

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE VETERINARIA

**DETERMINACIÓN DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTAMINACIÓN EN LA LECHE  
OBTENIDA POR PRODUCTORES DE SAN JOSÉ PINULA, GUATEMALA**

**ANACANI MADRID GÁLVEZ DE ROSAL**

**GUATEMALA, AGOSTO DE 2008**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTAMINACIÓN EN LA LECHE  
OBTENIDA POR PRODUCTORES DE SAN JOSÉ PINULA, GUATEMALA**

**TESIS**

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
DE GUATEMALA**

**POR**

**ANACANI MADRID GÁLVEZ DE ROSAL**

**AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MÉDICA VETERINARIA**

**GUATEMALA, AGOSTO DE 2008**

Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Junta Directiva

**Decano:** Lic. Zoot. Marco Vinicio De La Rosa Montepeque  
**Secretario:** Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina  
**Vocal I:** Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras  
**Vocal II:** Mag. Sc. Fredy Rolando González Guerrero  
**Vocal III:** Med. Vet. Mario Motta  
**Vocal IV:** Br. David Granados Dieseldorff  
**Vocal V:** Br. Luis Guillermo Guerra Bone

Asesores:

Med. Vet. Willson Valdéz Melgar  
Med. Vet. Jaime Rolando Méndez Sosa  
Med. Vet. Blanca Josefina Zelaya de Romillo

## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

### **DETERMINACIÓN DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTAMINACIÓN EN LA LECHE OBTENIDA POR PRODUCTORES DE SAN JOSÉ PINULA, GUATEMALA**

Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia como requisito previo a optar al título profesional de

**Médica Veterinaria**

# TESIS QUE DEDICO

A Dios padre Todopoderoso

A la Virgen del Rosario

A mi amada Familia

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

A mis asesores:

Med. Vet. Willson Valdéz Melgar

Med. Vet. Jaime Rolando Méndez Sosa

Med. Vet. Blanca Josefina Zelaya de Romillo

Al Departamento de Microbiología

Al Departamento de Salud Pública

A la Coopertativa Integral de Productos Lácteos (COOPELAC)

A los amables y colaboradores propietarios de las fincas de San José Pinula

A la Cámara de Productores de Leche de Guatemala (CPLG)

A mi hermoso país Guatemala

## ACTO QUE DEDICO

- A DIOS Por darme la vida y rodearme de personas amorosas, pacientes y comprensivas para que junto a ellas con su guía y fortaleza pudiese llegar a este momento y seguir adelante cosechando éxitos.
- A MI PAPÁ Darío Madrid por todas sus enseñanzas, apoyo y amor incondicional durante toda mi vida.
- A MI ESPOSO Erwin Rosal por estar cada día a mi lado llenándome de amor y aligerando mi esfuerzo con pequeños y grandes detalles llenos de cariño y paciencia.
- A MIS HIJOS Emiliano y José Ignacio por que sus vidas llenan la mía de fortaleza y alegría.
- A MIS HERMANOS Lucky por que siempre me brindó sus consejos y cariño, y junto a mi esposo me animaron a tomar esta carrera. A Rubén Darío y Valentina por llenarme con su amor y ternura.
- A MI MAMÁ Lucrecia Gálvez por su apoyo y enseñanzas.
- A MI ABUELA Blanquita por todo su apoyo.
- A MI PADRINO Salvador Madrid por que siempre está en los momentos importantes.
- A MIS SUEGROS Marta Cazali y José Rosal por todo su apoyo y cariño en todo momento.
- A MIS TÍOS Y TÍAS Por siempre brindarme sus consejos y cariño.



# ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	2
III.	OBJETIVOS	3
	2.1 Objetivo General	3
	2.2 Objetivo Específicos	3
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
	4.1 Leche de vaca	4
	4.1.2 Características esenciales de la leche	4
	4.1.2.1 Complejidad	4
	4.1.2.2 Heterogeneidad	4
	4.1.2.3 Variabilidad de la composición	5
	4.1.2.4 Alterabilidad	6
	4.1.3 Composición de la leche	6
	4.1.3.1 Glúcidos	7
	4.1.3.2 Lípidos	7
	4.1.3.3 Proteínas	8
	4.1.3.4 Minerales	8
	4.1.3.5 Vitaminas	9
	4.1.3.6 Ácidos orgánicos	10
	4.1.3.7 Gases	10
	4.1.3.8 Enzimas	11
	4.2 Sistemas de obtención de leche y mantenimiento	12
	4.2.1 Buenas prácticas de ordeño	13
	4.2.1.1 Vacas tranquilas y limpias antes del ordeño	13
	4.2.1.2 Vacas en grupos	14
	4.2.1.3 Preparación consistente de la vaca preordeño	15
	4.2.1.4 Pezones secos	16
	4.2.1.5 Adecuada colocación de pezoneras	17

4.2.1.6 Adecuada remoción de pezoneras	17
4.2.1.7 Manejo de las vacas post ordeño	18
4.2.2 Mantenimiento	18
4.2.3 Transporte	19
4.3 Calidad microbiológica de la leche y sus alteraciones	20
4.3.1 Bacterias	20
4.3.1.1 Bacterias gram positivas	21
4.3.1.1.1 Bacterias lácticas	21
4.3.1.1.2 Micrococcus	22
4.3.1.1.3 Estafilococos	22
4.3.1.1.4 Bacterias esporuladas (bacillaceae)	23
4.3.1.1.5 Otras bacterias gram positivas	23
4.3.1.2 Bacterias gram negativas	24
4.3.1.2.1 Enterobacterias	24
4.3.1.2.2 Pseudomonas	25
4.3.1.2.3 Achromobacteriaceae	25
4.3.1.2.4 Bacterias gram negativas diversas	25
4.3.2 Levaduras	25
4.3.3 Mohos	26
4.3.4 Virus	26
4.3.5 Factores que afectan el crecimiento de microorganismos	26
4.3.5.1 Factores intrínsecos	27
4.3.5.2 Factores extrínsecos	31
4.3.5.3 Factores implícitos	33
4.3.6 Alteraciones microbiológicas en la leche	33
4.3.6.1 Agriado o formación de ácido	34
4.3.6.2 Producción de gas	35
4.3.6.3 Proteólisis	36
4.3.6.4 Viscosidad	38
4.3.6.5 Alteración de la grasa de leche	39
4.3.6.6 Producción de álcalis	40

4.3.6.7	Alteración del sabor	40
4.3.6.8	Alteración del olor	42
4.3.6.9	Alteración del color	42
4.4	Contaminación de la leche	43
4.4.1	Contaminación endógena	44
4.4.2	Contaminación exógena	44
4.4.2.1	Contaminación por detergentes e higienizantes	46
4.4.2.2	Contaminación por pesticidas	47
4.5	Mastitis	47
4.6	Prueba California de mastitis (CMT)	48
4.7	Normativa	51
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	53
5.1	Materiales	53
5.2	Métodos	54
5.2.1	Diseño del estudio	54
5.2.1.1	Criterios de inclusión	54
5.2.1.2	Criterios de exclusión	54
5.2.2	Recopilación de información	55
5.2.3	Prueba de análisis y toma de muestras	55
5.2.3.1	Prueba de campo	55
5.2.3.2	Toma de muestras de leche	56
5.2.3.3	Toma de muestra de agua	57
5.2.3.4	Proceso de laboratorio	58
5.2.4	Análisis estadístico	60
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
6.1.1	Determinación de Puntos Críticos de Contaminación Microbiológica de la leche (UFC) en el desarrollo de la cadena de producción	61
6.1.2	Análisis Microbiológico de la leche	61
6.1.3	Características de los productores con respecto a la implementación de Buenas Prácticas de Ordeño (BPO)	66
6.1.4	Salud del Hato	70

6.1.5 Prueba California de Mastitis	70
6.1.6 Análisis Microbiológico del Agua	70
VII. CONCLUSIONES	72
VIII. RECOMENDACIONES	73
IX. RESUMEN	74
X. BIBLIOGRAFÍA	75
XI. ANEXOS	79
XII. APÉNDICES	101

## I. INTRODUCCIÓN

La leche es un alimento históricamente indispensable para el adecuado desarrollo del ser humano por sus cualidades nutricionales y su fácil obtención. Por ello y por la necesidad de satisfacer los requerimientos de una población en constante crecimiento; en los últimos años el sector lechero nacional ha cobrado importancia, haciéndose especial énfasis en la calidad higiénica de la leche. En esta, se ve reflejada la forma y las condiciones de obtención de la leche, así como su manejo durante todo el proceso, el cual abarca desde la salud del animal hasta ser puesta en la mesa de cada uno de los consumidores, en su forma líquida original o como un subproducto. La falta de calidad higiénica en la leche se refiere a la presencia de microorganismos en ella, lo cual, es un riesgo para la salud del consumidor.

En ésta investigación se realizó un análisis por observación de ciertas partes del proceso de la cadena láctea, como son la salud del animal, el ordeño, el almacenamiento y el transporte de la leche al centro de acopio mas cercano; con éste análisis además se determinó las características de los productores en la utilización de las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO). Así mismo, se hizo un análisis microbiológico para determinar en cuál de estos puntos ocurre contaminación de la leche. Dicho análisis proporcionó el recuento de unidades formadoras de colonias, recuento de coliformes totales, recuento de *Escherichia coli* y recuento de *Staphylococcus aureus*. También se realizó un análisis microbiológico del agua utilizada en cada finca durante el proceso de ordeño para determinar si existe presencia de coliformes (*E. coli*), lo cual contribuyó a los resultados obtenidos de los análisis de la leche. Este estudio también cuenta con una prueba de campo llamada Prueba California de Mastitis (CMT) que proporcionó datos importantes para la completación de la investigación. Este estudio se realizó en fincas de San José Pinula pertenecientes a la cooperativa de éste municipio con el fin de mejorar la calidad del producto obtenido y con ello las ganancias, pues actualmente existen incentivos económicos basándose en la cantidad de bacterias que en la leche se encuentran.

## **II. HIPÓTESIS**

No existen puntos críticos de contaminación de la leche obtenida por los productores de San José Pinula.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 GENERAL

- Determinar si existe contaminación bacteriana por coliformes así como la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en el proceso de obtención de la leche de los productores de la Cooperativa Integral de Productos Lácteos (COOPELAC).

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Determinación de puntos críticos de contaminación microbiológica de la leche (UFC) en el desarrollo de la cadena de producción.
- Determinación de Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en la leche proveniente del ordeño.
- Evaluar las técnicas de ordeño de los productores de COOPELAC en comparación con las establecidas como Buenas Prácticas de Ordeño (BPO).
- Determinación de Mastitis por medio de la Prueba California de Mastitis (CMT) en las vacas de los productores de COOPELAC.
- Determinación de coliformes (*E. coli*) en el agua utilizada durante el proceso de ordeño.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 LECHE DE VACA

Es el producto íntegro, no alterado ni adulterado, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de vacas sanas, que no contenga calostro y que esté exento de color, olor, sabor y consistencia anormales (8).

#### 4.1.2 CARACTERÍSTICAS ESENCIALES DE LA LECHE

##### 4.1.2.1 COMPLEJIDAD

La leche es un líquido segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, tras el nacimiento de la cría. Es un líquido de composición compleja, blanco y opaco, de sabor dulce y reacción iónica (pH) cercana a la neutralidad. La función natural de la leche es la de ser el alimento exclusivo de los mamíferos jóvenes durante el proceso crítico de su existencia, tras el nacimiento, cuando el desarrollo es rápido y no puede ser sustituida por otros alimentos. La gran complejidad de la composición de la leche responde a esta necesidad. La mama constituye igualmente un emuntorio; por ello se pueden encontrar también en la leche sustancias de eliminación, sin valor nutritivo (1, 25).

##### 4.1.2.2 HETEROGENEIDAD

La leche es una emulsión de materia grasa, en forma globular, en un líquido que presenta analogías con el plasma sanguíneo. Este líquido es, así mismo, una suspensión de materias proteicas en un suero constituido por una solución verdadera que contiene, principalmente, lactosa y sales minerales. Por lo tanto, existen en la leche cuatro tipos de componentes importantes: grasas, proteínas (caseína y albuminoides), lactosa y sales. A ellos se añaden otros componentes numerosos, presentes en

cantidades mínimas como lecitinas, vitaminas, enzimas, nucleótidos, gases disueltos, etc (1, 25).

#### 4.1.2.3 VARIABILIDAD DE LA COMPOSICIÓN

La composición de la leche varía en el transcurso del ciclo de la lactación. En la época del nacimiento, la mama segrega el calostro, líquido que se diferencia principalmente de la leche en su parte proteica y salina. El estado de salud influye sobre la composición de la leche (leche patológicas). La composición de la leche completa varía sensiblemente de una especie animal a otra (1, 25).

