

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA LECHE MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO, PROVENIENTE DE BOVINOS DE LA PARROQUIA MACHACHI, PROVINCIA DE PICHINCHA.

Mera, Alison

Resumen

Los índices de calidad de la leche han sido de fundamental importancia, porque tiene relación directa con la salud de los seres humanos y el estado económico de los países, por lo que es necesario el control de los alimentos a través de la verificación y regulación de los parámetros de calidad. En el presente estudio se analizó la calidad de la leche con muestras de haciendas ubicadas en la parroquia Machachi, pertenecientes a 409 bovinos y 12 tanques de enfriamiento. Se determinó el conteo de células somáticas con el Fossomatic FC; grasa, proteína, sólidos totales y sólidos no grasos con el Milkoscan FT+, bacterias con el Bactoscan FC, la prevalencia de *Brucella spp.*, mediante MRT y la confirmación en medio específico Farrell y tipificación de bacterias Gram negativas. De todas las muestras estudiadas el 87.04% SCC, 15.16% grasa, 90.22% proteína, 21.76% ST, 77.75% SNF y 98.77% bacterias se encontraron dentro de la Norma Ecuatoriana INEN en cada uno de los parámetros indicados, mientras que en las muestras de los tanques de enfriamiento se encontró que el 83.34% SCC, 83.33% grasa, 91.67% proteína, ST, SNF y 100% bacterias. La PA de *Brucella spp.*, fue del 16.62% (67/403), pero debido a las reacciones cruzadas sólo se pudo aislar *E. coli* y *P. vulgaris*. Al analizar los factores de riesgo las variables que presentaron asociaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$) para a) SCC: edad de los bovinos, partos, suplemento y tamaño de la hacienda; b) grasa: producción, suplemento y tamaño de la hacienda; c) proteína: la etapa de lactancia; d) ST: la presencia de abortos, producción, suplemento y tamaño de la hacienda; e) SNF: la edad y partos, y finalmente f) bacterias: el suplemento y tamaño de la hacienda.

Palabras clave: conteo de células somáticas, citometría de flujo, *Brucella spp.*, MRT.

Abstract

Rates of milk quality have been of fundamental importance because it has direct relation on the health of humans and the economic conditions of the countries, for this is necessary the food control with the verification and regulation of the quality parameters of the different aliments. In the present study we analyzed the quality of the milk samples estates in the parish Machachi, belonging to 409 cattle and 12 bulk tank milk. We determined with Fossomatic FC equipment: the somatic cell count; with Milkoscan FT+ machine: fat, protein, total solids and solids not fat; with Bactoscan FC: bacteria's concentration; and the prevalence of *Brucella* spp. by MRT with the confirmation in Farrell specific medium and biochemical typing of Gram-negative bacteria. Of all the samples studied the 87.04% SCC, 15.16% fat, 90.22% protein, 21.76% ST, 77.75% SNF and 98.77% bacteria were found in the parameters of the Standard INEN in each parameters indicated, while the samples bulk tank milk found that 83.34% SCC, 83.33% fat, 91.67% protein, ST, SNF and 100% bacteria were into the reporting. The PA of *Brucella* spp. was 16.62% (67/403), but due to cross-reactions only *E. coli* and *P. vulgaris* were could be isolated. The risk factors analysis demonstrate variables' associations with statistically significant ($p < 0.05$) for a) SCC: age of cattle, calving, supplement and farm size; b) fat: production, supplement and farm size; c) protein: the stage of lactation, d) ST: the presence of abortions, production, supplement and farm size; e) SNF: age and parity, and finally f) bacteria: the supplement and farm size.

Keywords: somatic cell count, flow citometry, *Brucella* spp., MRT.

Introducción

A nivel mundial se consumen alrededor de 500 millones de toneladas de leche (FAO-SMIA, 2012), principalmente de ganado bovino (85%) (SEM, 2012); mientras que el Ecuador ocupa el 48% de la superficie nacional en unidades de producción agropecuaria (III Censo Nacional Agropecuario, 2000), ya que la leche

representa el tercer producto de mayor demanda, con 6 375 321 L/año, de los cuales la Sierra es la región que más aporta con el 75.9%, dentro de la misma la provincia Pichincha (970 516L/año) y en esta última el cantón Mejía con 220 666 L/año (INEC, 2011), en el cual existen razas de bovinos como *Criollo* 43.48%, *Mestizo sin registro* 31.23%, *Mestizo con registro* 14.31%, *Holstein Freissan*

7.83%, *Brown Swiss* 1.73%, *Normando* 0.84% y *Jersey* 0.57% (III Censo Nacional Agropecuario, 2000).

