susceptibilidad de los animales a las infecciones intramamarias (Hogan y Smith, 1997). Al mismo tiempo, disminuye el consumo de alimentos por parte de los animales impactando en el volumen y calidad de la leche producida y en la capacidad de respuesta fisiológica del animal ante situaciones de estrés (Cummings, 1992; West et al., 2003; West, 2003; Berry et al., 2006). Sin embargo, el comportamiento de los

RCS determinados en el presente trabajo durante el período 2005-2007, no muestra una tendencia estacional típica para los meses de mayores temperaturas.

La disminución de los RCS en el tiempo es poco significativa y podría indicar que, si bien la mejora en la metodología de enfriado de la leche afecta en forma directa a los RBT, no impacta de la misma manera en los RCS. Esto podría ser atribuido a que los valores de células somáticas, indicadores de mastitis en los tambos, derivan de cuestiones ligadas íntimamente a su manejo y a la capacidad y formación técnica de quienes los rigen y administran.

2. ESTUDIO DE CORTE TRANSVERSAL

2.1. Recuento celular somático

Al contrastar los valores de RCS obtenidos en la medición realizada en el mes de abril de 2007 y los valores que exigía el C.A.A. a fines del mismo año, el 26% de los tambos se encontraba por arriba de los valores aceptados (750.000 cél/ml). La misma comparación realizada con respecto a lo exigido en 2008 mostró que un 48% de los tambos no cumplía con lo exigido por el C.A.A. y un 74% no lo cumpliría si se comparara con lo que se exigiría hacia fines de 2012.

2.2. Determinaciones microbiológicas

2.2.1. Recuento de aerobias mesófilas

El análisis de los resultados de los RAM obtenidos durante el análisis realizado en el mes de abril de 2007 en relación al umbral exigido por el C.A.A., muestra que 8 (16%) de los tambos no estaban dentro de los parámetros establecidos hacia fines de 2007 (500.000 ufc/ml). El porcentaje se mantendría considerando las exigencias del 2008 y sería de un 29% cuando se considerara lo exigido para el 2011. Esto sugeriría que no sólo es necesario la mejora en la tecnología de enfriado de los establecimientos agropecuarios, sino que además debe ser acompañado con un adecuado manejo de los animales, uso y mantenimiento de los equipos y manipulación de la materia prima.

Se debe destacar que no existen criterios de interpretación basados en la legislación, que establezcan valores umbrales para las determinaciones microbiológicas de cada grupo microbiano en leche cruda.

2.2.2. Termodúricas

El RT es un indicador de mala higiene del tambo o de un escaso mantenimiento higiénico-sanitario del equipo de ordeño. Además, la presencia de bacterias termodúricas informa sobre la eficiencia en el proceso de pasteurización dado su capacidad de termorresistencia.

Cuando la higiene del equipo o utensillos de ordeño es inadecuada o el operario no trabaja con la indumentaria requerida, microorganismos ambientales de diversas especies termorresistentes pueden contaminar las superficies de los equipos y pasar luego a la leche (Amiot, 1991). Otras situaciones tales como las cañerías en mal estado, bombas deficientes o con pérdidas, pezoneras deterioradas, entre otras, pueden contribuir a la contaminación por este grupo bacteriano (Signorini et al., 2003).

Los valores aceptables para estos microorganismos en leche oscilan entre 200 y 300 ufc/ml, según Calvino et al (1998, 2001). Considerando ese estándar, un 70% (35/50) de los tambos estudiados, mostraron recuentos superiores a las 300 ufc/ml. Estos recuentos representarían la posibilidad de cierto deterioro de la calidad posterior al proceso de pasteurización. Por otro lado, de los 35 tambos con valores elevados de RT, el 31,4% (11/35) presentó RAM superiores a las 100.000 ufc/ml.

En contraste con los hallazgos de este trabajo, estudios realizados en diferentes cuencas lecheras de Argentina reportaron un 64% de tambos con recuentos inferiores a 300 ufc/ml (Calvino y Tirante, 2005). En una investigación llevada a cabo por Signorini et al. (2003) en un tambo de la cuenca lechera central, se informó que los recuentos de bacterias termodúricas durante los meses de verano y otoño resultaron superiores a las aceptadas según Calvino et al (1998, 2001). Otro estudio, realizado sobre 6 centros de acopio en la cuenca lechera central de Chile, arrojó valores elevados en un rango de 2300 a 100.000 ufc/ml (Agüero Egulluz et al., 1999).

2.2.3. Psicrótrofos

Los microorganismos psicrótrofos, son aquellos que crecen a temperaturas inferiores a 7°C. Por ello, el mantenimiento de la leche a bajas temperaturas por largos períodos de tiempo selecciona el desarrollo de este tipo de flora (Holm et al., 2004).

Si bien este grupo microbiano es eliminado durante la pasteurización, sus enzimas lipasas y proteasas son resistentes a este proceso, e inclusive pueden sintetizarse a bajas temperaturas (Fairbairn and Law, 1986). La presencia de estos productos bacterianos puede ir en detrimento de la leche y sus productos derivados, provocando serios problemas tales como la rancidez, reducción de los rendimientos queseros, gelificación de la leche UHT, etc. La hidrólisis enzimática de la grasa y de la proteína láctea por estos microorganismos, conlleva a los defectos llamados "*flavour*" (Novoa y Restrepo, 2007).

En condiciones de higiene aceptables en los establecimientos lecheros, menos del 10% de las bacterias totales son psicrótrofas (Champagne et al., 1994). En nuestro estudio el 56% (28/50) de las muestras de leche evidenciaron recuentos por arriba de ese estándar, mientras que ese porcentaje disminuía (33,3%) si sólo se consideraban los tambos que presentaban valores de RAM superiores a 100.000 ufc/ml.

Entre los géneros bacterianos con actividad lipolítica se encuentran *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (Hantsis-Zacharov and Halpern, 2007). Sin embargo, es necesario un número relativamente alto (1×10^6 ufc/ml) de *Pseudomonas* para producir un efecto perceptible en el "flavour" de la leche (Barbano et al., 2006). Los problemas de calidad asociados a estos microorganismos, constituye un suceso emergente en nuestro país, y del cual son responsables cambios en el sistema de producción y almacenamiento de la leche en el tambo (Andrey and Frazier, 1959).

Si bien en este trabajo no se realizó la identificación de género y especie de las bacterias psicrótrofas, el 100% de los recuentos fueron marcadamente inferiores al valor (1×10^6 ufc/ml) considerado como crítico para *Pseudomonas* (Barbano et al., 2006). La mayoría (90%) de los tambos presentaron valores de recuento entre 0 y $7,6 \times 10^4$ ufc/ml, magnitud que indicaría una buena calidad del producto, sin perjuicios para la vida útil de la lecha cruda y la presencia de efectos en el "flavour" de este producto y sus derivados.