Así, las diferentes especies de mamíferos producen leches que, de una forma general, tiene una composición semejante pero pueden presentar diferencias importantes en su composición centesimal y tener, como consecuencia, propiedades muy diferentes. Por ejemplo, todas las leches poseen caseína y otras proteínas del grupo de las albúminas. Algunas leches contienen mucha más caseína que albúmina, como ocurre con las de los rumiantes cuya leche se llama caseínosa, ello lleva consigo una reacción ligeramente ácida y la posibilidad de coagular por el cuajo y no por la ebullición. Por el contrario, otras leches son albuminosas, especialmente las de los carnívoros, presentando propiedades opuestas. En general, las leches son tanto más ricas, principalmente en materias nitrogenadas y en sales, cuanto menos completo sea el desarrollo in-útero y el crecimiento sea más rápido. El contenido en lactosa sigue un orden inverso, pero paralelo, al desarrollo del cerebro; los tejidos nerviosos son ricos en galactósidos. La materia grasa es un alimento energético, pues se encuentra en proporción elevada en la leche de los mamíferos de las regiones frías y de los océanos (relación climática). La leche humana es la más rica en lactosa, pero es relativamente pobre en elementos nutritivos; lo mismo ocurre con la leche de los équidos. La leche de los rumiantes se distingue, no solamente por una elevada proporción de caseína en el contenido total nitrogenado, sino también por una proporción bastante elevada en la grasa de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (ácidos volátiles), consecuencia de su especial proceso de síntesis. La leche de vaca y de cabra son las mejor equilibradas

desde el punto de vista de la distribución de los tres mayores componentes, conteniendo alrededor del 4% de cada uno de ellos: proteínas, grasa y lactosa (1, 20, 24, 25).

Dentro de la misma especie, las diferentes razas producen leches cuya composición varía, aunque dentro de los límites reducidos, conservando constantes ciertos caracteres. En términos generales, son más bien la cantidad de leche producida y su riqueza global las que varían, de una raza a otra y de una manera inversamente proporcional. Existen además, variaciones individuales; la aptitud lechera es hereditaria y es una de las bases para la selección (1).

#### 4.1.2.4 ALTERABILIDAD

La leche es un producto que se altera fácilmente, especialmente bajo la acción del calor. Numerosos microorganismos pueden proliferar en ella, en especial aquellos que degradan la lactosa con la producción de ácido, ocasionando, como consecuencia, la floculación de una parte de las proteínas. La leche no posee más que una débil y efímera protección natural. Su uso para el consumo y para las transformaciones industriales exige medidas de defensa contra la invasión de los microorganismos y contra la actividad de las enzimas (1, 25).

La leche, además de ser un medio nutritivo, es también un medio favorable desde el punto de vista físico para la multiplicación de microorganismos, y al ser un producto de origen animal sujeto a una gran diversidad de métodos de producción se puede contaminar con un amplio espectro de microorganismos.(25, 26)

#### 4.1.3 COMPOSICIÓN DE LA LECHE

La propiedad fundamental de la leche es la de ser una mezcla, tanto física como química. Es una mezcla de sustancias definidas y desde el punto de vista físico, coexisten varios estados; emulsión, suspensión y solución.

#### 4.1.3.1 GLÚCIDOS

La leche contiene glúcidos libres, dializables y combinados con glicoproteínas, no dializables. Desde el punto de vista químico se distinguen: glúcidos neutros, glúcidos nitrogenados y glúcidos ácidos. Aparte de la lactosa, la proporción de glúcidos es siempre pequeña en la leche perfecta, y más elevada en la leche calostrada, secretada durante los tres primeros días posteriores al nacimiento. La lactosa es el único glúcido libre que existe en cantidad importante en todas las leches; es también el componente más abundante, el más simple y el más constante en proporción. La lactosa es el factor que limita la proporción de leche; es decir, que la cantidad de leche producida depende de las posibilidades de síntesis de lactosa en la mama. Desde el punto de vista biológico, la lactosa se distingue de los azúcares comunes por su estabilidad en el tracto digestivo. Es el componente de la leche más lábil frente a la acción microbiana transformándola en ácido láctico y en otros ácidos alifáticos. Así mismo tiene un débil sabor dulce cuyo poder edulcorante es seis veces menor que el del azúcar ordinario (1, 20, 24).

#### 4.1.3.2 LÍPIDOS

Éstos se encuentran dispersos en la leche en forma globular. Ésta dispersión es inestable y las sustancias que la componen son las más fáciles de extraer de la leche sin modificar los otros componentes. Al tener los glóbulos grasos una densidad inferior a la del líquido en el que se encuentran emulsionados, tienden a elevarse hacia la superficie, donde forman una capa llamada comúnmente crema o nata. Una parte de la materia grasa se sintetiza en la glándula mamaria a partir de los ácidos grasos volátiles, sobre todo en los rumiantes; el resto se forma a partir de los ácidos grasos que se encuentran en la sangre. El régimen alimenticio tiene, por consiguiente, una influencia considerable sobre la composición de materia grasa de la leche. La materia grasa es el componente de la leche que varía en mayor proporción. Ésta se altera más lentamente que la lactosa; sus modificaciones no provocan grandes cambios en la estructura físico-

química de la leche, pero son importantes por ser causa de la aparición de sabores desagradables (1, 20, 24).

#### 4.1.3.3 PROTEÍNAS

Las sustancias nitrogenadas forman la parte más compleja de la leche siendo numerosas y variadas. Dentro de estas tenemos las más simples que son las holoproteínas, las más abundantes que son las fosfoproteínas (caseína) y las glicoproteínas (globulinas inmunes). Las propiedades de las proteínas dependen de las proporciones de aminoácidos influyendo sobre la solubilidad de la proteína si se encuentra en contacto con el agua y sobre el carácter ácido o básico de la misma. La caseína entera es un complejo de proteínas fosforadas y constituye la parte nitrogenada más característica de la leche; no existe ninguna sustancia parecida, ni en la sangre ni en los tejidos. La caseína precipita sólo cuando se acidifica la leche hasta pH 4.6 o cuando se encuentra bajo la acción de una enzima específica, el cuajo; y es la fracción nitrogenada más abundante en la leche, sobre todo en la de los rumiantes (1, 20).

#### 4.1.3.4 MINERALES

Las materias minerales se encuentran en todas las leches en una proporción que varía de 3 a 10 gr. por litro. Es una fracción pequeña en relación con las tres precedentes: lípidos, glúcidos y proteínas. Las leches de vaca y cabra tienen una composición mineral parecida; el potasio es el elemento dominante, más que el calcio y el fósforo. Los contenidos en fósforo y calcio de la leche de una especie animal determinada son tanto más elevados cuanto más rápida es la velocidad de crecimiento del animal joven. La alimentación de la hembra durante la lactación influye poco sobre el contenido en minerales de la leche, incluso cuando se produce una carencia, cosa frecuente para el fósforo y calcio en las grandes productoras. Esta carencia influye a la larga sobre la producción, que se reduce, pero no sobre la composición mineral de la leche. En estos casos parece existir una actividad secretora especial, ya que es poco probable que se trate de una simple filtración de los minerales de la sangre a la leche.

La composición mineral de la leche, es muy diferente de la sangre, con la cual se encuentra en equilibrio en la mama. En el curso de la lactación, el contenido de la leche en elementos minerales varía poco, excepto para el magnesio. El contenido de potasio desciende regularmente hasta el final de la lactación. El contenido de sodio se eleva al final de la lactación; es un hecho bien conocido que los contenidos en sodio y potasio, evolucionan en sentido inverso. La composición mineral del calostro es diferente de la correspondiente a la leche, pero estas diferencias no son del mismo orden en todas las especies. El calostro de vaca contiene más fósforo y calcio que la leche; en la cerda ocurre lo contrario. La leche contiene otros minerales en pequeñas cantidades, todos interesantes en la nutrición. El zinc es el más abundante de los metales en estado de indicios (3 a 6 mg/l). El cobre y hierro pueden tener variaciones accidentales en contenido pudiendo tener consecuencias en lo que se refiere a la oxidación de la grasa de la leche, pues los metales pesados catalizan esta reacción (1, 20, 24).

#### 4.1.3.5 VITAMINAS

La leche contiene casi todas las vitaminas pertenecientes a los dos grandes grupos. Las vitaminas liposolubles (A, D, E) van asociadas a la materia grasa; por esta razón se encuentran en la crema y en la mantequilla tras el desnatado, y no se hallan en la leche desnatada ni en el lactosuero. Su contenido obedece a la influencia de factores exógenos como alimentación y radiaciones solares; por tanto, es muy variable. Es sabido que los ácidos grasos poliinsaturados tienen también una acción vitamínica, especialmente el ácido linoleico. Las vitaminas hidrosolubles (B1, B2, C, etc.) se encuentran en la fase acuosa, o sea, en la leche desnatada y el lactosuero. La riqueza de la leche en estas vitaminas depende poco de las influencias externas; por ello su contenido varía relativamente poco. Las vitaminas del grupo B que se encuentran en la leche de los rumiantes, proceden de los forrajes solamente en una pequeña parte; su origen principal se encuentra en la biosíntesis de las bacterias del rúmen. La leche contiene sustancias asimiladas a las vitaminas como inositol y colina, así como factores indeterminados y principios estrogénicos. El calostro es más rico en vitaminas que la leche. La leche humana es más rica que la de la vaca en vitaminas E y C

principalmente, pero el grupo B está mejor representado en la leche de vaca. Algunas vitaminas se inactivan por el calor, la oxidación o la fotólisis (efecto de la luz solar y las radiaciones). La actividad vitamínica de la leche puede por ello reducirse en el curso de los tratamientos industriales, pero estas modificaciones se limitan a algunas vitaminas (1, 20, 24).

#### 4.1.3.6 ÁCIDOS ORGÁNICOS

El ácido cítrico se encuentra en notable proporción en la leche de vaca, no se encuentra en cantidades apreciables en la sangre y otros humores, pero es abundante en los huesos. Se le ha considerado como un producto de acumulación de reacciones rápidas del ciclo tricarbóxico de Krebs. Éste ácido interviene en el estado de equilibrio del calcio. Además este ácido favorece la absorción del calcio por la mucosa intestinal cuando se halla en presencia de vitamina D, que inhibe su oxidación. La leche contiene otros ácidos orgánicos pero en muy pequeñas cantidades como el ácido neuramínico, ácidos grasos libre y aminoácidos libres. Ácidos alifáticos de bajo peso molecular, especialmente los ácidos fórmico, acético y láctico en proporciones aproximadas al 0.040, 0.038 y 0.055% respectivamente. El calentamiento a 100° o más, provoca un aumento del ácido fórmico, como consecuencia de la degradación de la lactosa (1).

#### 4.1.3.7 GASES

Tras el ordeño, la leche puede contener hasta un 8 % en volumen de gas, del cual el 6.5 % es carbónico. Esta cantidad se reduce en contacto con la atmósfera; la proporción de dióxido de carbono disminuye hasta el 4%, pero los gases del aire, nitrógeno y oxígeno se elevan sensiblemente; este equilibrio corresponde a la solubilidad del nitrógeno y oxígeno en el agua. El contenido de oxígeno, que es un cuerpo perjudicial en lo que a las grasas se refiere, puede rebajarse a valores de poco interés combinando el calor con el vacío. El hidrógeno sulfurado y otros derivados sulfurados volátiles, se encuentran presentes en la leche calentada, como consecuencia de la descomposición de proteínas solubles; son responsables del sabor a cocido. Los

productos volátiles de olor fuerte procedentes de los alimentos y que se encuentran en la leche o en la crema, pueden eliminarse por arrastre con vapor de agua al vacío (1).

#### 4.1.3.8 ENZIMAS

La leche contiene varias enzimas relacionadas con el grupo de las albúminas, con las cuales generalmente precipitan. Algunas de estas enzimas se encuentran concentradas en la membrana superficial de los glóbulos grasos y son arrastradas por la crema; otras precipitan con la caseína a pH 4.6. El origen de la leche explica la presencia de estas enzimas, existentes en numerosas células y especialmente en los leucocitos de la sangre, que emigran a través del tejido mamario. Se las puede considerar, por lo tanto, como productos de secreción. A veces es difícil determinar su origen, ya que las bacterias, que frecuentemente se encuentran en la leche, producen enzimas del mismo tipo; el desarrollo de estas bacterias, aumenta por consiguiente, la cantidad de enzimas presentes o aporta otras nuevas. Probablemente existen ocho de estas enzimas en la leche a la salida de la mama; dos se han aislado en estado puro, la lactoperoxidasa y la reductasa aldehídica. La cantidad de estas enzimas en la leche es escasa; pero su actividad como catalizadores bioquímicos es tal que provocan importantes modificaciones a muy baja concentración. Esta actividad depende estrechamente del pH y la temperatura; la elevación de esta última provoca su destrucción que, en general, es rápida por encima de los 70°. La importancia de las enzimas deriva de sus propiedades. Algunas son factores de degradación que tienen importancia tecnológica; tales son la lipasa, factor de rancidez; la proteasa, que provoca la hidrólisis de la caseína, etc. La sensibilidad de las enzimas al calor permite el control del calentamiento de la leche en la zona de las temperaturas de pasteurizado. La cantidad de enzima depende, para algunas de ellas, del número de leucocitos o bacterias que se encuentran en la leche; de esta manera se pueden obtener datos sobre la calidad higiénica de la leche. El contenido de enzimas no es el mismo para todas las leches; esta característica puede ser un medio para distinguirlas, pero en la actualidad se utiliza poco. Algunas enzimas tienen actividad bactericida, y constituyen

por ello una protección, desde luego limitada, de la leche; siendo el caso de la lactoperoxidasa y la lisozima (1, 24, 26).

#### 4.2 SISTEMAS DE OBTENCIÓN DE LECHE Y MANTENIMIENTO

El ordeño es el acto de coleccionar leche luego de estimular adecuadamente a la vaca para liberar la leche de la ubre. Para que el ordeño, sea rápido y completo, la vaca debe de recibir las señales propias desde su medio ambiente. Una vez que el reflejo de liberación de leche es iniciado, la leche es presionada hacia fuera del alvéolo por medio de las células mioepiteliales (musculares) y es forzada dentro del sistema de conductos. Luego, la acción de la boca del ternero, la mano del operador o la ordeñadora mecánica, pueden coleccionar la leche que ha drenado dentro del canal del pezón (1, 28).