Al hablar de calidad de la leche se habla de la aplicación de buenas prácticas, para el cumplimiento de las normas aceptadas (Jánosi & Baltay, 2004), en el Ecuador la Norma INEN, lo cual se logra a través de un sistema de control de calidad en la industria lechera para la producción eficiente en condiciones higiénicas (O'Grady & Doherty, 2011). Al ser la leche un producto altamente nutritivo que contiene agua, grasa, proteína, lactosa, minerales, vitaminas y células somáticas (Karimuribo *et al.*, 2005), cuya concentración puede variar de acuerdo a la especie, alimentación, ciclo de lactancia, número de lactaciones, entre otros factores (FAO, 2012), está relacionada con la salud humana, especialmente cuando se encuentra asociada a patógenos zoonóticos (Karimuribo *et al.*, 2005).

Existen parámetros que permiten establecer la calidad de la leche, entre los cuales tenemos el conteo de células somáticas, las cuales incluyen leucocitos polimorfonucleares (PMN: 1-11%), linfocitos (10-27%) y macrófagos (54-83%), estos últimos en mayor

concentración en ubres sanas, mientras que cuando existe alguna infección intramamaria se produce un rápido flujo de PMN de la sangre a la leche, aumentando su concentración hasta un 90% (Lindmark-Mansson *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2006); parámetros físico-químicos como sólidos totales, sólidos no grasos, grasa y proteínas y finalmente la concentración bacteriana, la cual puede variar por la contaminación a través de la superficie externa de la ubre y pezón, el equipo de ordeño o por la presencia de bacterias causantes de mastitis (Pantoja *et al.*, 2009).

El análisis del conteo de células somáticas y el contenido bacteriano, se puede realizar a través de metodologías empleando la citometría de flujo, que se basa en los valores de dispersión de la luz de DNA teñido, y según estudios previos se ha encontrado una sensibilidad del 100% y una especificidad del 83% (Jánosi & Baltay, 2004), utilizada en los equipos Fossomatic FC y Bactoscan FC; mientras que el análisis de los parámetros físico-químicos se lo realiza entre otras metodologías, mediante el análisis de infrarrojos por la transformada de Fourier (FTIR), que se basa en espectrofotometría.

Una de las enfermedades asociadas a la leche, que puede transmitirse a los seres humanos es la brucelosis, una enfermedad crónica causada por especies del género *Brucella* spp., las cuales tienen capacidades zoonóticas, *B. abortus* es causante de la enfermedad en bovinos y es patógena para seres humanos. Se ha encontrado prevalencias en América del sur del 0.1-20.3% (Lucero *et al.*, 2008), aunque Argentina ha presentado un 25% en ganado bovino (Samartino, 2002), mientras que en Ecuador se ha encontrado del 4-10.62% (MAG-SESA, 2009). Es una afección que causa grandes pérdidas económicas y sociales, pues produce problemas reproductivos, abortos, y disminución en la producción. La transmisión de animales enfermos a sanos y al ser humano es a través del contacto directo con los líquidos del parto, pues tiene gran cantidad de bacterias, además del consumo de productos lácteos no pasteurizados (Sutra *et al.*, 1986). Una de las metodologías para determinar la presencia de brucelosis en leche es la prueba de Milk Ring Test (MRT), la cual es un ensayo indirecto basado en la determinación de la presencia de inmunoglobulinas A y M, pero que puede presentar reacciones cruzadas, se ha

encontrado por otros estudios una sensibilidad y especificidad de 46.11% y 94.92%, respectivamente (Ibarra, 2008).

El objetivo del estudio es evaluar la calidad de la leche mediante citometría de flujo, proveniente de bovinos de la parroquia Machachi, provincia de Pichincha.

Materiales y Métodos

El diseño del estudio incluye una estadística descriptiva de las variables, relación entre ellas y un análisis de correspondencia múltiple, además de un estudio de corte transversal o prevalencia. Las muestras de leche se analiza mediante citometría de flujo, FTIR y MRT para comparar con la Norma INEN, determinar la prevalencia aparente de brucelosis y mediante encuestas epidemiológicas analizar los factores determinantes para la calidad de la leche.

La zona de estudio es la parroquia Machachi, la cual cuenta con 518 predios, de los cuales una muestra representativa son 34 haciendas, de las cuales mediante factores ponderados de estudios previos se establece 7 haciendas grandes, 4 medianas y 23 pequeñas, obteniéndose 409 muestras de leche de bovinos y 12 tanques de

enfriamiento, tomados durante el ordeño normal de la tarde de animales con un promedio de producción de 24 L/día, a nivel de ubres.

El trabajo de laboratorio se realizó en dos etapas, la primera en el Laboratorio de Control de Calidad de Leche de Agrocalidad, en donde se realizó el análisis del conteo de células somáticas y parámetros físico- químicos en el Combifoss y bacterias en el Bactoscan FC; y la segunda etapa en el Laboratorio de Microbiología del Centro Internacional de Zoonosis, en donde se realizó las pruebas de MRT, se confirmó con cultivo en medio

específico Farrell y finalmente una tipificación de bacterias Gram negativas.