En general, el hallazgo de microorganismos Gram negativos psicrótrofos en leche, se relaciona con la calidad del agua utilizada y la efectividad de los procedimientos de limpieza en la higiene de equipos de ordeño y tanques acopiadores. En estudios realizados en tambos de la cuenca Villa María, a la que pertenece la Cooperativa Arroyo Cabral, reportaron que un 70% de las aguas disponibles para el lavado de ubres eran positivas a *P. aeruginosa* (Vissio et al.; 2008 B). El género *Pseudomonas* representa uno de los microorganismos aislados más frecuentemente tanto en leche como en agua de lavado (Jayarao and Wang, 1999; Iramain et al., 2005; Vissio et al., 2008 B). Además, la capacidad de esta especie microbiana de producir biofilms dificulta su remoción de los tanques, mangueras e instrumental de ordeño (Jayarao and Wang, 1999).

En la investigación realizada por Calvinho y Tirante (2005) en distintos establecimientos lecheros de Argentina, los valores de RP fueron inferiores a las 10.000 ufc/ml en el 46% de los tambos, levemente inferior al 50% reportado en este trabajo. Si se comparan los resultados obtenidos en tambos con RP superiores a 50.000 ufc/ml, la presente investigación muestra un porcentaje (16%) sensiblemente inferior al 26,5% obtenido por el citado trabajo.

En un estudio realizado en la región metropolitana chilena en distintos centros de acopio los valores de RP se encontraban dentro del rango de 700 a 25.000 ufc/ml, con

un promedio de 8.208 ufc/ml (Agüero Eguiluz et al., 1999). Los resultados obtenidos en nuestra investigación presentaron valores superiores, dentro de un rango más heterogéneo (0 a 200.000 ufc/ml), y con un promedio de 33.310 ufc/ml.

Es complejo establecer comparaciones entre estos estudios debido a las variaciones de estación, región y tecnología de enfriado utilizada. Sin embargo, es importante para la población estudiada comenzar a incorporar controles de recuentos que permitan detectar umbrales potencialmente relacionados con el efecto “flavour” de los productos elaborados.

2.2.4. Recuento de Coliformes totales e identificación de *E. coli*

La detección en leche cruda de bacterias coliformes, de origen entérico en su mayoría, se relaciona de manera directa con una mala higiene de ubres, equipos, elementos de ordeño y mala calidad de agua. Pueden encontrarse en la materia fecal, en las camas de los animales y en los equipos de almacenamiento utilizados. Valores de RC en leche cruda superiores a 150 ufc/ml, indicarían serias deficiencias en la higiene (Calvinho et al., 1998, 2001).

Los recuentos de coliformes obtenidos en este estudio resultaron superiores a los informados por Calvinho y Tirante (2005), quienes encontraron 20 de 29 establecimientos con RC inferiores a 100 ufc/ml. Entre sistemas diferentes al imperante en la Argentina, en la cuenca central de Chile, Aghuero Eguiluz et al (1999), encontraron valores de RC en un rango de 300 a 50.000 ufc/ml, demostrando serias deficiencias en la higiene de los tambos

En nuestro estudio, un 50% de las muestras desarrollaron microorganismos coliformes totales, lo que contrasta con lo hallado por Holm et al (2004), quienes reportaron un 20% de los tanques de acopio con desarrollo de coliformes totales.

En un trabajo realizado en la cuenca lechera de Villa María, se comprobó que muestras de agua de lavado y de fuente no resultaban aptas para la higiene de equipos y utensilios del ordeño. Un 80% estaban contaminadas con bacterias coliformes y de estas un 20 % con *E. coli* (Vissio et al., 2008 B). Estos organismos se multiplican fácilmente en los residuos de leche contribuyendo al incremento de RAM en el tanque de frío (Hayes et al., 2001).

En el año 1996, Bray y Shearer sugirieron un umbral menos estricto, por el cual solo los recuentos de coliformes totales superiores a los 1000 ufc/ml, serían indicadores de serios problemas con la higiene del proceso de ordeño e instalaciones. En otro estudio realizado por Reineman y col. (2003) sobre la limpieza y sanitización de máquinas ordeñadoras, se sugirió una modificación a estos estándares. Aquellos recuentos que no superaran las 10 ufc/ml indicarían excelentes condiciones de higiene y desinfección de equipos. Los que se encontraran entre 100 y 1000 ufc/ml reflejarían

una higiene inadecuada; mientras los que superaran las 1000 ufc/ml, indicarían una higiene totalmente deficiente. En nuestra investigación, el 56% de los tambos presentaron crecimiento de coliformes que indicarían higiene inadecuada de los tambos y serían similares a los resultados reportados por Jayarao y Wang (1999).

En el trabajo realizado en EE.UU. por Van Kessel et al (2004), la presencia de coliformes fecales fue detectada en el 95% de las muestras, donde el 93% de las colonias aisladas e identificadas correspondían a *E. coli*. En nuestro estudio, el 50% de los tambos producían leche contaminada con coliformes totales, pero sólo el 2% de las muestras estaban representadas por *E. coli*. Estos hallazgos son consistentes con los descritos por Jayarao et al (2006) en un trabajo realizado en Pennsylvania, donde se encontró un 2,4% de muestras de leche cruda contaminadas con *E. coli*. La importancia del aislamiento de *E.coli* reside en reconocer a esta especie bacteriana como uno de los agentes causales de mastitis en el mundo (Lam et al., 1996).

Dada la baja frecuencia de aislamiento (1/50) de la *E. coli* en los tanques, se presume que la presencia de este microorganismo no constituiría un problema importante. Sin embargo, para descartar esta sentencia, sería necesario realizar estudios en vacas individuales. Es importante señalar que los RC se mantienen por encima de los parámetros establecidos por los distintos autores, dejando en evidencia un inadecuado manejo de la limpieza y desinfección de los equipos de ordeño, así como también en las rutinas de trabajo.

2.2.5. Recuento de *Staphylococcus aureus*

La identificación en muestras de tanque de patógenos causantes de mastitis tales como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* es una evidencia de la presencia de infección en la población del tambo (Godkin y Leslie, 1993).

En nuestro país y el mundo, han sido reportados distintos tipos de patógenos como causantes de mastitis, entre los cuales *S. aureus* es el agente causal con mayor frecuencia de aislamiento (Tessi et al., 1981; Gentilini et al., 2000; Olde Riekerink et al., 2006; Rysanek et al., 2007 y 2009).

En el presente estudio y en consistencia con reportes previos (Calvinho 1998 y 2001; Vissio et al., 2008A; Bradley, 2002; Calvinho y Tirante 2005; Calderón y Rodríguez, 2008), el género *S. aureus* fue aislado en un alto porcentaje (34 %) de las muestras de tanque. Por otro lado, se evidenció una elevada tasa de aislamiento de SCN (60%), hallazgo recurrente en diversos estudios realizados en el país y el mundo (Harmon et al., 1995; San Martín et al., 2002; Pitkälä et al., 2004; Jayarao et al. 2004; Faría et al 2005; Tenhagen et al., 2006; Calvinho et al., 2007; Boscán Ocando et al., 2009; Vissio y col, 2008). Los SCN son un grupo microbiano cuya importancia y

trascendencia sobre la salud mamaria, está aún bajo un intenso estudio (Barkema et al., 1998; Sears y McCarthy, 2003; Oviedo-Boyso et al., 2007).