En el ordeño manual, la mano toma todo el largo del pezón. El pulgar y el índice comprimen la parte superior del pezón y al mismo tiempo los demás dedos aprietan hacia adentro y hacia abajo. La mayor presión dentro de la ubre fuerza la leche a pasar el esfínter (28).

La máquina de ordeño utiliza vacío para extraer la leche de la ubre. Si el vacío que se aplica al pezón es demasiado alto o dura demasiado, la sangre y el tejido corporal se acumulará y el resultado de dicha congestión en el tejido parará el flujo sanguíneo. En el caso del ternero al mamar, este problema no se presenta debido a que mientras la leche que se acumula en la boca es deglutida, no existe presión diferencial alrededor del pezón y se permite la circulación normal de sangre hacia afuera del pezón. Este proceso se refiere como masaje del pezón. Cuando se utiliza la máquina de ordeño, la pezonera de doble cámara y el pulsador permiten que el pezón se someta alternativamente al vacío (fase de ordeño) y a la presión atmosférica (fase de masaje). Cuando se remueve el aire de la cámara de pulsación (área entre la cobertura rígida y la camisa interna), la camisa se abre debido a que la presión interna de la cámara y la presión interna de la línea de vacío son las mismas. El vacío al final del

pezón fuerza a la leche a salir de la cisterna del pezón dentro de la línea. Aún así, cuando el aire es admitido dentro de la cámara de pulsación la camisa se colapsa hacia adentro de la teta (debido a que la presión del interior de la camisa es menor que la del interior de la cámara de pulsación). Durante este período de descanso, el canal del pezón se cierra (pero no la cisterna del pezón), el flujo de leche se detiene, y los fluidos corporales que fueron aspirados en los tejidos del pezón pueden liberarse. Esta acción de masaje de la pezonera durante el ciclo de pulsación previene la congestión de fluidos y el edema del pezón. Típicamente, la camisa de la máquina de ordeño se abre y se cierra 45 a 65 veces por minuto (ritmo de pulsado). En el ciclo de pulsación, la fase de ordeño es generalmente igual o más larga que la fase de masaje. El porcentaje de tiempo del ciclo de pulsado que se dedica en cada fase se refiere como el radio de pulsado. Por ejemplo, un radio de pulsado de 60:40 significa que el vacío se incrementa o se encuentra al máximo durante 60% del ciclo y decrece o se encuentra a la presión atmosférica durante el 40%. Así, asumiendo un ritmo de pulsación de 60 (un ciclo de pulsación por segundo), a un radio de pulsado de 60:40 indica que la fase de ordeño dura 0,6 segundos y la de masaje dura 0,4 segundos. (28)

#### 4.2.1 BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO (BPO)

La producción y colecta eficiente de leche de buena calidad es el objetivo de la mayoría de los productores lácteos. Por leche de buena calidad entendemos una leche de buena apariencia, libre de adulteraciones y que alcanza determinados estándares para el recuento de células somáticas (RCS) y recuento bacteriano. El enfoque de una misma rutina para todos no puede aplicarse a las rutinas de ordeño, pero existen siete principios para la preparación de las vacas que han sido probados como exitosos para lograr una producción de leche de buena calidad. (1, 27)

##### 4.2.1.1 VACAS TRANQUILAS Y LIMPIAS ANTES DEL ORDEÑO

Que las vacas estén limpias es determinante tanto para la eficiencia del ordeño como también para disminuir la ocurrencia de infecciones intramamarias. Se ha

estimado que las vacas que entran al ordeño sucias duplican el tiempo de preparación de las mismas para el ordeño y además reducen la optimización del tránsito por la sala de ordeño. Los patógenos del ambiente son por lo general la fuente principal de mastitis en hatos que tienen controlada a la mastitis por patógenos contagiosos. Bacterias del ambiente se encuentran muy a menudo presentes en las camas con material de origen orgánico y en corrales embarrados. Las prácticas de manejo reducen la exposición de la punta de los pezones a dichos organismos disminuyendo los riesgos de mastitis. Camas limpias, secas y confortables reducirán el crecimiento de patógenos. Para mejorar la limpieza de las vacas se pueden remover los pelos de la glándula mamaria, siendo una buena práctica removerlos dos veces al año (1, 27).

La manera en que las vacas son manejadas es determinante en la eficiencia del tiempo del ordeño. La secreción de adrenalina dentro de los 30 minutos previos al ordeño puede interferir con la bajada de leche y prolongar el vaciado de la glándula mamaria. Vacas tranquilas entran a la sala de ordeño listas para ser ordeñadas y por lo general no defecan en la misma. Cuando un grupo de vacas se niega a entrar en forma sistemática o si las mismas defecan con frecuencia durante su estadía en la sala, se debe observar el funcionamiento y el manejo de la misma. (1, 27)

#### 4.2.1.2 VACAS EN GRUPOS

Existen dos razones por las cuales es bueno tener a las vacas divididas en grupos (además de las nutricionales). Para controlar la ocurrencia de nuevas infecciones es bueno evitar el contacto con vacas que se sabe que están con mastitis subclínica. En aquellos hatos en donde los patógenos contagiosos responsables de mastitis no están plenamente bajo control, podemos, en general, encontrar tres clases de vacas: 1) no infectadas, 2) infectadas y 3) estatus de infección desconocido. Las vaquillas de primera parición en general se colocan en el grupo de los animales no infectados. En los establecimientos donde el ordeño ocurre en el mismo establo las vacas sanas deben agruparse y ser ordeñadas en primer lugar. Luego se ordeñan las de estatus desconocido y por último las infectadas. En el caso de los establecimientos

con sala de ordeño separada del establo, el estatus de infección puede usarse para ordeñar las vacas dentro del establo, de tal manera que las vacas infectadas siempre sean ordeñadas en último lugar. Es necesario higienizar en forma manual las unidades de ordeño entre el ordeño de una vaca y la siguiente. Para obtener una adecuada reducción de patógenos las unidades deben ser enjuagadas, expuestas a yodo 25-30 ppm por lo menos 30 segundos, enjuagadas nuevamente y luego dejarlas secar. En los establecimientos con sala de ordeño, el agrupar a las vacas es un elemento importante del desempeño durante el ordeño. Los rendimientos de leche y la duración del ordeño están íntimamente relacionados. Ganancias en rendimientos lácteos en la sala de ordeño han sido relacionados con varias estrategias de agrupamiento. Dividir las vacas en grupos de baja producción de leche y alta producción o en grupos de rápido tiempo de ordeño y lento tiempo de ordeño puede tener gran influencia en la velocidad de duración de todo el ordeño y la cantidad de leche extraída por ordeño. (1, 27)

#### 4.2.1.3 PREPARACIÓN CONSISTENTE DE LA VACA PRE ORDEÑO

Las vacas aman la rutina y recompensarán a los que se la provean. Investigaciones realizadas documentan un incremento en los rendimientos lácteos por lactancia de un 5.5% cuando se usa una rutina de ordeño estandarizada comparada con el empleo de una rutina de ordeño variada. La preparación para el ordeño representa un equilibrio entre velocidad (eficiencia) y el cumplir con los pasos requeridos para limpiar las ubres y estimular la bajada de leche. La leche es almacenada principalmente en el tejido secretorio de la glándula mamaria y la extracción eficiente de la leche se acelera mediante la buena coordinación entre el momento de poner las pezoneras con el momento de la bajada de leche. La bajada de leche se encuentra influenciada por varios factores. Uno de los principales factores está representado por una combinación de oxitocina en conjunto con estímulos de la inervación sensorial local, los cuales estimulan a la musculatura lisa que rodea los alvéolos para dejar pasar la leche dentro de los canales y cisterna láctea de la ubre, lugar donde la leche será ordeñada. En la mayoría de los casos, es adecuado de 10-20

segundos de estimulación manual. El despunte es una práctica que se sustenta como método para estimular la bajada de la leche, eliminar microorganismos que están en la leche de la cisterna y permitir la detección de mastitis clínica. Algunos ordeñadores se resisten al despunte pues implica mas trabajo. El despunte es adecuado si se sacan 2 a 3 chorritos de leche y debe efectuarse antes de la desinfección de la punta de los pezones. En las salas de ordeño el despunte debe efectuarse en tarros o platos para este fin. Las bacterias mas peligrosas se encuentran en la punta del pezón, por lo tanto, la desinfección de la misma es importante para reducir el número de patógenos. Está bien establecido que la desinfección apropiada de la punta puede reducir la cantidad de bacterias en la superficie del pezón en un 75%. La reducción del número de bacterias en la punta de los pezones reduce los casos de mastitis. Se ha demostrado que los menores recuentos de bacterias se logran con el lavado y secado solamente de los pezones. Si las vacas están limpias los pezones pueden ser desinfectados adecuadamente con el uso de selladores antes del ordeño sin ningún lavado adicional. El sellado es mas eficiente en el control de patógenos ambientales y demostró poca efectividad contra los estafilococos coagulasa negativos. Se requiere un tiempo de contacto mínimo de 20-30 segundos para un efecto del sellador de pezones eficiente. El lavado se usa como único método o en conjunto antes del sellado de los pezones. Si se utiliza el lavado deben seguirse los siguientes principios: 1) solo deben lavarse los pezones, 2) debe usarse la menor cantidad de agua posible, 3) los pezones deben secarse completamente de preferencia con toallas desechables. (27)

#### 4.2.1.4 PEZONES SECOS

La parte mas importante de la desinfección de pezones es el completo secado de la punta de los mismos. El secado con el aire no reemplaza el secado manual utilizando toallas o papeles individuales. Los pezones húmedos permiten el fácil acceso de bacterias dentro de la glándula mamaria. Las toallas tienen la ventaja de ser más absorbentes que el papel. Cuando estas se usan diariamente deben ser desinfectadas con cloro o con agua muy caliente y secadas en secadoras automáticas en la temperatura mas alta. Estos métodos han

demostrado que disminuyen el número de patógenos significativamente. Más aún, el uso de guantes de látex por los ordeñadores puede ayudar a disminuir la transferencia de patógenos. Los guantes protegen la piel de los ordeñadores y además reducen la contaminación de los pezones desde la piel de los ordeñadores. Los guantes se pueden cambiar fácilmente entre cada grupo de vacas, reduciendo aún más la transferencia de patógenos (27).

#### 4.2.1.5 ADECUADA COLOCACIÓN DE PEZONERAS

En el caso de ordeño mecánico, un elemento importante de éste paso es el tiempo. El tiempo desde el comienzo de la preparación de la vaca para el ordeño hasta la colocación de la pezonera se conoce como tiempo de preparación. Para maximizar la eficiencia del ordeño, las pezoneras deben colocarse dentro del minuto del comienzo de la estimulación. Es aceptable un rango que va de 45 segundo a 1.5 minutos. Tiempos mayores a los 3 minutos han demostrado que dejan mas leche residual y menores rendimientos lácteos. Si los tiempos fueron los óptimos debe ser visible un flujo de leche importante unos segundos después de colocar las pezoneras. En toda rutina de ordeño debe cuantificarse cuantas vacas serán asignadas a cada operador para su preparación antes de colocar las pezoneras. Éste es un proceso estandarizado. Al colocar las pezoneras, las mismas son llevadas en forma recta hacia el pezón tratando de prevenir la entrada de aire y tratando de colocarlas de tal manera que el peso esté distribuido uniformemente (27).

#### 4.2.1.6 ADECUADA REMOCIÓN DE PEZONERAS

El ordeño esta completo cuando toda la leche disponible ha sido extraída. Cuando no se saca toda la leche se cae en el subordeño; lo contrario, el sobreordeño, ocurre cuando se colocan las pezoneras y no hay flujo de leche. El mayor peligro de subordeñar es el carácter financiero y el de sobreordeñar es el daño en la punta de los pezones lo que puede conducir a una mastitis. La mayoría de los establecimientos con ordeño en establo dependen de la observación y de la experiencia para determinar

cuando el ordeño está completo. Solo una pequeña porción de establecimientos cuenta con un sistema de sacado de pezoneras automático. La sacada manual de las pezoneras debe imitar la sacada automática. El vacío debe cortarse y las cuatro pezoneras ser removidas al unísono. Para verificar si el ordeño ha sido completo o no, se puede ordeñar a mano y ver cuanta leche queda en la vaca después del ordeño mecánico. La leche sobrante que puede ser extraída a mano se denomina rindes de despunte. Se puede considerar que las vacas fueron totalmente ordeñadas si puede extraerse a mano menos de una taza por cuarto después del ordeño. No obstante esta práctica de ordeñar a mano luego del ordeño mecánico no debe efectuarse en forma rutinaria (27).

#### 4.2.1.7 MANEJO DE LAS VACAS POST ORDEÑO

Se han desarrollado antisépticos para el sellado de los pezones post ordeño con el fin de reducir la transmisión de patógenos de mastitis contagiosa. Estos han sido ampliamente aceptados en todas partes del mundo, pues luego del ordeño, el esfínter del pezón permanece abierto aproximadamente treinta minutos y es por ello que, para lograr una rutina de ordeño eficiente también se debe asegurar que las vacas permanezcan paradas al menos este tiempo después de ser ordeñadas. La mayoría de productores proveen alimento fresco para promover dicho comportamiento (27).