El análisis estadístico incluye una categorización tanto de las variables tomadas en las encuestas epidemiológicas como de los resultados obtenidos en laboratorio, un análisis descriptivo, asociación entre variables, análisis de correspondencia y finalmente análisis de factores determinantes.

Resultados y Discusión

La comparación con la Norma INEN y bajo los parámetros que esta establece como se observa en la tabla 1, se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 1.- Descripción y categorización de los resultados de laboratorio, Machachi-Ecuador 2013.

Variable	Categorización	Resultado
Células Somáticas	Norma ($\leq 300\ 000$ cel./mL) ^a	79.22% (324/409)
	Aceptable ($300\ 000 < x \leq 700\ 000$) cel./mL	7.82% (32/409)
	Fuera de Norma ($> 700\ 000$ cel./mL)	12.96% (53/409)
Grasa	Norma ($\geq 3\%$)	15.16% (62/409)
	Fuera de Norma ($< 3\%$)	84.84% (347/409)
Proteína	Norma ($\geq 2.9\%$)	9.78% (40/409)
	Fuera de Norma ($< 2.9\%$)	90.22% (369/409)
Sólidos Totales	Norma ($\geq 11.2\%$)	21.76% (89/409)
	Fuera de Norma ($< 11.2\%$)	78.24% (320/409)
Sólidos no grasos	Norma ($\geq 8.2\%$)	77.75% (318/409)
	Fuera de Norma ($< 8.2\%$)	22.25% (91/409)

Bacterias ^b	Norma ($\leq 100\ 000$ UFC/mL) ^a	95.84% (392/409)
	Aceptable ($100\ 000 < x \leq 1.5 \times 10^6$) UFC/mL	2.93% (12/409)
	Fuera de Norma ($> 1.5 \times 10^6$ UFC/mL)	1.22% (5/409)

Todos los datos se tomaron de la Norma INEN Ecuador; ^a: Dato tomado de la normativa Argentina; ^b: los datos de laboratorio de obtuvieron en IBC/mL, por lo que se los transformó con el factor=0.14 (Bohorquez, 2013).

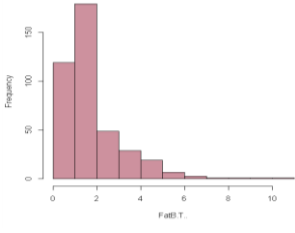
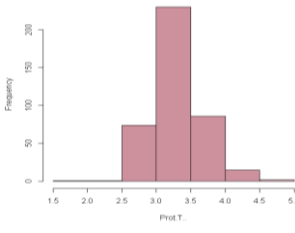
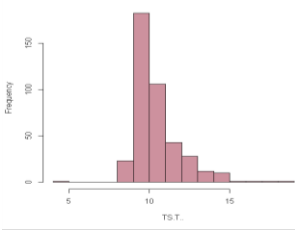
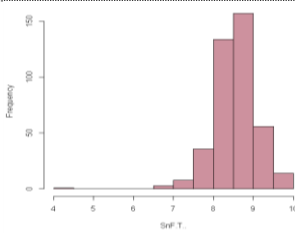
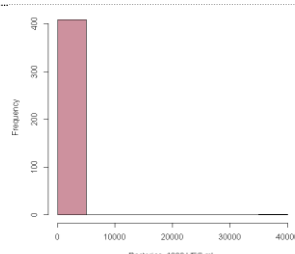
Células somáticas: Fuera de la normativa se encuentra el 12.96%, es decir sobre el máximo de 700 000 cel/mL, lo cual se debe a que los animales presentaban algún tipo de afección en las ubres, debido a que estudios han establecido que bajo 400 000 cel/mL (Jánosi & Baltay, 2004) o incluso bajo 100 000 cel/mL (Pavel & Gavan, 2011) se refieren a ubres de animales sanos, mientras que sobre las 500 000 cel/mL (Fell *et al.*, 2003) se refiere a animales con mastitis bovina, ya que las infecciones bacterianas hacen que estos

valores alcancen el 1 000 000 cel/mL (Bytyqi *et al.*, 2010).

En cuanto a los resultados del análisis descriptivo, como se observa en la tabla 2, se obtuvo una media de 494 300 cel/mL, similar a otros estudios con 499 200 cél/mL en Eslovenia (Rajčević *et al.*, 2003) y un máximo de 14 330 000 cel/mL, mucho mayor al encontrado por otros autores, en un análisis de bovinos con problemas de salud e higiene, SCC = 5 385 000 cel/mL (Savadogo *et al.*, 2004).

Tabla 2.- Análisis descriptivo de los resultados de las muestras tomadas en Machachi-Ecuador 2013.