En cuanto a la media geométrica de la ufc para *S. aureus*, obtenida por Holm et al en 2004, fue superior a la alcanzada en nuestro estudio, pero con un porcentaje de aislamiento del 9%. En el mismo estudio, los aislamientos de SCN estuvieron en el orden del 31%, con una media geométrica de $8,3 \times 10^3$ ufc/ml, cercana a la obtenida en nuestro trabajo.

En nuestro país, un reducido número de estudios han informado sobre la calidad bacteriológica de la leche de tanques de acopio. Entre ellos se destaca el realizado por Giraud y Busso (1980), quienes encontraron un 47.3% (N = 220) de las muestras de tanque positivas a *S. aureus*. Investigaciones realizadas en Canadá y Europa avalan al *S. aureus* como el microorganismo más frecuentemente aislado en tanques de acopio (Rysanek et al., 2007 y 2009; Olde Riekerink et al., 2006).

La correlación entre el incremento del recuento de *S. aureus* y RCS elevados no es inusual, y ha sido informada por varios autores. Barkema et al (1998 y 1999) y Tenhagen et al (2006) presentaron investigaciones que identificaron a *S. aureus* como el patógeno más frecuentemente aislado en casos de mastitis clínica y con importante correlación con elevados RCS en tanque. Jayarao et al (2004) demostraron una asociación significativa entre la frecuencia de aislamiento de *S. aureus* en muestras de leche de tanque con los valores de RCS presentados, resultados coincidentes con los reportados por Olde Riekerink et al (2006) y Rysanek et al (2007, 2009). En nuestro estudio no fue encontrada tal tendencia, siendo la proporción de aislamiento en tanque prácticamente igual para todos los estratos de RCS en tanque.

2.3. Presencia de inhibidores en la leche de tanque

A nivel mundial existe una preocupación creciente en reducir el uso irracional de antibióticos para evitar la selección de cepas resistentes y la presencia de residuos en la leche.

En nuestro trabajo solo 2 (4%) de las 50 muestras de leche analizadas resultaron positivas a la presencia de inhibidores. Es importante mencionar que numerosos trabajos han observado casos de falsos positivos en la prueba del Delvotest (Van EEnennaam et al., 1993; Tyler et al., 1992; Cullor y Chen, 1992), ya que podrían detectarse inhibidores de crecimiento distintos a los antibióticos.

No se dispone de estudios sistemáticos realizados en Argentina utilizando el Delvotest. Sin embargo, al comparar los presentes resultados con los obtenidos en otros países, se puede observar una absoluta disparidad en los porcentajes obtenidos. Un trabajo realizado en muestras de leche de tanque en la región de Andalucía (España), arrojó un 0,18% de muestras con inhibidores, inferior al 4% obtenido en

nuestro trabajo. En Venezuela, Faría et al (2005) investigaron muestras de leche de cuartos bovinos y obtuvieron 1,26% de presencia de inhibidores. En una investigación anterior del mismo autor el porcentaje obtenido fue de 22,5% de leche con inhibidores (Faría et al., 2002). En un trabajo presentado sobre 216 muestras de leche fresca de la comunidad de Cajamarca en Perú, un 20,8% de las mismas resultaron positivas a la prueba de detección de antibióticos por el método del Delvotest. Los resultados obtenidos fueron atribuidos a la falta de control de las autoridades sanitarias peruanas (Llanos Cortesana, 2002).

La presencia de residuos de antibióticos en leche, según Sánchez García, (2001) son el resultado de descuidos (30%), tratamientos indebidos (29%), errores en el método de separación de leche (22%), anomalías en el tratamiento de secado (14%) y desconocimiento del período de supresión del producto utilizado (5%). Nuestro resultado refleja cierta rigurosidad por parte de los productores, en el manejo de la leche de vacas tratadas. Además, de ser el reflejo de un sistema de monitoreo y penalización implementado por la cooperativa.

2.4. Encuesta de manejo de tambos

Las respuestas dadas por los productores tamberos en la encuesta de manejo, se analizaron tratando de definir un perfil de los establecimientos lecheros y explorar su posible asociación con los RCS y RBT de los tambos a lo largo del año 2007.

En investigaciones realizadas por distintos autores (Jayarao et al., 2004; Rodrigues y Ruegg, 2005) se ha informado que el tratamiento de antibióticos al secado era de uso común dentro de las prácticas de los productores, al igual que la desinfección de los pezones post ordeño. Estas mismas prácticas fueron descritas anteriormente como importantes y recomendadas para el control de la mastitis (Bartlett et al., 1992). Ambas, aunque con frecuencias menores, coinciden con las aplicadas por los tamberos de los establecimientos investigados en nuestro trabajo y tienen gran relevancia ya que forman parte del plan de 5 pasos establecido por el National Mastitis Council para el control de la mastitis. El informe presentado por el National Animal Health Monitoring System (NAHMS) en el 2008, mostró que la frecuencia de aplicación de la desinfección de pezones post ordeño por los tamberos de Estados Unidos era mayor al 98%.

Un estudio realizado en la cuenca lechera de Villa María (Córdoba), del que forma parte la Cooperativa Arroyo Cabral, evidenció la existencia de dos grupos de tambos marcadamente distintos que, entre otros aspectos, diferían en el nivel de aplicación tecnológica. Estos establecimientos aplicaban el sellado post ordeño y la terapia de vacas secas como parte de su programa de sanidad en un 40% y 59%, respectivamente. Los mismos autores informaron que la edad promedio de los

tamberos era de 41 años (Vissio et al., 2008A). Esto difiere con lo hallado en nuestra investigación, en donde los porcentajes de sellado de pezones y la terapia al secado fueron superiores y un 75% de los trabajadores eran menores de 40 años.

La práctica de desinfección del pezón pre y post ordeño es crítica a la hora de la prevención de la mastitis y de la aplicación de un programa de control en un rodeo lechero. La desinfección de los pezones, es una práctica aceptada universalmente para reducir la población bacteriana en toda la punta del pezón, disminuyendo el riesgo de infección intramamaria (Jayarao et al., 2004).

Es importante tener en cuenta que la totalidad de los productores encuestados lavan los pezones de los animales, pero no secan. Los pezones húmedos facilitan el acceso de las bacterias presentes en la piel que rodea el pezón hacia el interior de la ubre; además de causar una alta frecuencia de deslizamiento de la pezonera de la máquina de ordeño (Ruegg, 2004). Este último representaría uno de los factores que colaborarían con el aumento de las infecciones intramamarias (Philpot y Nickerson, 1991). La desinfección y el secado de los pezones son los factores más importantes de la higienización de la ubre (Ingawa et al., 1992; Ruegg, 2004; Galton et al., 1986; Pankey, 1987).

Según el informe presentado en el 2008 por el National Animal Health Monitoring System (NAHMS) de Estados Unidos, el promedio de personas que trabajaba tiempo completo en los tambos era de 3,1 operarios, mientras que en nuestro trabajo el 70% de los establecimientos aseguraba contar con 2 personas. Por otro lado, la metodología más usada para la capacitación del personal era mediante lectura o debates y entrenamiento en el lugar de trabajo, mientras que en nuestro estudio se concluyó que las charlas organizadas por la cooperativa se constituyeron en el método más habitual de capacitación.