#### 4.2.2 MANTENIMIENTO

La finalidad de la refrigeración es conservar la calidad inicial de la leche hasta el momento de su utilización o transformación. En ningún caso puede, por lo tanto, mejorar la calidad de la leche recogida en malas condiciones, pero impide siempre que se agrave la contaminación y es beneficiosa cualquiera que sea la calidad inicial. El equipar a las granjas con aparatos frigoríficos es uno de los más importantes objetivos del plan de modernización de la agricultura. Tras el ordeño, la leche forma en los recipientes una masa tibia cuya temperatura se acerca a los 33° y que se enfría muy lentamente al aire aunque el ambiente sea fresco. La leche del ordeño de la tarde

puede de esta forma permanecer 10 a 12 horas a una temperatura que decrece poco a poco de 33 a unos 20°; es decir, en condiciones muy favorables para la multiplicación de numerosas especies de bacterias mesófilas. Esta multiplicación se produce a una velocidad variable según las leches. En algunos casos, la fase bactericida es clara, y durante algunas horas no aumenta el número de bacterias, o lo hace muy poco; el frío parece prolongar esta fase. En otros casos no se manifiesta, y el número de bacterias se eleva inmediatamente tras la recogida, tanto más rápidamente cuanto más elevada es la temperatura. Es necesario descender rápidamente a una temperatura inferior a 15° para impedir el desarrollo de las bacterias acidificantes mesófilas. Este límite conviene para la recogida diaria de la leche en la granja. La refrigeración debe intervenir desde el momento del ordeño; su eficacia es tanto más grande cuanto más pobre sea la leche en bacterias. El tiempo que transcurre entre la recogida y la utilización de la leche debe tenerse en consideración; cuanto más largo es, más enérgico debe ser el enfriamiento (1, 17, 23).

#### 4.2.3 TRANSPORTE

Los problemas económicos y técnicos, planteados por el transporte de leche, son mas fáciles de resolver cuanto mayor es la densidad de leche. Cuando el número de litros recogidos por kilómetro recorrido es bajo, los transportes son largos, con nefastas consecuencias sobre la calidad de la leche por agitación prolongada y calentamiento en verano. Es preferible que el transporte se realice con la responsabilidad del transformador. El transportista independiente no tiene el mismo interés por la calidad de la mercancía; para él lo que importa sobre todo es la cantidad. El material de recogida debe adaptarse a este sistema. La recogida mediante bidones es el método clásico, prácticamente el único utilizado en algunas regiones. Los bidones de hierro estañado se utilizan mucho todavía, por su buen precio, pero son los menos recomendables por su peso elevado y poca resistencia a los choques, por lo que se deforman y su contenido disminuye, así mismo, el estañado es débil y el hierro puede llegar a ponerse en contacto con la leche. Los bidones de aleaciones de aluminio doblan el precio, pero son más resistentes y ligeros. Los bidones de material plástico (polietileno de baja presión)

se encuentran en el mercado desde hace varios años, son de poco peso, elasticidad y ausencia de juntas en la tapa, el material opaco disminuye el riesgo que presenta la acción fotoquímica de la luz. Se les reprocha su lentitud para los cambios térmicos pues exigen cuatro veces mas tiempo que los bidones metálicos, así mismo se ha observado facilidad para rayarse durante su manejo y limpieza. La recogida mediante bidones presenta la ventaja de permitir la individualización de los suministros hasta la recepción. El control de la leche y la pesada se realizan en el centro de acopio o en la fábrica, lo que facilita la toma de muestras para el pago por calidad.

Se debe enseñar al personal respecto a los cuidados que exigen la manipulación y el transporte de leche; debe poder reconocer por su aspecto y olor, los suministros defectuosos y tener la autoridad necesaria para rechazar leches de mala calidad. La duración del transporte debe ser lo más corta posible, y en verano, debe realizarse rápidamente, antes de las horas de calor. La leche no deberá abandonar el local más fresco de la granja hasta el momento en que se carga para el transporte. La práctica de dejar la leche al borde de la carretera es censurable. (1, 23)

### 4.3 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE Y SUS ALTERACIONES

En la leche cruda pueden encontrarse microorganismos de los diferentes grupos: bacterias, hongos (mohos y levaduras) y virus, los cuales serán descritos brevemente a continuación, de acuerdo a su importancia en la industria láctea (1).

#### 4.3.1 BACTERIAS

Dada las características de la leche cruda, los microorganismos predominantes y que se ven favorecidos para su crecimiento son las bacterias. En la leche se pueden encontrar diversos géneros y especies bacterianas. Aquellas de mayor importancia en la industria láctea son las llamadas bacterias lácticas y las bacterias coliformes (1).

#### 4.3.1.1 BACTERIAS GRAM POSITIVAS

##### 4.3.1.1.1 BACTERIAS LÁCTICAS

Son un grupo de bacterias de diferentes géneros, ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se encuentran en el suelo y en cualquier lugar donde existan altas concentraciones de carbohidratos, proteínas desdobladas, vitaminas y poco oxígeno. Su forma puede ser bacilar, cocoide u ovoide. Algunas tienen forma bífida (*Bifidobacterium*). Soportan pH 4 en leche. Son anaeróbicas facultativas, mesófilas y termófilas y de crecimiento exigente. Pueden ser homofermentativas (más del 90% de su metabolismo resulta en ácido láctico) o heterofermentativas (producen además del ácido láctico, otros ácidos y gases). Los principales géneros de bacterias ácido lácticas son: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragonococcus*, *Alloiococcus* y *Bifidobacterium*. Son importantes pues son formadoras de textura y ayudan al establecimiento de las condiciones para la elaboración de ciertos productos lácteos. Por efecto de la acidez producida por la fermentación de la lactosa, la leche puede llegar a coagular gracias a la coalescencia de las caseínas al alcanzarse el pH iso-eléctrico, lo cual es deseable en la elaboración de yogurt y quesos. En la elaboración de crema y mantequilla una ligera acidificación permite acelerar el proceso y aumentar el rendimiento. Algunas especies producen polisacáridos (gomas, mucina), que aumentan la viscosidad de la leche cambiando su textura (*S. thermophilus*, *Lb. bulgacricus*, *Lc. cremoris*) (1, 16, 26).

- Aportan sabor y aroma, ya que como parte de su metabolismo fermentativo se da la producción de acetaldehído, diacetilo, acetoína, acetona, lactonas, ácidos volátiles, alcohol y gas. El diacetilo es el principal responsable del aroma de la mantequilla. La acetoína lo es en el yogurt, mientras que el ácido láctico aporta sabor a diversos productos fermentados. Además la producción de enzimas que intervienen en el afinado de los quesos por degradación de las proteínas y las grasas afectan notablemente las características organolépticas de los mismos (1, 16, 25).

- Ejercen efecto biopreservador manifestado en la prolongación de la vida útil de los productos elaborados con sus cultivos. Este efecto se lleva a cabo por varios mecanismos: a) ciertas especies producen bacteriocinas (*Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Enterococcus*) las cuales son proteínas que se comportan como antibióticos y que inhiben el crecimiento de bacterias relacionadas con estas; b) con la producción de ácido y descenso del pH se logra la inhibición de otras especies bacterianas y la conservación de los alimentos; c) el efecto biopreservador también se cumple gracias a la competencia por nutrientes que se da entre las diversas especies bacterianas (1).
- Aportan beneficios para la salud de los consumidores, el cual se ha descrito como efecto probiótico. Este puede manifestarse de manera específica en la prevención y reducción de los síntomas en los cuadros diarreicos. Además se le han atribuido a las BAL, efecto preventivo de tumores, anticolesterolémico y modulador del sistema inmunológico (26).

#### 4.3.1.1.2 MICROCOCCOS

En general son aerobias (hay variedades anaerobias); no fermentan la glucosa, sino que la degradan de forma oxidante son provocar mas que un débil descenso del pH (mínimo entre 5.0 y 5.5), forman parte de la flora inocua que contamina la leche cruda. Tienen poca actividad enzimática, por lo tanto son de muy poca importancia como agentes de adulteración en la leche. Sin embargo por ser la flora más abundante en leche cruda y tener cierta capacidad proteolítica pueden llegar a ser causante de alteraciones en leches pasteurizadas mal almacenadas (1).

#### 4.3.1.1.3 ESTAFILOCOCCOS

Son anaerobios facultativos, fuertemente fermentadores de la glucosa con un descenso del pH (hacia 4.3 y 4.5) y productoras de acetoína. Son de gran importancia desde el punto de vista sanitario. Causan mastitis y pueden provocar enfermedades o intoxicaciones en los humanos. *Staphilococcus aureus* produce una exotoxina que causa

fuertes trastornos intestinales en los humanos, ésta es termorresistente, por lo cual no es destruida con la pasteurización. El *Staphylococcus epidermidis* se ve implicado en algunos casos de mastitis, por lo cual puede llegar a contaminar la leche (1, 26).

#### 4.3.1.1.4 BACTERIAS ESPORULADAS (BACILLACEAE)

Son bacterias aeróbicas con actividad enzimática variada; producen acidificación, coagulación y proteólisis. Son las únicas que forman una endospora, que tiene la importante propiedad de resistir temperaturas elevadas, muriendo únicamente por encima de los 100°C. A pesar de su termorresistencia, debida a las esporas, muchas de estas bacterias son mesófilas, es decir, que se desarrollan a unos 30°C y se inhiben a temperaturas superiores a 45°C. Sin embargo, existen especies termófilas, que se desarrollan bien por encima de los 60°C. Las bacterias esporuladas no suelen presentarse en leche cruda y en los productos lácteos que no se han calentado. Los Clostridios son anaerobios estrictos, producen gas. Algunos producen toxinas patógenas (*Clostridium botulinum*). Su crecimiento es inhibido por las bacterias lácticas (1).

#### 4.3.1.1.5 OTRAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS

En la leche fresca también pueden encontrarse otros géneros de bacterias como *Corynebacterium*, bacterias propiónicas y *Brevibacterium*; estos últimos se encuentran en la corteza de algunos quesos madurados almacenados en condiciones húmedas (1).

#### 4.3.1.2 BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

##### 4.3.1.2.1 ENTEROBACTERIAS

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son huéspedes normales del intestino de los mamíferos, por lo tanto su presencia en el agua y la leche se relaciona con contaminación de origen fecal. Las enterobacterias son menos abundantes en la leche que otras bacterias gram negativas, sin embargo, tienen una gran importancia desde dos puntos de vista, el punto de vista higiénico y el punto de vista tecnológico. Tiene importancia desde el punto de vista higiénico ya que varias especies de esta familia son responsables de graves enfermedades infecciosas, que pueden adquirir carácter epidémico y de las cuales la más temible es la *Salmonella*, existen otras que pueden provocar trastornos gastrointestinales (*Yersinia*, *E. Coli*, *Shigella*).

Desde el punto de vista tecnológico la propiedad bioquímica dominante de las enterobacterias es la fermentación de los azúcares con la formación de gas (carbónico e hidrogeno) y ácido, además producen sustancias viscosas y de sabor desagradable, todo lo cual conduce a la alteración de la leche o subproductos. Esta importancia aumenta por la facultad de desarrollarse a muy diferentes temperaturas (10 a 40°C) y por su resistencia a los antibióticos que se encuentran ocasionalmente en leche. En estas condiciones las enterobacterias pueden suplantar a las bacterias lácticas e invadir el medio. El término bacterias coliformes se utiliza para designar a las enterobacterias más frecuentemente encontradas en los productos lácteos y pertenecientes a los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. El recuento de estas bacterias es uno de los medios más significativos para la apreciación de la calidad higiénica de la leche (1, 25).

Puede encontrarse en la leche enterobacterias que no fermentan la lactosa y que son especies inocuas como *Proteus* y *Serratia* pero por su poder proteolítico pueden provocar alteraciones en la leche (1).

#### 4.3.1.2.2 PSEUDOMONAS

La leche contiene frecuentemente bacterias pertenecientes a éste género, transportadas principalmente por aguas impuras. Forman parte de la microflora psicrófila y varias especies tienen un gran poder proteolítico y lipolítico. Además algunas de estas enzimas resisten temperaturas por encima de los 80 °C, por lo cual pueden causar alteraciones aún en productos elaborados con leches pasteurizadas (1, 16).

#### 4.3.1.2.3 ACHROMOBACTERIACEAE

Este grupo de bacterias no fermentan la lactosa, no son proteolíticas ni patógenas, pero representan las bacterias psicrófilas que crecen en las leches conservadas a baja temperaturas, algunas pueden producir sustancias viscosas y pigmentos. Se han definido los géneros *Flavobacterium*, *Alcaligenes* y *Achromobacter* (1).

#### 4.3.1.2.4 BACTERIAS GRAN NEGATIVAS DIVERSAS

Las *Brucellas* son bacterias patógenas para los animales y para el hombre, aunque poco frecuente, pueden llegar a causar cuadros de mastitis. Se destruyen con la pasteurización. A las *Micobacteriaceae*s pertenece la que tiene mayor importancia higiénica siendo este el bacilo tuberculoso, el cual tiene afinidades con los hongos (1, 25).