Variable	Análisis	Histograma	Observaciones
Células Somáticas	$\bar{x} = 494\ 300$ cel/mL		La mayoría de los datos tienden a valores bajos de SCC; y los pocos que presentan valores altos crean una sobre dispersión.
	mín.= 4 000 cel/mL		
	máx.= 14 330 000 cel/mL		
	S = 1 499.791		
	cv = 303.4%		

Grasa	$\bar{x} = 1.781\%$ mín.= 0.260% máx.=10.330% $S = 1.366$ $cv = 76.7\%$		Disimetría en la distribución de los datos.
Proteína	$\bar{x} = 3.307\%$ mín.= 1.515% máx.=4.920% $S = 0.375$ $cv = 11.35\%$		Baja variabilidad entre los datos.
Sólidos Totales	$\bar{x} = 10.410\%$ mín.= 4.605% máx.=18.340% $S = 1.456$ $cv = 13.98\%$		Simetría en la distribución de los datos.
Sólidos no grasos	$\bar{x} = 8.552\%$ mín.= 4.030% máx.=9.965% $S = 0.556$ $cv = 6.49\%$		Baja variabilidad entre los datos.
Bacterias	$\bar{x} = 135\ 400\ \text{UFC/mL}$ mín.= 140 UFC/mL máx.=35\ 720\ 000 UFC/mL $S = 1\ 785.435$ $cv = 1\ 318.8\%$		Entre los datos existe una disimetría en su distribución, notándose que muchos resultados se concentran en valores bajos.

\bar{x} : media; mín: mínimo; máx: máximo; S: desviación estándar; cv: coeficiente de variabilidad.

En el análisis de los factores determinantes en el SCC en la leche, como se observa en la tabla 3, la edad, número de partos, el suplemento alimenticio y el tamaño de la

hacienda, son estadísticamente representativos, y mediante el valor del *odds ratio* se observa la probabilidad de estas variables, de presentar mayor

número de veces las células somáticas fuera de la norma; esto se debe a que a edad adulta y a mayor número de partos los animales tienen mayor presencia de infecciones, por los cambios fisiológicos

que el animal presenta (Reichmuth, 1975), además de la falta de conocimiento en prácticas de higiene y calidad de los ordeñadores en las haciendas (Dang & Anand, 2007).

Tabla 3.- Resultados del análisis de los factores de riesgo de las haciendas de Machachi-Ecuador 2013.

Variables	Chi-Cuadrado		Fisher		
		valor <i>P</i>	valor <i>P</i>	Odds ratio	IC 95%
Edad / Células Somáticas					
Adultas / Jóvenes	10.16	0.001434	0.0003726	12.69	2.09-518.34
Partos / Células Somáticas					
Muchos/Pocos	14.92	0.0001125	0.01671	19.09	1.25-290.73
Medios/Pocos	19.74	8.86E-06	8.00E-06	4.81	2.22-11.59
Suplemento/Células Somáticas					
Natural/Balanceado	8.89	0.002875	0.009297	3.06	1.28-6.91
Tamaño Hacienda/Células Somáticas					
Mediana/Grande	4.14	0.04187	0.07064	2.28	0.89-5.40
Pequeña/Grande	8.19	0.004209	0.01407	3.08	1.22-7.24
Producción/Grasa					
Alta/Baja	46.81	7.81E-12	3.21E-13	32.67	8.13-288.17
Mediana/Baja	20.82	5.05E-06	7.90E-06	4.01	2.08-8.03
Suplemento/Grasa					
Balanceado/Natural	98.01	< 2.2e-16	2.83E-16	21.21	9.45-5099.44
Tamaño de Hacienda/Grasa					
Grande/Pequeña	216.97	< 2.2e-16	< 2.2e-16	181.97	54.93-798.93
Mediana/Pequeña	27.07	1.97E-07	1.22E-07	16.86	4.74-78.40
Etapas Lactancia/Proteína					
Estable/Lenta	7.16	0.007455	0.009435	3.50	1.26-11.26
Temprana/Lenta	0.14	0.7045	0.7861	1.23	0.36-4.49
Acelerada/Lenta	0	0.9978	1	1	0.28-3.74
Presencia Abortos/Sól. Totales					
NO/SI	5.16	0.02308	0.03516	2.11	1.02-4.26
Producción/Sól. Totales					
Alta/Baja	40.63	1.84E-10	1.08E-10	8.59	4.02-20.13
Mediana/Baja	20.38	6.36E-06	8.64E-06	3.43	1.92-6.23
Suplemento/Sól. Totales					
Balanceado/Natural	77.05	< 2.2e-16	7.56E-15	17.38	7.57-43.86
Tamaño Hacienda/Sól. Totales					

Grande/Pequeña	143.36	< 2.2e-16	< 2.2e-16	92.59	27.11-492.69
Mediana/Pequeña	22.52	2.08E-06	1.51E-06	15.60	3.99-91.55
Edad/Sól. No grasos					
Adulta/Joven	4.55	0.03289	0.04035	2.20	1.03-5.27
Partos/Sól. No grasos					
Medios/Pocos	16.59	4.64E-05	4.29E-05	2.82	1.65-4.92
Muchos/Pocos	0.47	0.495	0.4422	2.18	0.04-28.33
Producción/Bacterias					
Baja/Alta	4.19	0.04064	0.0573	∞	0.69-∞
Mediana/Alta	0.87	0.3508	1	∞	0.02-∞
Suplemento/Bacterias					
Natural/Balanceado	0.64	0.4228	0.3957	2.40	0.05-25.06
Tamaño Hacienda/Bacterias					
Mediana/Grande	2.89	0.08885	0.2186	7.71	0.09-609.64
Pequeña/Grande	18.15	2.04E-05	0.003863	27.47	2.14-1460.77

∞, Infinito.