Prácticas de manejo e indicadores de salud mamaria

Las características de los establecimientos lecheros y las prácticas de manejo en relación a los RCS y la incidencia de mastitis en los rebaños han sido motivo de intenso estudio (Fabre et al., 1996; Barkema et al., 1998; Bartlett et al 1992; Goodger et al., 1993).

Fenlon et al. (1995), demostraron que los tanques acopiadores con altos recuentos RCS tenían producciones con menor volumen de leche, no realizaban de forma periódica el sellado del pezón posterior al ordeño, ni el mantenimiento del sistema de ordeñadoras. Estos mismos resultados también fueron reportados por Jayarao et al. (2004) y Hutton et al. (1990).

En un estudio realizado por Chassagne et al. (2005) en Francia, el que involucró 304 rodeos, demostró que la desinfección post sellado disminuía

considerablemente los RCS en la leche. Estos resultados coinciden con los presentados por otros autores (Barkema et al., 1998, Chassagne and Barnouin, 2001; De Vlieghe et al., 2004 y Barnouin et al., 2004). En nuestro trabajo se observó una tendencia numérica en el aumento de los RCS y de los RBT cuanto menos frecuente fue la desinfección de pezones.

La investigación realizada por Goodger et al. (1993) identificó a los procedimientos de saneamiento de los equipos de ordeño y de los animales, como una manera de reducir significativamente los RCS en el tanque de acopio. Por otro lado, Hutton et al (1990) en investigaciones realizadas en el estado de Washington, indicaron que los administradores de los rebaños con bajos RCS en tanques fueron más propensos a asistir a las reuniones de información lechera.

Si bien en nuestro trabajo no se han encontrado diferencias significativas, si se observaron tendencias numéricas entre prácticas de manejo y RCS. Existen numerosos estudios que avalarían estas asociaciones, por lo que deberían seguir siendo tenidas en consideración por parte de los productores de la Cooperativa.

CONCLUSIONES:

- Se evidenció una clara tendencia a la disminución en el tiempo de los valores de RBT para el conjunto de los tambos de la Cooperativa. Por el contrario, no se observó tendencia temporal alguna, en el caso del RCS. Además, no se apreció comportamiento estacional tanto en el RBT como en el RCS.
- Los microorganismos más frecuentemente aislados en la muestras de leche de la cooperativa fueron, en orden decreciente, los pertenecientes a los grupos bacterianos de aerobios mesófilos, termodúricos y psicrótrofos.
- El grupo de las bacterias coliformes fue identificado en el 50% de los tanques, aunque solo una pequeña proporción evidenció la presencia de *E. coli*.
- *S.aureus* fue identificado en el 34% de las muestras de leche de tanque.
- La presencia de inhibidores fue detectada en muy baja proporción, lo que refleja un buen manejo por parte de los tamberos de la leche de vacas tratadas y la efectividad de los controles establecidos por la cooperativa.
- Los tambos de la cooperativa mostraron cierta variabilidad respecto de distintas acciones de manejo, tales como la aplicación rutinaria de la prueba del chorro, el sellado de pezones, el tipo de asesoramiento veterinario y la aplicación de tratamiento al secado. Dichas características mostraron ciertas tendencias numéricas, pero no significativas estadísticamente entre tambos.





BIBLIOGRAFÍA

- **Agromeat.com 2009.** EE.UU. precios de la leche cayeron un 35% en dos meses. Fuente: Reuters. Fecha: 26 de febrero de 2009.
- **Agüero Eguiluz, H.; Espejo Solovera, L.; San Martín Nuñez, B.; Baladilla Ogaz, J. y Pinto Pérez, O. 1999.** Evaluación de calidad higiénica de la leche de estanque de los centros de acopio lechero, Comuna de María Pinto, Región Metropolitana (Chile). Proyecto Pro Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche, UFOCO, María Pinto.
- **Amiot, J. 1991.** Ciencia y Tecnología de la leche. Editorial Acribia, Zaragoza, España S.A. 77-109.
- **Andrey, J. and Frazier, W.C. 1959.** Psychrophiles in milk held two days in farm bulk cooling tanks. Department of Bacteriology, University of Wisconsin, Madison. Published with the approval of the Director of the Wisconsin Agricultural Experiment Station. 1781-1784.
- **Barbano, D.M.; Rasmussen, R. and Lynch, J. 1991.** Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. Journal of Dairy Science. Vol 74 (2):369-389.
- **Barbano, D.M. 1999.** Trends in milk composition and analysis in New York. Proc. Cornell Nutrit Conf. Cornell University, Ithaca, New York. P. 32.
- **Barbano, D.M.; Ma, Y. and Santos, M.V. 2006.** Influence of raw milk quality on fluid shelf life. Journal Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol 89, nº E. suppl.: E15-E19.
- **Barkema, H.W.; Schukken, Y.H.; Lam, T.J.M.; Beiboer, M.L.; Benedictus, G. and Brand, A. 1998.** Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. Journal Dairy Science. Vol. 81 (7):1917-1927.
- **Barkema, H. W.; Schukken, Y. H.; Lam, T. J. M.; Beiboer, M. L.; Benedictus, G. and Brand, A. 1999.** Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. Journal of Dairy Science. Vol 82:1643-1654.

- **Barnouin, J.; Chassagne, M.; Bazin, S and Boichard, D. 2004.** Management practices from questionnaire surveys in herds with very low somatic cell score through a national mastitis program in France. *Journal of Dairy Science*. Vol 87:3989-3999.
- **Barrenechea, A y Bitar Tachi, G. 2006.** Sistemas de gestión de la calidad en pequeñas industrias lácteas de la cuenca lechera de Villa María. Proyecto del "Programa Federal de apoyo al Desarrollo Rural Sustentable (ProFeder)". Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
- **Bartlett, P.; Miller, G.; Lance, S. and Heider, L. 1992.** Environmental and managerial determinants of somatic cell counts and clinical mastitis incidence in Ohio dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. N° 14:195-207.
- **Basualdo, S.; Notaro, H.; Meinardi, C. y Zalazar, C. 1993.** Relación entre el recuento microscópico directo de células somáticas, parámetros físico-químicos y aptitud a la coagulación de leches crudas. *La Alimentación Latinoamericana*. 198:40-42.
- **Berruga, M.; Román, M.; Molina, M. y Molina, P. 2005.** Detección de restos de antibióticos en queso Manchego. *Federazione Mediterranea Sanità e Produzione dei Ruminanti*.
- **Berry, D.P.; O'Brien, B.; O'Callaghan, E.J.; Sullivan, K.O; Meaney, W.J. 2006.** Temporal trends in bulk tank somatic cell count and total bacterial count in Irish Dairy herds during the past decade. *Journal Dairy Science, American Dairy Science Association*. Vol. 89, n° 10, 4083-4093.
- **Boscán Ocando, J.; Villarroel Ner, R.; Oviedo Bustos, A.; Sánchez Villalobos, A.; Pino Ramíre, D.; García Bracho, D.; Hernández González, L. y Pérez Barrientos, M. 2009.** Bacterias patógenas potenciales al inicio del período seco de vacas doble propósito con mastitis subclínicas. *Revista Científica FCV-LUZ*. Vol 19, 3:277-283.
- **Bradley, A. 2002.** Bovine mastitis an evolving disease. *Veterinary Journal*. 164:116-126.