#### 4.3.2 LEVADURAS

En la leche cruda suelen encontrarse células voluminosas, esféricas y ovaladas, de levaduras no espurulantes que pertenecen al género *Cándida*. Estas levaduras producen gas y poco o nada de alcohol. En las condiciones habituales no se manifiestan en la leche, excepcionalmente son causa de la leche espumosa. También

pueden encontrarse en la leche levaduras esporulantes como *Saccharomyces fragilis* y el *S. lactis* que fermentan la lactosa con producción de alcohol. En diversos productos lácteos las levaduras pueden provocar fermentaciones gaseosas y sabores indeseables; estas alteraciones se presentan frecuentemente en las cremas de granja y en las cuajadas frescas de quesería; encontrándose como causa corriente a *Torulopsis sphaerica* (25).

#### 4.3.3 MOHOS

No tienen importancia práctica en la leche líquida pero si son de importancia en la mayor parte de productos lácteos, pues se desarrollan en la superficie y en las partes en contacto con el aire. Las levaduras al igual que los mohos son de poca importancia en la leche líquida y son fácilmente destruidos a temperaturas de pasteurización (25).

#### 4.3.4 VIRUS

La leche se puede contaminar con los virus causantes de la Fiebre Aftosa y Estomatitis Vesicular entre otros. Los más importantes para la industria láctea son los Bacteriófagos, virus que infectan a las bacterias produciendo su muerte, por lo cual pueden afectar la producción de derivados lácteos causando lisis de los cultivos añadidos para la producción de sabor y aroma (25).

#### 4.3.5 FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS

Una vez que los microorganismos han alcanzado la leche comienza un periodo de adaptación de estos al medio circundante, la duración de este periodo así como la capacidad para multiplicarse esta condicionada al efecto de varios factores, dentro de los cuales tenemos factores intrínsecos, extrínsecos e implícitos (18).

#### 4.3.5.1 FACTORES INTRÍNSECOS

Son aquellos que tienen que ver con el alimento en sí, su composición y características. Dentro de este grupo tenemos:

- pH: la gran mayoría de bacterias y hongos crecen a pH cercano a la neutralidad. El pH de la leche normal se encuentra entre 6.5 a 6.7, ligeramente ácido, esto favorece el crecimiento de una flora microbiana diversa. Sin embargo son las bacterias y de ellas, el grupo de las ácido lácticas las que se ven favorecidas para crecer en la leche a pH normal (18, 25).
- Actividad del agua ( $a_w$ ): como actividad de agua se conoce la cantidad de agua libre disponible para el crecimiento microbiano y para los procesos químicos y enzimáticos. En los alimentos no toda el agua se encuentra en estado libre, una parte se puede encontrar ligada a las proteínas o formando parte de otros compuestos. El 87,5 % de la leche esta constituido por agua, una parte esta ligada a las caseínas y una mayor se encuentra en estado libre. La actividad de  $a_w$  de la leche esta estimada en 0,99, la del agua pura es 1,00. Los microorganismos así como todos los seres vivos necesitan presencia de agua para la mayoría de los procesos metabólicos. Sin embargo debido a la excesiva humedad de la leche algunos mohos y levaduras se les dificulta la multiplicación, de allí que sean considerados de mayor importancia en productos lácteos deshidratados que en leche fluida (18, 25).
- Potencial de Óxido-Reducción (Redox, Eh): el potencial redox de los alimentos esta determinado por la presencia de elementos reductores (que ganan oxígeno o pierden electrones) y oxidante (que pierden oxígeno o ganan electrones). El Eh puede tener valores positivos, cuando la sustancia o el alimento se comporta como oxidante o negativos cuando se comporta como reductor. El oxígeno disuelto en la leche contribuye a que la misma posea un Eh de +250 a +350 mV (milivoltios). Los microorganismos al multiplicarse, debido a su metabolismo liberan electrones y

consumen oxígeno, lo cual hace que el Eh disminuya. En medios no “bufferados” una pequeña parte de microorganismos ( $10^5$  /g) pueden causar cambios en el potencial, en cambio en alimentos bien amortiguados una población mayor ( $10^8$ /g ) apenas modificará el Eh. Según las necesidades de oxígeno los microorganismos se clasifican en:

- a. Aerobios Estrictos: los que necesitan oxígeno para desarrollarse, no se multiplican en ambientes anaeróbicos. Ejemplos: *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, mohos.
- b. Anaerobios Facultativos: Son microorganismos que pueden crecer en presencia o ausencia de oxígeno. Ejemplo: *Enterobacterias*, *Staphilococcus*.
- c. Anaerobios Estrictos: microorganismos que solo crecen en ausencia de oxígeno. Ejemplos: *Clostridium*, *Propionibacterium*
- d. Microaerófilos: aquellos que para crecer necesitan solo una pequeña fracción de oxígeno en la atmósfera. Ejemplos: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*

Por lo general en ciertos alimentos el desarrollo inicial de los microorganismos es aeróbico y posteriormente al reducirse el Eh comienza el desarrollo de los anaeróbicos. En la leche las bacterias ácido lácticas se consiguen en abundancia y por ser varias de ellas anaerobias facultativas, pueden desarrollarse en ambos ambientes (25).

- Contenido de Nutrientes: en la leche se encuentran gran variedad de vitaminas, además por poseer azúcares fácilmente fermentables, citratos, grasas y proteínas aportan un medio enriquecido para el crecimiento de microorganismo. Sin embargo es válido notar que se encuentran pocos aminoácidos libres y péptidos de bajo peso molecular, de allí que las bacterias que no posean la capacidad de sintetizar enzimas proteolíticas se verán en mayor dificultad para crecer. Pero en la leche se dan diversa asociaciones de microorganismos que mediante relaciones

simbióticas logran desarrollarse en el medio. Algunas de estas asociaciones se aprovecha para la elaboración de productos lácteos, como ejemplo se puede citar el yogurt, donde se da una simbiosis entre el *Streptococcus* y el *Lactobacillus* (25).

- Componentes y Sistemas antimicrobianos de la leche: en la leche se encuentran diversos sistemas antimicrobianos que pueden proteger a la glándula contra infecciones y a la leche de la contaminación. Desgraciadamente la protección es limitada y de poca duración posterior al ordeño. Entre estos sistemas tenemos:

a. Lactoferrina: es una glicoproteína que tiene la propiedad de unirse al hierro, similar a la transferrina de la sangre. Se encuentra en altas concentraciones en la leche de los animales que no se ordeñan y en la de aquellos afectados por mastitis. Inhibe la multiplicación de las bacterias al privarlas del hierro y puede proteger a la ubre seca de la infección por *Escherichia coli*. Se ha demostrado que altas concentraciones de citrato y bajas de bicarbonato reducen su capacidad de unión con el hierro, disminuyendo por lo tanto su acción inhibitoria. La concentración de lactoferrina esta correlacionada positivamente con el número de PMN, ya que ésta es derivada de estas células durante la inflamación de la ubre. Además la acción de la lactoferrina es acelerada por la presencia de lisozima, derivada también de los PMN. En leche de búfala se han encontrado concentraciones de 0,320 mg/mL, mayores a la reportadas en leche de vaca (0,200 mg/mL). Actualmente se estudian derivados de lactoferrina bovina (apo-lactoferrina, holo-lactoferrina, lactoferrina B) con el fin de utilizarlas como biopreservadores en alimentos.

b. Inmunoglobulinas: en la leche se pueden encontrar anticuerpos que llegan desde el torrente sanguíneo (Ig G) o bien sintetizados en la glándula mamaria (Ig A), cuya función es proteger al recién nacido por transferencia pasiva (inmunización pasiva). Pero también actúan a nivel local para evitar o reducir la severidad de las mastitis, causada por gérmenes susceptibles al sistema complemento-anticuerpo que opera en la glándula. Además pueden neutralizar

toxinas o actuar como opsoninas para facilitar la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares.

c. Sistema Lactoperoxidasa – Tiocianato - Peróxido de hidrógeno (LP): la lactoperoxidasa es un enzima que se sintetiza en la ubre y está presente en altas concentraciones en la leche de vaca. Puede llegar a representar el 1% de las proteínas totales de esta. El tiocianato se encuentra en diferentes concentraciones dependiendo principalmente de la alimentación del animal; se ha reportado valores de 5,9 a 8,94 mg/L en leche cruda de búfala y de 1,2 a 14,5 mg/L en leche de vaca. El peróxido de hidrógeno, procede de los microorganismos que producen esta sustancia, (ejemplo los estreptococos) y de los PMN. El sistema LP, destruye los microorganismos por oxidación de sus sistemas enzimáticos, actuando como sustrato el peroxido de hidrógeno y como cofactor el tiocianato. Este sistema antimicrobiano solo inhibe temporalmente ciertas bacterias (estreptococos del grupo B y N), aunque tiene poder bactericida sobre otras. Bacterias catalasa positiva, Gram negativos como *Pseudomonas*, *Coliformes*, *Salmonella* y *Shigella*, son inhibidas por el sistema. La letalidad depende del pH, temperatura, tiempo de incubación y densidad celular. La activación del sistema LP puede incrementar la vida útil de la leche por inhibición microbiana, mejorar la calidad microbiológica de la leche al ofrecer un efecto bacteriostático sobre la flora láctea y un efecto bactericida sobre coliformes.

d. Aglutininas: son anticuerpos capaces de aglutinar las bacterias sensibles de una manera específica, formando masas agrupadas que son arrastradas a la superficie por los glóbulos grasos o se depositan en el fondo en la leche desnatada. El resultado es una verdadera inhibición por separación física. Son activas sobre un gran número de estreptococos lácticos y lactobacilos. También actúan sobre enterobacterias. Son más abundantes en el calostro. Se destruyen fácilmente con el calentamiento sobre los 60 °C.

e. Fagocitosis: el principal mecanismo de defensa de la ubre lo constituyen los fagocitos polimorfonucleares (PMN). Una ubre sana puede excretar de 100.000 a 500.000 células por mL, de las cuales el 10% son PMN. En una ubre enferma, el número de células puede llegar a 10.000.000 por mL, siendo el 90 % PMN. La fagocitosis y la destrucción de bacterias por los PMN es menos eficiente en la leche que en la sangre, debido principalmente a que los mismos ingieren grandes cantidades de grasa y caseína, razón por la cual la ubre puede llegar a ser fácilmente infectada, aún con un pequeño número de patógenos.

f. Otros sistemas antimicrobianos descritos en la leche pero que aun no se conoce su modo de acción o bien son de menor importancia son la Vitamina B12, cierto factor descrito en vacas cercanas al secado. La lisozima enzima que se encuentra en mayor abundancia en la leche de madres humanas se encuentra en cantidades trazas en la leche de vaca y tiene la propiedad de producir la lisis de las bacterias (1, 25).

#### 4.3.5.2 FACTORES EXTRÍNSECOS

Son aquellos que tienen que ver con el ambiente donde se almacenan los alimentos. Entre ellos tenemos:

- Temperatura: no todos los microorganismos crecen a la misma temperatura. Según la temperatura óptima de crecimiento se pueden distinguir tres grupos: los mesófilos, los psicrófilos y los termófilos. Al grupo de las bacterias Mesófilas pertenece la mayoría de la flora que se encuentra con mayor frecuencia en la leche, principalmente las bacterias lácticas. Bacterias Psicrófilas son las que crecen a temperaturas de refrigeración. Son bacterias psicrófilas los miembros del genero *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*. Bacterias Termófilas son aquellas que crecen bien a temperaturas entre 45 a 55 °C, en este grupo están el *Lactobacillus bulgaricus*, *L. fermenti*, *L. Lactis*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *Streptococcus termophilus*. Otro grupo que merece

ser descrito lo constituyen las Bacterias Termodúricas que son bacterias en su mayoría mesófilas que resisten temperaturas de pasteurización; algunas de ellas son termófilas. Se encuentran en este grupo los *Micrococcus*, *Microbacterium*, Esporas de *Bacillus* y *Clostridium*. Los microorganismos psicrotrofos y los termotrofos, son microorganismos mesófilos pero que igualmente pueden crecer a temperaturas bajas o altas, respectivamente. La temperatura a la cual se encuentra la leche después del ordeño favorece la rápida multiplicación microbiana. La mayor proporción de la flora bacteriana presente, son microorganismos mesófilos, es por ello que la inmediata refrigeración a temperaturas de 4 a 5 °C se hace fundamental para asegurar la calidad de la leche. Pero su almacenamiento no debe ser prolongado (máximo 24 horas) ya que entonces se favorecería el aumento en número de la flora psicrotrofa. Cuando la leche no vaya a ser procesada el mismo día de recepción debe ser sometida a un proceso de terminación (1, 26).

- Humedad relativa: la humedad de la atmósfera influye en la humedad de las capas superficiales de los alimentos en almacenamiento. En leche fluida no juega un papel importante, contrario al que puede jugar en quesos en almacenamiento o en cavas de maduración (26).
- Gases Atmosféricos: al igual que la humedad relativa, los gases atmosféricos no influyen marcadamente en la calidad microbiológica de la leche cruda, salvo que la misma sea sometida a procesos de agitación fuerte donde el oxígeno del aire pueda ser incorporado al alimento y favorecer el crecimiento microbiano aeróbico. Este factor debe ser considerado en el almacenamiento de ciertos derivados lácteos los cuales pueden verse alterados por una alta presión de oxígeno en la atmósfera (leche en polvo, leche evaporada, quesos, etc.) (26).