Materia grasa: en el estudio se encontró fuera de la norma el 84.84% y en el resultado del análisis descriptivo una media de 1.781% que se encuentra bajo la norma y es menor a valores encontrados en otros estudios con menor variabilidad en sus resultados (Rajčević *et al.*, 2003), y un rango más amplio que los establecidos por otros autores bajo diferentes sistemas de ordeño (Dang & Anand, 2007), ver tabla 1 y 2, respectivamente.

Los factores determinantes estadísticamente representativos en la grasa son la producción media de leche, de 19-27 L/día, alimentación basada en balanceado y haciendas grandes, representado por el valor del *odds ratio* la probabilidad por ejemplo de la hacienda grande 181 veces más que la pequeña de

tener el porcentaje de grasa fuera de la norma, de manera similar con los otros factores mencionados, debido a que la composición y el manejo nutricional son fundamentales en el contenido graso y proteico en la leche (Alvarez *et al.*, 2009), pues incluye dos factores, la fibra y el porcentaje de proteína suministrada, que establecen la cantidad de estos parámetros (Barbosa *et al.*, 2013) (Tabla 3).

Proteína: presentó una media de 3.31%, la cual está sobre el rango establecido en el país, con un mínimo de 1.52% y un máximo de 4.92%, similar a los datos obtenidos bajo algunos sistemas de ordeño, que van de 3.02-3.99% (Dang y Anand, 2007) y la influencia de diferentes condiciones climáticas, 3.41%, CV=12.02% (Rajčević *et al.*, 2003),

similar a este estudio (CV=11.35%) (Tabla 2).

El porcentaje de proteína que sale fuera de norma, es decir que posee bajas cantidades, es el 90.22% (Tabla 1), se presenta cuando los bovinos se encuentran en la etapa estable (47.50%) por lo que constituye un factor de riesgo en la calidad de la leche (tabla 3); así la [fase estable de alta producción] y [temprana] / [fase de descenso lento] un $OD=3.5$ y 1.2 , respectivamente, ya que la composición de la leche de bovinos varía durante la lactancia y se caracteriza por un incremento proporcional de sus componentes, mientras que la producción disminuye (Álvarez *et al.*, 2009). Además, posiblemente debido a la asociación con las células somáticas, que en etapas tempranas y tardías de lactancia, como respuesta de la inmunidad innata del animal, se incrementan como mecanismo de defensa de la glándula mamaria al tiempo de parto (Sharma *et al.*, 2011).

Sólidos totales: se encontró fuera de la norma el 78.24% (Tabla 1) y en el análisis descriptivo una media de 10.41% (Tabla 2) más bajo que la normativa y otros resultados presentados previamente con animales que presentaban infecciones

intramamarias (Barbosa *et al.*, 2013), además se encontró un máximo elevado debido al corto tiempo entre el último parto y el tiempo de muestreo, siendo una muestra de calostro que es rico en proteínas, grasa, inmunoglobulinas, que son transmitidos a la cría (Alvarez *et al.*, 2009).

Dentro del parámetro sólidos totales se encuentran las grasas, proteínas, carbohidratos y minerales, y según este estudio los factores determinantes (tabla 3) son la ausencia de abortos, una producción entre los 19-27 L/día, el consumo de balanceado y haciendas grandes, como se observa en la tabla 3, [ausencia de abortos] / [presencia] $OD=2.11$; [producción de leche alta] y [mediana] / [baja] $OD=8.6$ y 3.4 , respectivamente; debido a que los períodos de preñez en los bovinos se encuentran regulados por los niveles de hormonas producidas por los estímulos recibidos y llevados al sistema nervioso, siendo las principales la progesterona y la prolactina (Hill y Wyse, 2006; Alvarez *et al.*, 2009), la primera reduce la síntesis de leche mediante la inhibición de la prolactina, pero disminuye parcialmente antes del parto y en mayor cantidad después del mismo, con la salida de la placenta; mientras que la concentración de

prolactina aumenta aproximadamente 24 horas antes del parto y se afecta por el período de lactancia, siendo más elevada alrededor de la octava semana, momento en que la producción es máxima. Estos procesos hormonales y principalmente la prolactina produce cambios en la cantidad de sólidos totales, pues disminuye los niveles de Sodio y Cloro, aumenta la síntesis de proteína, lactosa y la secreción de grasas, además existen cambios en el transporte de inmunoglobulinas y otras proteínas no sintetizadas en la glándula (Tamime, 2009); [balanceado] / [natural] $OD=17.4$; y [haciendas grandes] y [medianas] / [pequeñas] $OD=92.6$ y 15.5 , respectivamente, ya que una buena alimentación en las primeras etapas de lactancia permite que exista niveles adecuados de grasa y proteínas, porque los alimentos proveen al animal la energía para los procesos internos (Tamime, 2009).