- **Bray, D. R, and J. K. Shearer. 1996.** Trouble-shooting a mastitis problem herd. Univ. of Florida Coop. Ext. Circular 1162. Dep. Dairy and Poultry Sci., Florida Coop. Ext. Serv., Inst. Food Agric Science. University of Florida, Gainesville.
- **Calderón, A. y Rodríguez, V. 2008.** Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 21:582-589.
- **Calvinho, L.F.; Canavessio, V.; Aguirre, N. 1998.** Análisis de leche de tanque de frío (Una herramienta para detectar problemas y proponer soluciones) Publicación Miscelánea N° 89:70-74.
- **Calvinho, L.F.; Canavessio, V.; Aguirre, N. 2001.** Análisis de leche de tanque de frío (Una herramienta para detectar el origen de problemas sanitarios y evaluar la higiene de los procesos de ordeño de los equipos). *Revista Chacra* n° 843, pág. 70.
- **Calvinho L.F. y Tirante L. 2005.** Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años. *Revista FAVE, Sección Ciencias Veterinarias.* Vol. 4, n° 1, 29-40.
- **Calvinho, L.F.; Canavessio, V.R.; Iguzquiza, I.A.; Marioni, I.; Puricelli, F.G.; Neder, V.E.; Tarabla, H.D. y Aubagna, M.D. 2007.** Intramammary infections during the periparturient period in Argentina dairy heifers. *Revista Argentina de Microbiología,* Vol 39, 84-89.
- **Calvinho, L. y Tarabla, H. 2007.** En: Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad. Mastitis bovina. Tercera edición. Buenos Aires: Ediciones INTA, p 90-104,
- **Calvinho, L. 2007.** En: Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad. Manejo de residuos antimicrobianos en el tambo. Tercera edición. Buenos Aires: Ediciones INTA, p 163-168.
- **Champagne, C.P.; Laing, R.R.; Roy, D. and Mafu, A.A. 1994.** Psychrotrophs in dairy products: Their effects and their control. *Crit. Review Food Science and Nutrition.* Vol 34 (1):1-30.

- **Chassagne, M. and Barnouin, J. 2001???** Zero mastitis national program in France. Herd Practice associated with very low milk somatic cell scores. Unité d'Epidémiologie Animale, Centre de Recherches INRA, 63122 Saint Genés Champanelle, France.
- **Chassagne, M.; Barnouin, J.; Le Guenic, M. 2005.** Expert assessment study of milking and hygiene practices characterizing very low somatic cell score herds in France. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol. 88, n° 05, 1909-1916.
- **Chertcoff, R.; Tirante, L.; Chaves, C.J.; La Manna, M. and Olivieri, R. 1996.** Relevamiento de infecciones mamarias en tambos de distintas cuencas lecheras del país. Congreso Nacional de Calidad de Leche y Mastitis. Río Cuarto, Córdoba, p. A-12.
- **CIL (Centro de la Industria Lechera). 2003.** La lechería argentina. Situación coyuntural y perspectivas. Junio de 2003.
- **Código Alimentario Argentino (CAA).** Capítulo VIII – Alimentos Lácteos. Artículos 553 a 642, Resoluciones y Decretos que los complementan. Última actualización: octubre 2009.
- **Corbellini, C. 2002.** La mastitis bovina y su impacto en la calidad de leche. Memorias III Seminario Internacional sobre competitividad de carne y leche. Colanta, Medellín – Colombia. 252-265.
- **Cravzov, A.; Avallone, C. y Dupertuis, P. 2002.** Detección instrumental de antibióticos en alimentos. Departamento de Química - Facultad de Agroindustrias – Chaco, Argentina. Ciencia y Técnica, Index 2002/2007.
- **Cullor, J. S. and Chen, J. 1991.** Evaluating the new OTC milk screening ELISAs: do they measure up. Vet. Med. 86:845.
- **Cummins, K.A. 1992.** Effect of dietary acid Detergent fiber on responses to high environmental temperature, Nutrition, Feeding and Calves. Journal of Dairy Science, 75:1465-1472.

- **De Vliegher, S.; Laevens, H.; Barkema, H.W.; Dohoo, I.R.; Stryhn, H.; Opsomer, G.; de Kruif, A. 2004.** Management practices and heifer characteristics associated with early lactation somatic cell count of Belgian Dairy heifers. *Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association.* Vol. 87 (4):937-947.
- **Dieser, S.; Vissio, C.; Reinoso, E.; Lasagno, M.; Raspanti, C.; Bogni, C.; Larriestra, A. y Odierno, L. 2008.** Prevalencia de patógenos bacterianos en vacas con mastitis en rodeos lecheros de la cuenca de Villa María (Córdoba). *Jornadas Científicas de Asociación de Biología de Tucumán.* Octubre de 2008. Res 269.
- **Fabre, J.M.; Bazin, S.; Faroux, B.; Cail, P. and Berthelot, X. 1996.** Lutte contre les mammites. *Bull.GTV.-2-B.-517-13-16.*
- **Fairbairn, D.J. and Law, B.A. 1986.** Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. *Journal of Dairy Research.* Vol 53:139-177.
- **Faría, J.; García, A.; Izquierdo, P.; Allara, M. y Valero, K. 2002.** Aislamiento de bacterias gram positivas de leche cruda con residuos de antimicrobianos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* Vol 52 (1):68-73.
- **Faría, J.; Kutchynskaya Valero-Leal; D'Pool, G.; García Urdaneta, A. y Cagnasso, M.A. 2005.** Sensibilidad a los agentes antimicrobianos de algunos patógenos mastitogénicos aislados de leche de cuartos de bovinos mestizos doble propósito. *Revista Científica, FCV-LUZ.* Vol. XV. N°3, 227-234.
- **Fenlon, D.R.; Logue, D.N.; Gunn, J. and Wilson, J. 1995.** A study of mastitis bacteria and herd management practices to identify their relationship to high somatic cell counts in bulk tank milk. *The British Veterinary Journal,* 151:17–25.
- **FIL-IDF. 1985.** Payment for milk on the basis of quality. *Bulletin 192.* International Dairy Federation. Brussels, Belgium.
- **Fourichon, C.; Beaudeau, F.; Bareille, N. and Seegers, H. 2000.** Incidence of health disorders in dairy farming systems in western France. *Livestock production science,* 68:157-170