#### 4.3.5.3 FACTORES IMPLÍCITOS

Dentro de los factores implícitos se describen los relacionados directamente con las especies microbianas, su metabolismo y las relaciones que establecen. No todas las bacterias tienen la capacidad de crecer en la leche, aún cuando encuentren condiciones óptimas. Esto es debido al estado como se encuentran los diferentes componentes. Por ejemplo, no todas las especies tienen la capacidad de metabolizar la lactosa, si no que necesitan que esta este hidrolizada para así poder utilizar la glucosa o galactosa. De manera que aquellas que estén capacitadas para producir las enzimas necesarias se verán más favorecidas en crecer. Así mismo pasa con las proteínas, muchos microorganismos no tienen poder proteolítico, por lo que dependen de otros que metabolizan las proteínas y así poder utilizar las aminoácidos libres. De esa manera en la leche y productos lácteos se pueden observar varios ejemplos de relaciones simbióticas, siendo la más destacada la que se da entre el *Streptococcus thermophilus* y el *Lactobacillus bulgaricus*, durante la elaboración del yogurt. En estos el primero se favorece de la capacidad proteolítica del segundo, a la vez que este incrementa su desarrollo a medida que el estreptococo produce ácido fórmico y baja el pH de la leche (25).

#### 4.3.6 ALTERACIONES MICROBIOLÓGICAS EN LA LECHE

La leche posee una gran cantidad de alimentos energéticos en forma de azúcares de leche (lactosa), de grasa y de citrato, y de compuestos nitrogenados de distinta naturaleza. Los alimentos nitrogenados se encuentran en numerosas formas como proteínas, aminoácidos, amoníaco, urea y otras sustancias; y en forma de nutrientes accesorios y de sales minerales necesarias para los microorganismos. Por poseer azúcares fermentescibles, en condiciones ordinarias lo que más frecuentemente ocurre es una fermentación ácida por bacterias; aunque si las condiciones no son favorables para las bacterias acidificantes o si éstas no se encuentran en la leche, es posible que en ella tengan lugar otros cambios o alteraciones. Tales alteraciones son las siguientes:

#### 4.3.6.1 AGRIADO O FORMACIÓN DE ÁCIDO

Cuando la leche se agria o acidifica suele considerarse alterada, sobre todo si cuaja. La formación de ácido se manifiesta inicialmente por el olor agrio y la coagulación de la leche, que produce una cuajada de consistencia gelatinosa o más débil, que libera un suero claro. La fermentación ácido láctica tiene lugar en general cuando se abandona la leche cruda durante algún tiempo a temperatura ambiente. Los gérmenes lácticos causantes de esta fermentación pueden ser homofermentativos que producen casi exclusivamente ácido láctico y cantidades mínimas de otras sustancias, o heterofermentativos, que producen además de ácido láctico, cantidades apreciables de productos volátiles. El agriado de la leche cruda a temperaturas entre 10 y 37 °C es generalmente causado por el *Streptococcus lactis*, ayudado quizá por coliformes, micrococos, lactobacilos y enterococos. Las bacterias termófilas crecen a temperaturas superiores a éstas (entre 37 y 50°C), y se destacan el *Bacillus calidolactis*, y *Lactobacillus thermophilus*. Algunos lactobacillos son capaces de crecer en la leche a temperaturas superiores a los 50°C aunque producen menor cantidad de ácido. Las bacterias termófilas como *L. thermophilus*, son capaces de crecer a temperaturas todavía mas elevadas. A temperaturas próximas a la congelación (0°C), tiene lugar una escasa producción de ácido, pero la leche puede sufrir procesos proteolíticos (escisión de las cadenas proteicas). Los gérmenes lácticos no son los únicos capaces de provocar la fermentación ácida de la leche; pueden producirla muchos otros, especialmente si las condiciones no son favorables a las bacterias ácido lácticas. Entre los gérmenes capaces de acidificar la leche, fundamentalmente por producir ácido láctico, se encuentran diversas especies de los géneros *micrococcus*, *microbacterium* y *bacillus*, pero en general ordinariamente son incapaces de competir con los gérmenes lácticos. Diversas especies del género *clostridium* producen ácido butírico en condiciones que impiden o inhiben la formación normal de ácido láctico. La leche, sometida a un tratamiento térmico capaz de destruir todas las formas bacterianas pero no los esporos de *clostridium*, puede sufrir la fermentación acidobutírica con formación de hidrógeno y dióxido de carbono. El agriado de la leche por las bacterias favorece el

subsiguiente desarrollo de las levaduras que se multiplican y actúan mejor en un medio ácido (1, 16).

#### 4.3.6.2 PRODUCCIÓN DE GAS

La producción de gas por las bacterias va siempre acompañada de la formación de ácido. Las especies formadoras de gases más importantes son las del género clostridium, las bacterias coliformes, los aerobacilos (especies del género bacillus formadoras de gas) que liberan tanto hidrógeno como dióxido de carbono y las levaduras y las bacterias propiónicas y lácticas heterofermentativas que producen sólo dióxido de carbono.

La probabilidad de que se produzca gas o no y el tipo de microorganismos que lo originan depende del tratamiento a que previamente se haya sometido la leche y de la temperatura a la que se mantenga. En la leche cruda, a temperaturas comprendidas entre la de la sangre y la del hielo, los gérmenes productores de gas con más probabilidad de multiplicarse son los coliformes porque pueden competir bien con otros formadores de ácido. También es posible que las bacterias lácticas heterofermentativas produzcan gas, aunque generalmente no lo producen en suficiente cantidad como para que se pueda ver en la leche. Las levaduras que fermentan la lactosa suelen faltar en la leche o encontrarse en ella en escasa cantidad, y de aquí que no compiten bien con las bacterias. A temperaturas elevadas, las especies de los géneros clostridium y bacillus no compiten bien con las bacterias productoras de gas, aunque es posible que actúen si en la leche no existen bacterias productoras de gas o si se trata de bacterias relativamente inactivas. Por lo tanto, en la leche que ha sido sometida a calentamiento a las temperaturas que se emplean para pasteurizarla, o a temperaturas superiores, las principales bacterias productoras de gas serán destruidas, las esporas de las especies de los géneros clostridium y bacillus sobrevivirán, y es posible que tenga lugar la producción de gas por parte de especies esporágenas. Las bacterias que producen ácido propiónico no son activas en la leche, aunque, en el queso producen dióxido de carbono (16).

La producción de gas en la leche se pone de manifiesto por la aparición de espuma en la superficie si la leche es líquida y está supersaturada de gas, por la existencia de burbujas de gas atrapadas en la cuajada o formando surcos en la misma, por la formación de cuajada flotante que contiene burbujas, o por la rotura de la cuajada gracias a la rápida producción de gas que origina la denominada fermentación tumultuosa de la leche (16).

#### 4.3.6.3 PROTEÓLISIS

La hidrólisis de las proteínas lácticas por acción microbiana se acompaña en general de la producción de un sabor amargo producido por algunos polipéptidos liberados. La proteólisis es favorecida por el almacenamiento a temperaturas bajas, por la destrucción por el calor de las bacterias lácticas y de otras bacterias productoras de gas, y por la destrucción del ácido producido en la leche por los mohos y por las levaduras formadoras de película, o por la neutralización de los ácidos por los productos del metabolismo de otros microorganismos. Las alteraciones producidas por los microorganismos proteolíticos son:

- Proteólisis Ácida, en la que se dan al mismo tiempo la producción de ácido y la proteólisis. Este tipo de proteólisis origina la producción de una cuajada que se retrae y libera gran cantidad de suero. Esta fase va seguida de la digestión lenta de la cuajada, la cual cambia de aspecto para transformarse de opaca en translúcida, y es posible que sea disuelta totalmente por ciertos tipos de bacterias. A veces se forman partículas de cuajada separadas que se retraen tanto que apenas son visibles en la gran cantidad de suero. La proteólisis ácida puede ser producida por varias especies del género *micrococcus*, algunas de las cuales crecen en la ubre de la vaca y producen proteólisis de la leche ordeñada asépticamente. Uno de los estreptococos intestinales, el *S. faecalis* var. *liquefaciens* es un microorganismo productor de ácido láctico muy proteolítico. Lo mismo que los demás enterococos, es termodúrico y de aquí que puede originar la proteólisis ácida en la leche pasteurizada.

- Proteólisis con acidez mínima o incluso con alcalinidad. La proteólisis llevada a cabo por bacterias incapaces de fermentar la lactosa varía, de acuerdo con la bacteria de que se trate, desde la clara digestión de la caseína a un ligera proteólisis que solamente puede ser detectada mediante pruebas químicas. De hecho, la mayoría de estas bacterias producen una escasa acidez, si es que la producen y con el tiempo, la leche se suele volver básica como consecuencia de los productos resultantes de la descomposición de las proteínas.
- La coagulación dulce o leche cortada (coagulación con escasa producción de ácido) producida por enzimas bacterianas parecidas a la renina en primera fase de la proteólisis. Muchas bacterias producen ésta coagulación de la leche antes de digerir la caseína, así otras hidrolizan la proteína tan rápidamente que el coágulo no es visible y, por último, queda un líquido bastante transparente en el que no hay resto alguno ni de caseína ni de coágulo. A la especie *Bacillus cereus* se le ha atribuido la producción de la coagulación dulce de la leche pasteurizada. Esta causa de alteración está siendo mas corriente en la leche debido a que cada vez se emplean temperaturas de pasteurización mas elevadas, a la capacidad psicrótrofa de algunos bacilos y a que se conserva o se tiene almacenada durante mas tiempo. La coagulación suele iniciar en el fondo del envase y es posible que en sus primeras fases incluso pase desapercibida al consumidor.
- Proteólisis Lenta por enzimas intracelulares de las bacterias liberadas después de su autólisis. Este tipo de proteólisis carece de importancia en la leche en circunstancias normales, pero la posee cuando las bacterias disponen de una cantidad considerable de tiempo para actuar como en productos lácteos que tienen una vida comercial prolongada.
- La actividad proteolítica residual de las proteinasas termoestables.

Las bacterias muy proteolíticas se encuentran entre las especies de los géneros *micrococcus*, *alcalígenes*, *pseudomonas*, *proteus*, *achromobacter*, *flavobacterium* y *serratia*, todos los cuales son géneros asporógenos, y en las de los géneros esporógenos *Clostridium* y *Bacillus*. Algunas especies de *micrococcus*, *alcalígenes*, *pseudomonas*, *flavobacterium* y *Bacillus* son capaces de crecer a temperaturas bajas y, por lo tanto, es probable que produzcan cierto grado de proteólisis y/o amargor en la leche que se conserva a temperaturas de refrigeración (16).

#### 4.3.6.4 VISCOSIDAD

La viscosidad de origen bacteriano es producida por la sustancia mucosa de la cápsula de las bacterias, generalmente gomas o mucinas, y normalmente se suele presentar en leche que se conserva a temperaturas bajas. La viscosidad suele disminuir conforme aumenta la acidez de la leche o de la nata. Existen dos tipos principales de viscosidad de origen bacteriano; en uno de ellos la leche es más viscosa en la parte superior, es originada con mayor frecuencia por *Alcalígenes viscolactis*, el cual procede principalmente del agua o del suelo que es capaz de crecer bastante bien a temperaturas próximas a 10°C. Algunos micrococcos termodúricos como el *Micrococcus fraudenreichii* también tiene la capacidad de producir viscosidad superficial. En el otro tipo de viscosidad bacteriana, la leche presenta viscosidad en toda la masa líquida. Puede ser producida por *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Kleibsellia oxytoca*, y rara vez por *Escherichia coli*. La viscosidad por *Enterobacter* suele ser peor cuando aparece próxima a la superficie de la leche. Ciertas cepas de algunas de las especies corrientes de bacterias lácticas como *Streptococcus lactis* var. *hollandicus* produce viscosidad y en Escandinavia se utiliza en la elaboración de una leche fermentada. *Lactobacillus casei*, *L. bulgaris* y *L. plantarum* a veces producen viscosidad, al igual que la producen algunas cepas de *Streptococcus cremoris*. La mayoría de estas bacterias lácticas son capaces de crecer formando cadenas largas, propiedad que se supone contribuye a la formación de filamentos en la leche. Puesto que las bacterias que producen la viscosidad de la leche proceden del agua, del

estiércol, de los utensilios y de los piensos, la reducción o la supresión de la contaminación debida a estas fuentes contribuye a evitar la aparición de la viscosidad. La conveniente pasteurización de la leche destruye con facilidad la mayoría de las especies de bacterias citadas.

La viscosidad o mucosidad de origen no bacteriano es posible que sea debida a la formación de fibras originadas por la mastitis y concretamente por la fibrina y por los leucocitos de la sangre de la vaca (contrario de lo que sucede en la viscosidad producida por bacterias, aparece en el momento de ser ordeñada la leche, y no se presenta durante su almacenamiento). También es posible que se deba a la mucosidad resultante del espesor de la capa de nata o por la aparición de filamentos como consecuencia de la existencia de finas películas de caseína o de lactoalbúmina durante el enfriamiento de la leche, fenómeno que a veces se observa en la superficie de los refrigeradores. Se trata sólo de un efecto temporal (16).