Sólidos no grasos: presentan un promedio de 8.55% en un rango de 4.03-9.97%, que están dentro de la normativa del país (tabla 2); dato menor a los resultados influenciados por el efecto de las infecciones intramamarias en la composición de la leche, de 9.13% (Barbosa *et al.*, 2013).

Los sólidos no grasos (22.25%, tabla 1) tienden a salirse de la norma a edad adulta con la presencia de 3 a 6 partos, siendo éstos los factores influyentes en la calidad de la leche con un $OD=2.2$ en la [edad adulta] / [joven]; y $OD=2.8$ y 2.1 para [medios] y [muchos] / [pocos partos], respectivamente (tabla 3).

Bacterias: fuera de la norma se encontraron 5 muestras de las 409 (Tabla 1), con un promedio de 135 400 UFC/mL y un máximo de 35 720 000 UFC/mL (Tabla 2).

Los factores determinantes son la alimentación natural y haciendas pequeñas, debido a que los alimentos constituyen una vehículo de transmisión de agentes patógenos (Tamime *et al.*, 2009), dentro de los cuales pueden encontrarse bacterias psicotrofas que producen lipasas y proteasas termoestables que producen cambios en la composición de la leche (Barbano *et al.*, 2006), y determinando por el valor del *odds ratio* la probabilidad de presentar el contenido bacteriano fuera de la norma en presencia de algunas variables, como se observa en la tabla 3.

Tanques de enfriamiento: el estudio presentó que el 16.67 % está fuera de

norma tanto en SCC como en grasa, en proteínas, sólidos totales y sólidos no grasos fuera de la normativa está el 8.33%, mientras que no se encontró ninguna muestra fuera de la norma en bacterias.

En cuanto a la asociación entre las variables en el estudio se encontró que cuando el SCC aumenta, aumentan también los sólidos no grasos, mientras que disminuyen la grasa, sólidos totales y bacterias, resultados diferentes a los encontrados por otros autores, cuando aumenta la grasa, aumenta los sólidos totales pero disminuyen las bacterias, cuando aumenta la proteína, lo hacen también los sólidos totales y los sólidos no grasos, y cuando aumentan los sólidos totales, aumentan las bacterias. Además se encontró que cuando los resultados de

MRT son negativos tanto el SCC y los sólidos totales están fuera de la norma.

Análisis de correspondencia múltiple: como se observa en la figura 1, se identificaron cuatro grupos, el primero hace referencia a leche de mala calidad, ya que incluye parámetros como sólidos no grasos y proteínas fuera de la norma junto a la presencia de gran cantidad de partos en los bovinos, el segundo grupo asocia el resultado positivo en MRT con la presencia de abortos, el tercer grupo hace referencia a leche de buena calidad con los parámetros sólidos totales y grasa dentro de la norma junto a haciendas pequeñas y una alimentación natural y finalmente el cuarto grupo asocia animales jóvenes con pocos partos.

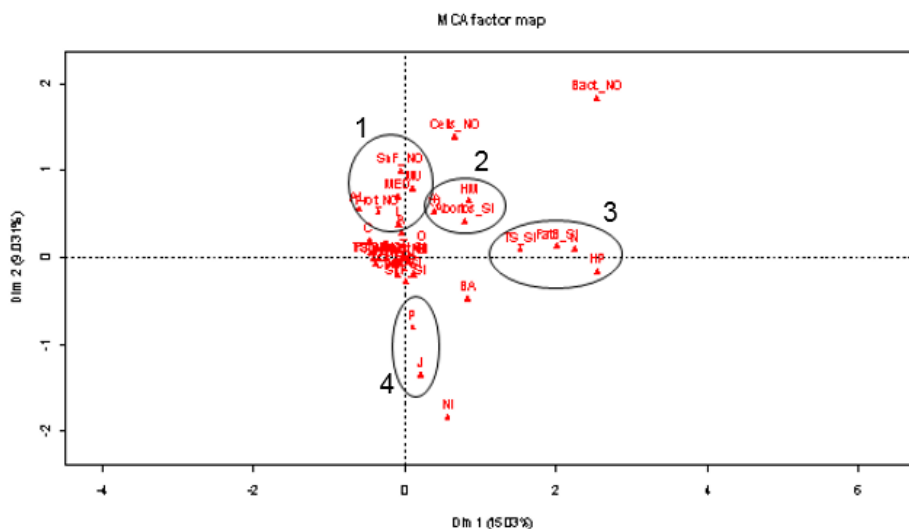


Figura 1.- Gráfico de correspondencia múltiple entre las variables de las muestras de las haciendas de Machachi-Ecuador 2013.