- **Galton, D.M; Petersson, L.G. and Menil, W.G. 1986.** Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats. *Journal of Dairy Science*. Vol 69:260-266.
- **Gentilini, E.; Denamiel, G.; Llorente, P.; Godalay, S.; Rebuelto, M. and De Gregorio, O. 2000.** Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. *Journal of Dairy Science*. Vol 83:1224-1227.
- **Ghida Daza, C. y Sánchez, C. 2009.** Zonas Agroeconómicas Homogéneas: Córdoba, área de influencia de la EEA INTA MANFREDI. Manfredi, Córdoba (AR): INTA EEA Manfredi. Cartilla Digital Manfredi - Número 2. ISSN On Line 1851-7994.
- **Giraudó, J. y Busso, J. 1980.** *Revista de Medicina Veterinaria – Volúmen 61(1):43-47.*
- **Godden, S.; Bey, R.; Farnsworth, R.; Reneau, J. and La Valle, M. 2002.** Field Validation of a Milk Line Sampling Device for Monitoring Milk Quality and Udder Health. *Journal of Dairy Science*. Nº 85:1468-1475.
- **Goodger, W.; Farver, T.; Galland, J.; Jasper, D. and Pelletier, J. 1993.** Effects of a high-density intramammary device on mammary glands, production, and reproductive performance in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 202(12):1966-74.
- **Godkin, M. and Leslie, K. 1993.** Culture of bulk tank milk as a mastitis screening test: A brief review. *Canadian Veterinary Journal*, Vol 34, 601-605.
- **Guterbock, W.; Van Eenennaam, A.; Anderson, R.; Gardner, I.; Cullor, J. and Holmberg, C. 1993.** Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *Journal of Dairy Science* 76:3437- 3444.
- **Hantsis Zacharov, E. and Halpern, M. 2007.** Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental microbiology*, Vol 73, nº 22, 7162-7168,

- **Harmon, R. J. and B. E. Langlois. 1995.** Mastitis due to coagulase-negative Staphylococcus species. In Proc National Mastitis Council. Vol 34, National Mastitis Council, Madison WI, p. 56-64.
- **Hayes, M.C.; Ralyea, R.D.; Murphy, S.C.; Carey, N.R.; Scarlett, J.M. and Boor, K.J. 2001.** Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol. 84:292-298.
- **Hazard, T.S. 1997.** Variación de la composición de la leche. En: Curso taller Calidad de Leche e Interpretación de Resultados de Laboratorio. Serie Carillanca N° 62:33-44.
- **Hennekens, C.H. and Buring, J.E. 1987.** Epidemiology in medicine. Editado por Sherry L. Mayrent, Editorial Little Brown and Company, pp001-383.
- **Hogan, J. and Smith K. 1997.** Occurrence of clinical and subclinical environmental streptococci mastitis. In: Proc. Udder Health Management for Environmental Streptococci Symposium. University of Guelph, Ontario, Canada. p. 36-41.
- **Holm, C.; Jepsen, L.; Larsen, M. and Jespersen, L. 2004.** Predominant microflora of downgraded Danish bulk tank milk. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol. 87:1151-1157.
- **Hutton, C.T; Fox, L.K. and Hancock, D.D. 1990.** Mastitis control practices: Differences between herds with high and low milk somatic cell counts. Journal of Dairy Science. Vol 73:1135–1143.
- **IDF. 1991.** Detection and confirmation of inhibitors in milk and milk products. Bulletin of the International Dairy Federation No. 258, International Dairy Federation, 41 Square Vergote, Brussels.
- **Ingawa, K.H.; Adkinson, R.W. and Gough, R.H. 1992.** Evaluation of a gel teat cleaning and sanitizing compound for premilking hygiene. Journal of Dairy Science. Vol 75:1224-1232.

- **International Standard FIL-100B:1991.** Milk and Milk Products - Count of Coliform Bacteria (Reference Method).
- **Iramain, M.; Pol, M.; Korol, S.; Herrero, M.; Fortunato, S.; Bearzi, C.; Chávez, J. y Maldonado May, V. 2005.** *Pseudomonas aeruginosa* en agua y leche cruda: informe preliminar. In: Vet. 7 (1):133-137. ISSN (papel):1514-6634 ISSN (on line):1668-3498.
- **IDF/FIL (International Dairy Federation). 1994.** Spoilage and Pathogenic Bacteria in Milk Based Product. Bulletin of the International Dairy Federation. N° 292:28-32.
- **IDF/FIL (International Dairy Federation). 2001.** Mastitis Control in Member Countries. Bulletin of the International Dairy Federation. N° 24:11-41.
- **International IDF Standard (Provisional) 145:1990.** Milk and Milk-based Products. Enumeration of *Staphylococcus aureus*. Colony count at 37°C.
- **ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) 1982.** Microorganismos de los Alimentos 1. Técnicas de análisis microbiológico. Ed. Acibia, Zaragoza, España. In: Microorganismos indicadores, pp. 3-14.
- **International Standard FIL-100B:1991.** Milk and Milk Products. Count of Coliform Bacteria (Reference Method).
- **Jayarao, B.M. and Wang, L. 1999,** A study on the prevalence of gram – negative bacteria in bulk tank milk. Journal of Dairy Science. Vol 82:2620-2624.
- **Jayarao, B.M.; Pillai, S.R.; Sawant, A.A.; Wolfgang, D.R.; Hedge, N.V. 2004.** Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol. 87 (10):3561-3573.
- **Jayarao, B.M.; Donaldson, S.C.; Straley, B.A.; Sawant, A.A.; Hegde, N.V. and Brown, J.L. 2006.** A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol. 89 (7):2451-2458.

- **Kehrli, M.; and Shuster D. 1994.** Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science* 77:619-627.
- **Kennelly, J.; Glimm, D.; Ozimek, L. 1999.** Milk composition in the cow. *Proc. Cornell Nutrit Conf. Cornell University, Ithaca, New York.* P. 1.
- **Lam, T.; Lipman, L.; Schukken, Y., Gaastra, W. and Brand, A. 1996.** Epidemiological characteristics of bovine clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* studied by DNA fingerprinting. *American Journal of Veterinary Research.* Vol 57 (1):39-42.
- **Llanos Cortesana, G.A. 2002.** Determinación de residuos de antibióticos de la leche fresca que consume la población de Cajamarca. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria.* Vol 2, nº 2:35-43.
- **Ma, Y.; Ryan, C.; Galton, D.; Rudan, M. and Boor, K. 2000.** Effects of somatic cell count on quality and shelf life of pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science* 83:264-274.
- **McGrane, P.; Rowe, M. and Anger, S. 1996.** Evaluation of Delvotest SP and Charm AIM-96 for the detection of a range of antibiotics in milk. *Milchwissenschaft* 51(6), 330-332.
- **Magariños, H. 2000.** Mastitis. En: *Producción Higiénica de la Leche Cruda. Guía para la pequeña y mediana empresa.* Capítulo 5:39-50.
- **Magfor. 2009:** Semana Agropecuaria. Sistema de información agropecuaria y forestal, Dirección general de políticas agropecuarias y forestales – Nicaragua. Semana del 2 al 8 de marzo. Vol 8/2009.
- **Marca Líquida Agropecuaria. 2009.** El Mercado mundial de lácteos podría empezar su recuperación a partir de 2010. Fuente: SAGPyA. - 26 de Junio, 2009.
- **Martin, S.W.; Meek, A.; Willeberg, P. 1983.** *Veterinary Epidemiology: Principles and methods.* Iowa University Ppress, pp. 343.

- **Miller, R.H.; Bartlett, P.C.; Lance, S.E.; Anderson, J. and Heider, L.E. 1993.** Costs of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds. *Journal of Am. Veterinary Association.* 202:1230-1236.