#### 4.3.6.5 ALTERACIÓN DE LA GRASA DE LA LECHE

La grasa de la leche puede ser descompuesta por diferentes bacterias, levaduras y mohos que no constituyen grupos definidos si se tienen en cuenta otras características. Las bacterias son en su mayor parte aerobias o facultativas, proteolíticas y no producen ácido. Puede producirse una Oxidación de los ácidos grasos no saturados, la cual, junto con otras descomposiciones, da lugar a aldehídos, ácidos y cetonas y produce olores y sabores a sebo. Los metales, la luz solar, y los microorganismos oxidantes favorecen las reacciones de oxidación. La hidrólisis de la grasa de la leche a ácidos grasos y glicerol por la lipasa. Es posible que la lipasa estuviese ya inicialmente en la leche o puede tener procedencia bacteriana. Y puede darse la oxidación e hidrólisis combinadas para originar rancidez. Entre las especies bacterianas productoras de lipasas se encuentran muchos géneros como *Pseudomonas*, *Proteus*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, etc. Muchos mohos y algunas especies de levaduras tienen actividad lipolítica. *Pseudomonas fragii*

y *Staphylococcus aureus* elaboran lipasas bastante termorresistentes, las cuales, si se encuentran en la leche fresca, es posible que resistan la pasteurización (16).

#### 4.3.6.6 PRODUCCIÓN DE ÁLCALIS

El grupo de los microorganismos que producen álcalis incluye bacterias que originan una reacción alcalina sin signos de proteólisis. La reacción alcalina puede ser debida a la formación de amoníaco a partir de la urea, de carbonatos o de ácidos como el ácido cítrico. La mayoría de estas bacterias crecen a temperaturas que varían desde medianamente elevadas a bajas, y muchas son capaces de resistir la pasteurización. *Pseudomonas fluorescens* y *A. viscolactis* son bacterias que pueden producir álcalis (16).

#### 4.3.6.7 ALTERACIÓN DEL SABOR

La leche recién ordeñada tiene un sabor débil, ligero y se modifica con facilidad. La leche recién ordeñada puede tener un sabor normal debido a las características propias de la vaca, a que ésta padece mastitis, a la fase de la lactación en que se encuentra o a la alimentación que recibe. Pero pueden definirse algunos sabores anormales producidos por microorganismos.

- Sabor agrio o ácido. La acidez producida por *Streptococcus lactis* y por otras bacterias lácticas se puede definir como neta y aromática, cuando crecen juntos *Streptococcus* lácticos y especies de *Lueconostoc* productoras de aroma, estos son deseables en los productos lácteos fermentados. Puede definirse como penetrante cuando las bacterias coliformes, las especies de *Clostridium* y otros microorganismos producen importantes cantidades de ácidos grasos volátiles (fórmico, acético y butírico), los sabores penetrantes son indeseables.

- Sabor amargo. Suele ser debido a la proteólisis, aunque también puede ser debido a la lipólisis e incluso a la fermentación de la lactosa. La leche de vacas que se encuentran en las últimas fases de su periodo de lactación tiene a veces un ligero sabor amargo. Bacterias proteolíticas proporcionan sabor amargo a la leche, así como ciertas cepas de bacterias coliformes y de levaduras asporógenas. Algunos cocos proporcionan a la leche un sabor muy amargo, y a veces los actinomicetos le confieren un sabor amargo enmohecido.
- Sabor a socarrado o a azúcar quemado. Producen este sabor, que recuerda el de la leche cocida o sobrecalentada, ciertas cepas de *Streptococcus lactis var. maltigenes*.
- Otros sabores. El sabor a establo producido por *Enterobacter oxytocum*; sabor a jabón debido a bacterias que producen amoníaco como *Pseudomonas sapolactica*; un sabor parecido al de los nabos, producido por *Escherichia coli* y *Pseudomonas fluorescens*; sabor a malta, producido por los micrococos amarillos de la ubre; sabor a frutas, debido a *P. fragi*; un sabor parecido al de las papas, producido por *P. mucidolens*; sabor a pescado debido a *Aeromonas hydrophyla* o a varios cocos que producen trimetilamina a partir de lecitina; los sabores a tierra o a enmohecido debido a actinomicetos; sabor parecido al de los ésteres y a alcohol, producido por levaduras; el sabor a alcohol amílico, producido por los micrococos blancos y anaranjados; y el sabor a putrefacto, producido por especies de *Clostridium*, por *P. putrefaciens* y por otras bacterias de la putrefacción (1, 16)

#### 4.3.6.8 ALTERACIÓN DEL OLOR

La leche fresca que no ha sido enfriada convenientemente y que ha sido mantenida en un recipiente cerrado herméticamente, de modo que los productos volátiles del metabolismo bacteriano se han acumulado en la superficie, desprenden un olor desagradable que varía en cuanto a su naturaleza. A la leche que presenta estas características se le denomina sofocada (16).

#### 4.3.6.9 ALTERACIÓN DEL COLOR

El color de la leche está influido tanto por sus propiedades físicas como por su composición química, como puede ser la cantidad de pigmento amarillo de la grasa de la leche, la poca consistencia de la leche, su contenido de sangre o pus y la alimentación que recibe la vaca. Las alteraciones del color debidas a microorganismos se pueden dar junto con las alteraciones citadas anteriormente. El color de la leche puede ser debido a que en su superficie crecen formando espuma o un anillo bacterias o mohos que elaboran pigmentos, o el color puede afectar a toda la masa de la leche.

- Leche azul. Cuando se encuentra en la leche en cultivo puro, *Pseudomonas syncyanea* le confiere un color que varía de gris azulado a parduzco, pero cuando crece en la misma junto con una bacteria productora de ácido, como *Streptococcus lactis*, le confiere una coloración azul intensa. Tanto este defecto como el color azul debido al crecimiento de antinomicetos o al crecimiento de algunas especies de mohos del género *Geotrichum*, son raros.
- Leche amarilla. *Pseudomonas synxantha* puede producir una coloración amarilla a la capa de la nata de leche, coincidente con la lipólisis y con la proteolisis. Algunas especies del género *Flavobacterium* también pueden conferir a la leche esta coloración.

- Leche roja. Esta coloración suele ser debida a especies del género *Serratia* como *Serratia marcescens*, aunque es rara debido a que las demás bacterias crecen mas que las especies que producen el pigmento rojo. *Brevibacterium erythrogenes* produce una capa de color rojo en la superficie de la leche, seguida de proteólisis. Es posible que crezca *Micrococcus roseus* y produzca un sedimento rojo, y existe una levadura que puede producir colonias de color rosa o rojo en la superficie de la leche o de la nata agrias. La presencia de sangre en la leche también confiere color rojo.
- Leche parda. Este color puede ser consecuencia del crecimiento de *Pseudomonas putrefaciens* o ser debida a la oxidación enzimática de la tirosina por *P. fluorescens* (16).

#### 4.4 CONTAMINACIÓN DE LA LECHE

La leche es un producto biológico obtenido de animales y por lo tanto, plantea problemas de origen en su contaminación, ya que a la salida de la glándula mamaria este producto trae microorganismos que condicionan su posterior manejo. Así mismo, constituye un excelente medio de cultivo para determinados organismos, sobre todo para las bacterias mesófilas y, dentro de éstas, las patógenas, cuya multiplicación depende principalmente de la temperatura y de la presencia de otros microorganismos competitivos o de sus metabolitos. A lo anterior, debe sumarse la contaminación producida durante el manejo en el ordeño, transporte y elaboración, proceso donde la leche tiene contacto con muchas personas. (20)

Así, la presencia de un gran número de especies microbianas en la leche es un hecho comprobado, pero ello no significa que todas puedan desarrollarse en dicho medio. Para cierto número de especies banales o patógenas, la leche es un vehículo ocasional; no se desarrollan mejor en este líquido que en el agua, la cual puede igualmente servir de medio de transporte. Los microorganismos que se encuentran en

la leche pueden tener dos orígenes. Estos son de origen mamario o endógeno y origen externo o exógeno (contaminación durante y después del ordeño) (1).

#### 4.4.1 CONTAMINACIÓN ENDÓGENA

En el caso de que la glándula mamaria se encuentre sana, y aún tomándose rigurosas precauciones de asepsia, se reconoce que las primeras porciones de leche ordeñada contienen microorganismos, disminuyendo su número a medida que el ordeño avanza. Esto se debe a que el canal del pezón se encuentra colonizado por muchos microorganismos. Esta población originaria de la mama sana es, en general, poco numerosa en la leche en el momento del ordeño; raramente rebasa los 1000 mo/ml. Al principio del ordeño, la leche lava y expulsa de los conductos los microorganismos pero a pesar de que el volumen de la primera leche, mas rica en microorganismos, sea escaso y no tenga más que poca influencia sobre el contenido microbiano del conjunto del ordeño, generalmente se recomienda eliminarlo. Esta contaminación, en el caso del ordeño mecánico, se ve acrecentada por el reflujo producido por la ordeñadora de tipo convencional, arrastrando con esto los microorganismos hacia el interior de la ubre (1, 20).

La penetración microbiana en la mama tiene lugar de dos formas. La primera es por vía ascendente, a través del canal del pezón; es la vía más frecuentemente seguida por los microorganismos inocuos y algunos patógenos. La segunda vía es la por la circulación sanguínea como ocurre con el *Mycobacterium tuberculosis* (*Tuberculosis*) y *Brucella abortus* (*Brucelosis*) (1).

#### 4.4.2 CONTAMINACIÓN EXÓGENA

Ésta forma de contaminación suele ser masiva en relación con la de origen mamario; su importancia es extremadamente variable según las condiciones de producción y conservación de la leche. Los principales orígenes de contaminación son el ambiente, el estado del animal, el estado del ordeñador, los utensilios y máquinas, y

la calidad de agua. En cuanto al ambiente se refiere, la atmósfera está siempre mas o menos cargada de microorganismos procedentes de excremento, heno y alimento. Es común en la parte externa de la ubre y pezones, encontrar estiércol, barro, paja u otros residuos de la cama del animal. Los alimentos groseros (heno) y la paja aportan sobre todo bacterias esporuladas como los bacilos y clostridios. Los ensilados aportan bacterias butíricas perjudiciales para la quesería y las excretas son ricas en bacterias variadas y constituyen la principal fuente de enterobacterias nocivas como *Escherichia coli*. Si bien la flora microbiana del interior de la ubre es casi en su totalidad, de tipo mesófilo, en el exterior se suman microorganismos psicrófilos y termófilos, de los cuales los formadores de esporas antes mencionados, tanto aerobios como anaerobios, provocan serios problemas a la industria (1,20)

El estado del animal se refiere a la suciedad que se encuentra en la leche procedente frecuentemente de la caída, en el momento del ordeño, de partículas de excremento, tierra, vegetales y cama, adheridos a la piel del animal, así como también pelos y células epiteliales. Todas estas partículas transportan bacterias, que de esta manera ingresan a la leche, sobre todo durante el ordeño manual y con el uso de recipientes de gran abertura. Cuando el animal está limpio, si se lava la mama con solución antiséptica y se inmoviliza la cola, la reducción de esta contaminación es notable. Las partículas de estiércol se disuelven mucho mejor en la leche tibia que en el agua; al disolverse liberan colonias de bacterias. Sin embargo, esta dispersión no es inmediata, motivo por el cual se aconseja filtrar la leche en un recipiente cerrado lo antes posible tras el ordeño (en caso de ordeño manual en el establo). Así mismo, animales enfermos (vacas con mastitis), aumentan el número de microorganismos en leche. Una vaca padeciendo de mastitis clínica puede producir una leche con 10<sup>7</sup> bacterias/ml y si es subclínica de 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> bacterias/ml. *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae* y *Str. uberis* son bacterias comúnmente asociadas a cuadros de mastitis. Igualmente, aunque poco frecuente, pueden causar mastitis *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Pasteurella*, *Proteus*, *Serratia*. Uno de los microorganismos más frecuentemente causante de mastitis es el *Staphylococcus aureus*, el cual además es resistente al tratamiento antibiótico común y es capaz de

producir una enterotoxina, que por su termo-resistencia no es destruida en la pasteurización, pudiendo llegar a causar enfermedad en el consumidor (1).

El estado del ordeñador depende de si éste está sucio, con ropa cargada de polvo o suciedad, ya que es una causa más de contaminación, cuya naturaleza es semejante a las precedentes. Así mismo, es preciso tener en cuenta la salud del ordeñador, pues se ha comprobado frecuentemente en la leche la presencia de bacterias patógenas de origen humano (1).

Los utensilios y máquinas son habitualmente la fuente de contaminación más importante. Son millares las bacterias que pueden existir sobre las paredes de los utensilios lecheros mal lavados y mal secados, dentro de estos podemos mencionar bacterias de la microflora psicrófila; bacterias lácticas, bacterias del grupo *Escherichia*, *Aerobacter*, etc. La ordeñadora mecánica mal lavada es una fuente importante de contaminación. Durante la época de introducción de estas máquinas en las granjas, las condiciones de su empleo no estaban bien definidas y la leche obtenida mediante ordeño mecánico solía estar más contaminada que la obtenida a mano. Observar estrictamente las reglas de limpieza y esterilización de las máquinas permite obtener una leche de excelente calidad bacteriológica, ya que prácticamente se encuentra fuera de la atmósfera de los establos (1, 26).

La calidad del agua tiene gran importancia; las aguas impuras empleadas en el lavado de los recipientes y de las máquinas pueden ser la causa de contaminaciones muy perjudiciales, sobre todo para la crema y la mantequilla. El agua utilizada en la industria lechera debe ser potable (1).