Prevalencia de Brucelosis: en el estudio se encontró una prevalencia aparente de 16.62% (67/403), similar a otros resultados encontrados pero en diferentes zonas de estudio o con diferentes metodologías; se confirmó con cultivo en medio específico Farrell en el cual no hubo ningún crecimiento de *Brucella* spp., lo que sugiere que el MRT da falsos resultados debido a que las muestras son recogidas poco después del parto o en las últimas etapas de lactancia, son calostro o pertenecen a bovinos con mastitis y por el factor de dilución de la muestra (Rivera *et al.*, 2003), además presenta reacciones con *Pasteurella multocida*, *Campilobacter*, *Salmonella urbana*, *Yersinia enterolítica* y *E. coli*, (Chukwu, 1987; Emmerzaal *et al.*, 2002), por lo que en la tipificación bacteriana realizada en el presente estudio se identificó dos especies *Escherichia coli* y *Pseudomona vulgaris*.

Conclusiones

Al usar citometría de flujo y análisis por infrarrojo se pudo evaluar los parámetros de calidad de la leche, de los resultados se observa que dentro de la Norma INEN se encuentran el 87.04% SCC, 15.16% grasa, 90.22% proteína, 21.76% sólidos totales,

77.75% sólidos no grasos y 98.77% bacterias.

Al realizar las pruebas en las muestras de los tanques de enfriamiento se encontró dentro de la Norma INEN el 83.34% SCC, 83.33% grasas, 91.67% proteína, sólidos totales, sólidos no grasos y 100% bacterias.

El uso del MRT permitió calcular una prevalencia aparente de 16.62% (67/403), que no se pudo confirmar brucelosis mediante aislamiento, sólo se identificó mediante pruebas bioquímicas *Escherichia coli* y *Pseudomona vulgaris*.

Los factores de riesgo que influyen en la calidad de la leche sobre los parámetros a) células somáticas: edad, el número de partos, suplemento y tamaño de la hacienda, b) grasa: producción, suplemento y tamaño de la hacienda, c) proteína: etapa de lactancia, d) sólidos totales: presencia de abortos, producción, suplemento y tamaño de la hacienda, e) sólidos no grasos: edad y número de partos, f) bacterias: suplemento y tamaño de hacienda.

Mediante el análisis de correspondencia múltiple se encontró cuatro grupos de variables que presentaron mayor

asociación entre ellas, lo que permite observar factores que pueden manipularse que se van a presentar juntos, determinando la calidad de la leche.

Recomendaciones

Realizar un estudio en las zonas lecheras de la sierra, costa y oriente, aumentando el número de muestras, diferenciando a nivel de ubres, cuartos mamarios y tanques de enfriamiento, para poder implementar programas de control de calidad y enfermedades.

Se recomienda analizar los actuales parámetros de calidad, bajo los cuales se rige el Ecuador, y establecer una legislación para que los productos lácteos tengan mejores estándares de calidad.

Para confirmar la presencia de *Brucella* spp., se deben utilizar otras técnicas de diagnóstico de alta sensibilidad y especificidad.

Bibliografía

Alvarez, A.; Pérez, H., Martín, T., Quincosa, J., Sánchez, A. (2009). Fisiología animal aplicada. Universidad de Antioquia, pp: 127-139.

Barbano, D., Ma, Y., Santos, M. (2006). Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. Journal of Dairy Science, Vol. 89, supplement, pp: E15-E19.

Barbosa, C., Sarreiro, J., Mestiek, L., de Felicio, M., Velga, M. (2013). Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. BMC Veterinary Research 9: 67.

Bytyqi, B., Zaugg, U., Sherifi, K., Hamid, A., Gjonbalaj, M., Muji, S., Mehmeti, H. (2010). Influence of management and physiological factors on somatic cell count in new milk in Kosova. Veterinarski Archiv. 80(2): 173-183.

Chukwu CC. (1987). Differentiation of *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* serotype 09 infections in cattle: the use of specific lymphocyte transformation and brucellin skin tests. Vet Q. Apr;9(2):134-42.

Dang, A., Anand, S. (2007). Effect of milking systems on the milk somatic cell counts and composition. Livestock Research for Rural Development 19 (6).

Emmerzaal A, de Wit JJ, Dijkstra T, Bakker D, van Zijderveld FG. (2002). The Dutch *Brucella abortus* monitoring

programme for cattle: the impact of false-positive serological reactions and comparison of serological tests. Vet Q. Feb;24(1):40-6.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2012). *Animal Production and Health*. Extraído el 07 de noviembre de 2012 de http://www.fao.org/AG/AGInfo/themes/en/dairy/prod_chain.html.