- **Novoa, C. y Restrepo, L.C. 2007.** Influencia de las bacterias psicrótrofas en la actividad proteolítica de la leche. *Revista de medicina veterinaria y zootecnia.* Vol 54 (1):9-16.

- **Olde Riekerink, R.G.; Barkema, H.W.; Veenstra, S.; Poole, D.E.; Dingwell, R.T. and Keefe, G.P. 2006.** Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Prince Edward Island. *Can Vet. Journal,* Vol 47:567-572.

- **Oliver, S.; Maki, J. and Dowlen, H. 1990.** Antibiotic residues in milk following antimicrobial therapy during lactation. *Journal of Food Protection* 53, 693-696.

- **Oviedo-Boyso, J.; Valdez-Alarcón, J.; Cajero-Juárez, M.; Ochoa-Zarzosa, A.; López-Meza, J.; Bravo-Patiño, A. and Baizabal-Aguirre, V. 2007.** Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection* Vol. 54: 399-409.

- **Owens, W.E.; Ray, C.H.; Watts, J.L. and Yancey, R.J. 1996.** Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. *Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association.* Vol 80:313-317.

- **Páez, R.; Taverna, M.; Charlón, V.; Cuatrin, A. y Etcheverry, F. 2001.** Procedimiento de la evaluación de la higiene de la ordeñadora, el equipo de refrigeración y la cisterna de transporte de leche mediante la técnica de bioluminiscencia. IV Simposio para Latinoamérica de AOAC, Uruguay.

- **Pankey, J.W.; Wildman, E.E.; Dreschler, P.A. and Hogan, J.S. 1987.** Field trial evaluation of pre-milking teat disinfection. *Journal of Dairy Science.* Vol 70:867-872.

- **Peeler, E.; Green, M.; Fitzpatrick, J.; Morgan, K. and Green, L. 2000.** Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. *Journal of Dairy Science* 83:2464-2472.

- **Peters, R. 2002.** Evaluating herd milk quality using DHI somatic cell counts. In: Proc. Arizona Dairy Production Conference, Tucson, Az. Pp. 57-73.
- **Philpot, W. N. and Nickerson, S.C. 1991.** Mastitis: Counter attack. A strategy to combat mastitis. Babson Bros. Co., Naperville, Illinois, USA.
- **Pitkälä, A. Haveri, M.; Pyörälä, S.; Myllys, V. and Honkanen-Buzalski, T. 2004.** Bovine mastitis in Finland 2001 – Prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol 87 (8):2433-2441.
- **Politis, I. and K. F. Ng-Kwai-Hang. 1988.** Effects of somatic cell counts and milk composition on cheese composition and coagulating properties. Journal of Dairy Science. Vol 71:1711-1719.
- **Real Decreto - BOE N° 15 – 17/01/2008.** Ministerio de la Presidencia.
- **Reinemann, D.; Walters, G.; Billon, P.; Lind, O. and Rasmussen, M. 2003.** Review of practices for cleaning and sanitation of milking machines. Bulletin of the International Dairy Federation. N° 381:04-11.
- **Revelli, G.R.; Sbodio, O.A. y Tercero, E.J. 2004.** Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. Revista Argentina de Microbiología, Vol 36, n° 3.
- **Román, S.; Guerrero, L. y Ferrer, S. 2000.** Influencia de la calidad sanitaria de la leche y la estacionalidad sobre el rendimiento del queso Gouda. Revista Científica, FCV-LUZ. Vol X, n° 5:399-404.
- **Rodrigues A. and Ruegg, P. 2005.** Actions and outcomes of Wisconsin dairy farms completing milk quality teams. Journal of Dairy Science. N° 88(7):2672-80.
- **Ruegg, P. L. 2004.** Managing milk quality. Conferencia internacional sobre ganado lechero. CIGAL,, Guadalajara, México, Julio 14-16. p.31-40.

- **Rysanek, D.; Babak, V. and Zouharova, M. 2007.** Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. Czech Republic. Veterinarni Medicina, Vol 52 (6):223-230.
- **Rysanek, D.; Zouharova, M.; Babak, V. and 2009.** Monitoring major mastitis pathogens at the population level based on examination of bulk tank milk samples. Journal of Dairy Research. Vol 76:117-123.
- **Sánchez Gracia, A.; Hernández García, M.; Franco Luna, J.; Villanueva Rojas, M.J. y Cardador Muñoz, E. 2001.** Riesgos de residuos en leche debido a tratamientos indebidos. Comunicación XVIII Reunión G-Temical, Sociedad Cooperativa Andaluza Ganadera del Valle de los Pedroches. Septiembre 2001.
- **Sandholm, M. 1995.** En: The bovine udder and mastitis. M. Sandholm, T. Honkanen-Buzalski, L. Kaartinen and S. Pyoralää. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine. P 89-104.
- **San Martín, B.; Kruze, J.; Morales, M.; Agüero, H.; León, B.; Espinoza, S.; Iragüen, D.; Puga, J. and Borie, C. 2002.** Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y X^a Región, Chile. Archivos de Medicina Veterinaria XXXIV, N° 2:221-234.
- **Sawant, A.A.; Pillai, S.R. and Jayarao, B.M. 2002.** Evaluation of five selective media for isolation of catalase negative grampositive cocci from bulk tank milk. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol 85 (5):1127-1132.
- **Schaller, A.; Guardini, E. y Labriola, S. 2003.** Productos lácteos. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. República Argentina, Dirección de Industria Alimentaria (www.alimentosargentinos.gov.ar).
- **Schaller, A. 2006.** Productos lácteos. Análisis de la Cadena Alimentaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. República Argentina, Dirección de Industria Alimentaria (www.alimentosargentinos.gov.ar).
- **Sears, P.M. and McCarthy, K.K. 2003.** Management and treatment of staphylococcal mastitis. In: Update on Bovine Mastitis, Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract. Vol. 19:171-185.

- **Seymour, E.; Jones, G. and Mc Gilliard, M. 1988.** Comparisons of on-farm screening tests for detection of antibiotic residues. *Journal of Dairy Science* 71, 2292-2296.
- **Signorini, M.L.; Sequira, G.J.; Bonazza, J.C.; Dalla Santina, R.; Otero, J.L. y Rosmini, M.R. 2003.** Variación estacional en los principales indicadores de higiene en la leche cruda de un tambo de la cuenca lechera central. *Revista FAVE – Ciencias Veterinarias* 2 (2):97-110.
- **Smith, K. and Hogan, J. 1993.** Environmental mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Animal Practice* 9:489-498.
- **Smith, K. and Hogan, J. 1998.** Epidemiology of mastitis and physiopathology. In: *Proc. Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality*. Pp. 100-113.
- **Taverna, M. 2007.** En: *Manual de referencia técnica para el logro de leche de calidad. La calidad como factor de competitividad de la cadena láctea. Tercera edición.* Buenos Aires: Ediciones INTA, p. 09-18.
- **Taverna, M. y Calvhino, L. 2007.** En: *Manual de referencia técnica para el logro de leche de calidad. Contaminación bacteriológica de la leche: causas y control. Tercera edición.* Buenos Aires: Ediciones INTA, p. 27-40.
- **Tessi, M.A. 1981.** Diagnóstico microbiológico de mastitis bovina. *La Alimentación Latinoamericana*, Vol 15 (127):79-80.
- **Tenhagen, B. A., Koster, G.; Wallmann, J. and Heuwieser, W. 2006.** Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of Dairy Science*. Vol 89:2542-2551.
- **Tyler, J. W., J. S. Cullor, R. J. Emkine, W. L. Smith, J. Dellinger, and K. McClm. 1992.** Milk antimicrobial drug residue assay results in cattle with experimental endotoxin-induced mastitis. *J. Am. Vet. Mad. Assoc.* 201:1378.
- **Van EEnennaam, A.L.; Cullor, J.S; Peran, V L.; Gardner, S.A.; Smith, W.L.; Dellinoer, J.; Outerbocks, W. M. and Jensen, L. 1993.** Evaluation of Milk Antibiotic