FAO-SMIA. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Sistema mundial de información y alerta sobre la alimentación y la agricultura*. (2012). *Perspectivas Alimentarias. Análisis del Mercado Mundial*. Extraído el 09 de noviembre 2012 de <http://www.fao.org/docrep/015/al989s/al989s00.pdf>.

Fell, E., Cooper, H., Grandmann, D., Robinson, M., Enright, T., Berent, S., Peacock, J., Smith, M., Murphy, M., Spratt, B., Moore, C., Day, N. (2003). How clonal is *Staphylococcus aureus*?. J. Bacteriol. 185: 3307-3316.

Hill, R. y Wyse, G. (2006). Fisiología Animal. Ed. Médica Panamericana, pp:521- 522.

Hogan, J y Smith, L. (2003). Coliform mastitis. Vet. Res. 34:507-519.

Ibarra, M. (2008). Comparative evaluation of the most common milk brucellosis diagnostic tests in the northernmost part of Ecuador. Thesis presented in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Tropical Animal Health. Press de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Prince Leopold Institute of Tropical Medicine. Antwerpen (Antwerp), Belgium

INEC. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2011). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC*. Extraído el 20 de diciembre 2012 de http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=50&TB_iframe=true&height=533&width=1164.

INEC-MAG-SICA. (2002). *III Censo Nacional Agropecuario. Censos y Encuestas*. In. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. MAGAP. (2012). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca* Extraído el 12 de diciembre 2012 de <http://servicios.agricultura.gob.ec/sinaga>

<p/index.php/resultados-nacionales?start=10>.

Jánosi, Sz. & Baltay, Zs. (2004). Correlations among the somatic cell count of individual bulk milk, result of the California Mastitis Test and bacteriological status of the udder in dairy cows. *Acta Vet. Hung.* 52 (2), pp. 173-183.

Karimuribo, E., Kusiluka, L., Mdegea, R., Kapaga, A., Sindato, C., Kambarage, D. (2005). Studies on mastitis, milk quality and health risks associated with consumption of milk from pastoral herds in Dodoma and Morogoro regions, Tanzania. *J. Vet. Sci.* 6(3): 213-221.

Lee, J., Bannerman, D., Paape, M., Zhao, X. (2006). Characterization of cytokine expression in milk somatic cell during intramammary infections with *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* by real-time PCR. *Vet. Res.* 37:219-229.

Lindmark-Mansson, H., Bränning, C., Aldén, G., Paulsson, M. (2006). Relationship between somatic cell count, individual leukocyte population and milk components in bovine udder quarter milk. *Int. Dairy J.* 16:717-727.

Lucero, N.E., Ayala, S.M., Escobar, G.I., Jacob, N.R. (2008). *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America. *Epidemiological Infection* 136: 496-503.

MAG-SESA. (2009). *Prevención y control de la brucelosis bovina en Ecuador. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria.*

O'Grady, L. y Doherty, M. (2011). Focus on Bovine Mastitis: knowledge into practice. I. *Vet. J. Vol.* 62:4.

Pantoja, J. C. F., Hulland, C., Ruegg, P. L. (2009). Dynamics of somatic cell counts and intramammary infections across the dry period. *Prev. Vet. Med.* 90: 43-54.

Pavel, E., Gavan, C. (2011). Seasonal changes in bulk tank composition of Dairy cows. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 44 (2).

Rajčević, M., Potočnik, K., Levstek, J. (2003). Correlations between somatic cells count and milk composition with regard to the season. *Agriculture Conspectus Scientifics*, vol. 68. Nº. 3 (221-226).

Reichmuth, J. (1975). Somatic cell counting-interpretation of results. In proc.

Of Sem. On Mast. Count. 1975 IDF Doc 85. Pp. 93-109.

*Rivera, D.Y., Rueda, O.E., Calderon, C.P., Marino, O.C., Gall, D. y Nielsen, K. 2003. Comparative evaluation of the indirect enzyme-linked immunosorbant assay in milk for the detection of cattle infected with *Brucella abortus*, in the herds located in the province of Cundinamarca, Colombia. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties* 22: 1065-1075.*

Samartino, L.E. (2002). Brucellosis in Argentina. Veterinary Microbiology 90: 71-80.

Savadogo, A., Outtara, C., Savadogo, P., Quattara, A., Barro, N., Traoré, A. (2004).

Microorganism involved in Futani traditional fermented milk in Burkina Faso, Pakistan. J. Nutrition 3 (2): 134-139.

SEM. Secretaría de Economía Mexicana. (2012). Análisis del sector lácteo en México. Extraído el 31 de octubre 2012 de http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf.

Sharma, N., Slugh, N., Bbadwal, M. (011). Relationship of Somatic cell count and mastitis: an overview. Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol. 24, No. 3: 429-438.

Tamime, A. (2009). Milk Processing and Quality Management. Blackwell Publishing Ltd., pp:8-100.