residue Screening Tests in Cattle with Naturally Occurring Clinical Mastitis. Our Industry Today. Journal of Dairy Science. Vol 76:3041-3053.

- **Van Kessel J., Karns J., Gorski L., McCluskey B. and Perdue M. 2004.** Prevalence of Salmonellae, Listeria monocytogenes, and fecal coliforms in bulk of tank milk on US dairies Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol 87 (9):2822-30.
- **Vissio, C.; Dieser, S.; Giraudo, J.; Calvino, M.L.; Bogni, C.; Raspanti, C.; Odierno, L. and Larriestra, A. 2008 A.** Dairy herd profiles related with mastitis control and milk quality among producers from Villa María, Córdoba, Argentina. Aceptado en el XII International Symposium of Veterinary Epidemiology and Economics, Sudáfrica.
- **Vissio, C.; Dieser, S.; Díaz, C., Gambero, L., Larriestra, A., Odierno, L., Bettera, S. y Frigerio, C. 2008 B.** Estudio de la calidad microbiológica en tambos de la Cuenca Lechera de Villa María (Córdoba). Revista Argentina de Producción Animal. 28:1, 237.
- **Vissio, C.; Dieser, S.; Díaz, C., Gambero, L., Larriestra, A., Odierno, L., Bettera, S. y Frigerio, C. 2008 C.** Calidad Microbiológica del agua en tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba). Congreso Argentino de Producción Animal, 15 al 17 de octubre. Potrero de los Funes, San Luis.
- **Vissio, C.; Dieser, S.; Bonetto, C.; Odierno, L. y Larriestra, A. 2009.** Prevalence of quarters with subclinical mastitis estimated by composite samples in dairy cattle herds from Villa María, Córdoba, Argentina. Aceptado en el XII International Symposium of Veterinary Epidemiology and Economics, Sudáfrica.
- **West, J.W. 2003.** Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol 86 (6):2131-2144.
- **West, J.W.; Mullinix, B.G. and Bernard, J.K. 2003.** Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake and milk yield of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, American Dairy Science Association. Vol 86 (1):232-242.
- **Zadoks, R. 2003.** Streptococcus uberis - Environmental or contagious pathogen? In: Proc. 42nd Annual Meeting of the National Mastitis Council, Fort Worth, TX. Natl. Mastitis. Council. Madison, WI. Pp. 61-67.



ANEXOS

Anexo 1:



Universidad Nacional de Río Cuarto - Facultad de Agronomía y Veterinaria

Ruta Nac. 36 - Km. 601
5800 - Río Cuarto (Córdoba) ARGENTINA

Tel, 54-358-4676508

Encuesta acerca de rutina de ordeño y salud mamaria

Fecha de la encuesta:

Tambo (RENSPA):

.....

Nombre del productor o empresa:

.....

1- Status de mastitis en el tambo

- Ud considera que la situación general de la mastitis en su rodeo es:
 - Alarmante
 - Superior a la de sus vecinos
 - Dentro del promedio de sus vecinos
 - No constituye un problema importante

- Quien interviene en el control de la mastitis:
 - Un Medico Veterinario especializado en control de mastitis
 - Solamente personal del establecimiento
 - El Medico Veterinario del establecimiento
 - Los dos últimos

a) Mastitis clínicas

- Eliminó vacas por mastitis clínica en estos últimos 6 meses:
 - Si
 - No

- Lleva registros de las vacas (y cuartos) que presentan mastitis clínica:
 - Si - Como los registra?
 - No

- Realiza la prueba del chorro para detectar mastitis clínica:
 - Frecuentemente
 - Esporádicamente
 - Nunca

- El tratamiento de mastitis clínica lo realiza:
 - Solo con pomos - Durante cuantos ordeñe trata el cuarto con pomos:
 - Solo con antibiótico inyectable - Cuantas aplicaciones:
 - Con pomos y antibiótico inyectable

- Que tipo de pomos utiliza:

- Que antibiótico utiliza:

- Por cuantos ordeños retira la leche del cuarto o vaca tratada: días

- Ud. Ordeña la vacas con mastitis conjuntamente con las vacas sanas:
 - SI
 - NO

- Ud selecciona los productos para el tratamiento de la mastitis:
 - Por sugerencia del veterinario
 - Por sugerencia de un conocido
 - Por experiencia propia

- ¿Cuándo tiene casos de mastitis clínica, remite muestras para su estudio?:
 - SI
 - NO

¿Realizó antibiograma?:

b) Mastitis subclínicas

- Realiza diagnostico de rutina de mastitis subclínica a nivel de vaca
 - Si
 - No
 - Muy esporádicamente cuando existen problemas

- Como realiza el secado de sus vacas
 - Secado brusco cuando llegue a la fecha (con manejo nutricional posterior)
 - Secado manejando la alimentación y salteo de ordeñes
 - Secado paulatino salteando ordeñes

- Trata con antibiótico a todos los cuartos al secado:
 - A todas
 - A ninguno
 - Selectivamente a algunas vacas con antecedentes de mastitis clínica o subclínica

- Utiliza productos:
 - Vía intramamaria - ¿Cuál?.....
 - Vía sistémica - ¿Cuál?.....

- Que criterio utiliza para seleccionar los pomos para el tratamiento al secado:
 - Recomendación del comercio donde compra productos
 - Selección personal por el costo
 - Recomendación de su Veterinario o el especialista que lo asesora
 - Otra (especificar)

2- Máquina de ordeñar e instalaciones

- Fecha del último control realizado a la máquina de ordeñar:
.....

- ¿Cuándo cambia las pezoneras?:
.....

3- Rutina de Ordeño

- Desinfecta los pezones post ordeño:

- Siempre
- A veces
- Nunca

4- Personal de Ordeño

- Cuantas personas trabajan en el ordeño:

.....

- Que edad aproximada poseen los ordeñadores:

.....

- Usan:

- Guantes.....
- Delantal.....
- Botas.....
- Cofias.....
- Barbijos.....

- Nivel de instrucción del personal:

- Primario incompleto
- Primario completo
- Secundario incompleto
- Secundario completo

- Poseen capacitación técnica:

- SI
- NO

U.N.R.C.
Biblioteca Central



68889

68889