#### 4.4.2.1 CONTAMINACIÓN POR DETERGENTES E HIGIENIZANTES

El uso de detergentes y desinfectantes se ha hecho imprescindible en las explotaciones lecheras para evitar la proliferación de microorganismos en las superficies que entran en contacto directo con la leche, en las operaciones de ordeño,

manipulación y almacenamiento de la misma, y es por ello que los compuestos usados tienen la oportunidad de llegar directamente a la leche. Los desinfectantes resultan elementos imprescindibles para el control de la contaminación microbiana de equipos de ordeño y tanques de almacenamiento. Es posible que estos compuestos lleguen a la leche durante el ordeño o luego de éste, por efecto de su empleo en el baño de pezones o contaminación del equipo que se produce cuando no se enjuaga correctamente luego de la limpieza y desinfección. (20)

#### 4.4.2.2 CONTAMINACIÓN POR PESTICIDAS

Los pesticidas son un conjunto de compuestos químicos que se emplean en el combate de plagas o de parásitos en las explotaciones agropecuarias o en la industrialización de productos. La llegada de pesticidas desde el ambiente a la leche puede producirse por diferentes vías como en la lucha contra parásitos en salas de ordeño y dependencias anexas, pudiendo quedar en el equipo de ordeño y paredes contaminadas así como tratamientos directos al animal. (20)

#### 4.5 MASTITIS

Mastitis es la inflamación de la glándula mamaria caracterizada por un incremento del recuento de células somáticas (RCS) en la leche y por cambios patológicos en los tejidos mamarios.

Es producida por diferentes tipos de agresiones incluyendo agentes infecciosos, traumas físicos e irritantes químicos pero la causa más importante es la invasión y multiplicación bacteriana, la cual causa daños a las células secretoras y reduce la síntesis de la lactosa, grasa y proteína (26).

La mastitis puede ser definida como clínica cuando se presenta con signos y síntomas observables como inflamación de uno o más cuartos de la ubre, calor y dolor

al contacto y cambios macroscópicos en la leche. La sola presencia de cambios macroscópicos en la leche sin la observación de signos en la ubre también se define como mastitis clínica. En el caso de la mastitis subclínica no se presentan signos o síntomas observables y por lo general el animal, la ubre y la leche aparentan ser normales. Así tenemos que, tanto infecciones clínicas o subclínicas también aumentan la permeabilidad de las membranas celulares permitiendo el paso de componentes de la sangre hacia la leche reduciendo aún más la producción y la calidad (3, 26).

Desde el punto de vista económico la mastitis es una de las enfermedades más importantes de la vaca lechera. Se estima que como media, un cuarto afectado provoca una reducción en la producción de un 30 % y que una vaca enferma pierde el 15% de su producción para la lactación en curso. Aproximadamente el 75 % de las pérdidas económicas de la mastitis subclínica se atribuyen a la disminución de producción láctea. Otras pérdidas provocadas por esta enfermedad incluyen descarte de leche, costo de medicamentos, honorarios veterinarios, trabajo extra, porcentajes mayores de sacrificio y de reposición que conducen a la pérdida de potencial genético (3).

La detección de la mastitis subclínica puede hacerse mediante la prueba de California de Mastitis (CMT) (21).

#### 4.6 PRUEBA CALIFORNIA DE MASTITIS (CMT)

Esta es una prueba tamiz para la detección de mastitis subclínica, la cual posee gran importancia práctica, ya que permite el diagnóstico de campo rápido y sin muchas exigencias técnicas, es económica y puede realizarse al pie de la vaca detectando en forma indirecta el aumento de células somáticas en la leche, pues el principio activo reacciona con el ADN celular y la clasificación ordinal de su grado de respuesta se relaciona ampliamente con la concentración de las células en leche (3, 15).

Para la realización de la prueba se utiliza una muestra de leche (2 cc aprox.) a la cual se le adiciona igual volumen de un reactivo compuesto por un detergente aniónico (alquil-aril-sulfato) que provoca la liberación de ADN de las células presentes, y este se convierte, en combinación con agentes proteicos de la leche en un compuesto gelatinoso. A mayor presencia de células, se libera una mayor concentración de ADN por lo cual será mayor la formación de gelatina, traduciéndose en la lectura e interpretación de los resultados, como el grado mas elevado de inflamación. Además posee un colorante (púrpura de bromocresol) que indica cambios de pH ocurridos en la leche, a raíz de la inflamación. Así a más intensidad en la coloración mayor el grado de infección (21).

Normalmente en vacas sin mastitis se da un recuento celular bajo ( $\leq 100,000$  células/ml de leche) en el cual el porcentaje de células epiteliales es significativamente superior al de leucocitos. El recuento y la proporción varían sustancialmente en casos de procesos inflamatorios agudos (mastitis clínica) y sin evidencia clínica (mastitis subclínica). Según la reacción observada, se clasifica la mastitis subclínica en:

- Trazas, cuando se observa una ligera formación viscosa, que se visualiza mejor al mover la paleta de un lado a otro; cuyo recuento de células somáticas en leche se sitúa entre 150.000 y 500.000/ml.
- Grado 1, cuando hay una clara formación viscosa inmediatamente después de realizada la mezcla; encontrándose de 500.000 a 1.500.000/ml células somáticas.
- Grado 2, cuando además de una clara solución viscosa el líquido forma una masa periférica y queda expuesto el fondo de la paleta; aquí puede encontrarse de 1.500.000 a 5.000.000/ml.

- Grado 3 cuando se presenta una distintiva viscosidad y al mover la paleta la superficie de la solución se vuelve convexa o adquiere forma de cúpula. El recuento de células somáticas esta por encima de 5.000.000/ml.

Los altos recuentos celulares alteran la calidad de la leche en dos sentidos, dentro de la glándula mamaria alterando la síntesis y en el almacenamiento por la continua actividad proteolítica y lipolítica de las células inflamatorias, especialmente de los neutrófilos y la actividad de la plasmina, la cual no es inactivada con la pasteurización (4, 14, 21).

Es importante esperar 20 días después del parto para la realización de la prueba, ya que, antes de éste tiempo se pueden obtener falsos positivos y es conveniente no realizarla después de los 250 días de lactación. Si entre estas dos fecha se realiza una prueba mensual, se tendrá una idea precisa del estado sanitario de las hembras en lactación. Si no es posible hacerlos a menudo, dos fechas importantes serían a los 20 días posparto y antes de la monta o inseminación. Este sistema de diagnóstico es muy importante en las hembras primerizas para vigilar que no se comience la infección e ir limpiando el hato. En las vacas adultas hay que vigilar sistemáticamente el hato para detectar las infecciones silentes que están infectando al resto del hato además de tener la producción reducida. En las lecherías donde se cuenta con un tanque de enfriamiento, es aconsejable hacer primero un análisis de la leche para evaluar el estado sanitario del hato, ya que la valoración será siempre relativa a este dato.

La determinación del grado de reacción a la prueba de California constituye un criterio válido para indicar una situación de emergencia de mastitis subclínica en un hato, que corresponde a su vez con la incidencia de patógenos de alto riesgo (15, 21).

La sensibilidad de la prueba de California es la habilidad para detectar la presencia de una infección intramamaria y es calculado como la proporción de cuartos que tiene una infección intramamaria y una prueba de California positiva. La especificidad de la prueba es la habilidad para detectar cuartos que no tienen una

infección intramamaria y es calculado como la proporción de cuartos no infectados con una reacción negativa a la prueba de California. En combinación, estas dos características describen que tan bien la prueba de California de mastitis puede discriminar entre cuartos no infectados e infectados (21).

La prueba de California de mastitis posee más de un 75% de detectabilidad de mastitis subclínica, aunque esta prueba presenta algunas limitaciones, siendo una de las primeras fuentes de error, la propia variación de interpretación de una misma prueba por diferentes analistas, a lo que se unen factores que influyen en la lectura, tales como el tiempo que debe tomarse para la lectura después de unir el reactivo con la leche, la homogenización de las muestras, el tiempo recorrido desde la toma a su análisis y la calidad del reactivo (4, 21).

#### 4.7 NORMATIVA

En el intento por garantizar la inocuidad de la leche para el consumo de ésta por parte de la población, se han realizado varias normas que regulan distintos aspectos en cuanto a la obtención, mantenimiento, manejo y transporte hasta llegar al centro de acopio y/o planta de procesamiento, y calidad microbiológica, entre otros.

Así, la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) cuenta con normas aplicables a la leche, dentro de las cuales encontramos:

- COGUANOR NGO 34 040:97 en ésta se definen las características que debe reunir la leche de vaca sin pasteurizar y las normas que se aplican a la leche cruda de vaca destinada a las plantas pasteurizadoras y procesadoras, así como, la destinada al consumo humano (8).
- COGUANOR NGO 34 046 h23 establece el método para la determinación de bacterias coliformes y *Escherichia coli* en la leche y productos lácteos (10).

- COGUANOR NGO 34 046 h25 se establece y describe el método para detección y recuento de *Staphylococcus aureus* en la leche y productos lácteos (11).
- COGUANOR NGO 34 235 establece los procedimientos para la limpieza y desinfección de las plantas de ordeño y el equipo usado en la misma (9).
- COGUANOR NGO 34 243 establece el procedimiento para aplicar la metodología del sistema de análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP) con la finalidad de garantizar la inocuidad de los alimentos (7).

El Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) promulgó los siguientes acuerdos:

- Acuerdo Gubernativo No. 147-2002 dentro del cual se establece la calidad higiénica de la leche o escala de análisis microbiológico basándose en el número de unidades formadoras de colonial por mililitro (UFC/ml).
- Acuerdo Ministerial No. 427-2005 donde se establecen los requisitos que deben cumplirse para la obtención de la licencia sanitaria de funcionamiento de salas de ordeño, centros de acopio y medios de transporte de leche cruda.

El Codex Alimentarius cuenta con normas y códigos aplicados a la leche y productos lácteos, dentro de los cuales encontramos:

- Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos CAC/RCP 57-2004, el cual orienta al cumplimiento de los requisitos generales, previstos en las secciones de higiene de las normas del Codex para los productos lácteos (5).

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 MATERIALES

#### RECURSOS HUMANOS

- Estudiante
- Tres asesores
- Personal finca a visitar

#### DE CAMPO

- Kit de CMT (California Mastitis Test)
- Pizeta
- Agua destilada
- Cucharón de acero inoxidable (60 cm)
- Bolsas herméticas estériles para alimentos (Ziploc)
- Papel desechable
- Hielo
- Hielera
- Cloro
- Detergente
- Fibra limpiadora
- Cubeta de 15 litros
- Guantes de latex
- Bolsas de basura

#### BIOLÓGICOS

- Leche
- Vacas

## CENTRO DE REFERENCIA

- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAC).
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAC).
- Internet

## 5.2 MÉTODOS

### 5.2.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Éste es un estudio descriptivo de corte transversal en el que se determinó los puntos de contaminación de la leche de los productores de San José Pinula que cumplieron con los criterios de inclusión.

#### 5.2.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Productor de leche del municipio de San José Pinula.

Miembro de la Cooperativa Integral de Productos Lácteos (COOPELAC).

Miembro de la Cámara de Productores de Leche de Guatemala (CPLG).

Anuente a participar en el estudio.

#### 5.2.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Productor de leche no miembro de COOPELAC.

Productor de leche no miembro de CPLG.

Procedimiento:

Para la realización de ésta investigación se tomaron 7 fincas cuyos propietarios son miembros activos de COOPELAC y de la CPLG. Dichas fincas cumplen con los criterios

de inclusión y se encuentran en San José Pinula en las aldeas El Colorado, El Sombrerito y El Zapote.

La investigación se dividió en dos partes.

## 5.2.2 RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN

Es la primera parte, realizándose a través de una comunicación directa con el productor y observación general del proceso. El medio por el cual se obtuvo la información es una ficha de datos, la cual está dividida en cuatro áreas de investigación. Estas áreas son Salud del Hato, Ordeño, Almacenamiento y Transporte, ya que éstas, son puntos donde puede ocurrir la contaminación de la leche, convirtiéndose en punto crítico. (Anexo 1)

## 5.2.3 PRUEBA DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS

La segunda parte de la investigación es la parte práctica, la cual, se basó en la realización de una prueba de campo (CMT) y toma de muestras de leche y agua.

### 5.2.3.1 PRUEBA DE CAMPO

Se procedió a muestrear a las vacas que estaban en ordeño. La prueba realizada es una prueba tamiz para la detección de mastitis subclínica llamada prueba California de mastitis o CMT por sus siglas en inglés (California Mastitis Test). Esta prueba sirvió para determinar la salud de la ubre. La prueba se realizó después de desechar los primeros chorros de leche para iniciar el ordeño, depositando un chorro o dos en la paleta y añadiendo igual cantidad de reactivo. Se mezcló con movimientos circulares y no sobrepasando los 20 segundos. Luego de realizar la lectura, la paleta se lavó con agua destilada por medio de una pizeta para poder ser utilizada en el siguiente animal. (Anexo 2)

### 5.2.3.2 TOMA DE MUESTRAS DE LECHE

Las muestras fueron tomadas en los siguientes momentos:

Post ordeño

Post almacenamiento y

Post transporte.

Todas las muestras se tomaron a partir de los recipientes en los que fue depositada. La muestra post transporte se tomó al llegar al centro de acopio. La cantidad de leche que constituyó cada muestra fué de 150 ml. Para la toma de muestras se utilizó un cucharón de acero inoxidable, el cual fue proporcionado por la cooperativa. Éste se desinfectó y se secó con toallas desechables para no alterar la leche. Al introducir el cucharón, la leche fue homogenizada con movimientos circulares ascendentes y descendentes. La muestra obtenida con el cucharón se depositó en bolsas para alimentos (zip loc), teniendo el cuidado de no tocar el interior de la misma y por lo cual también se utilizaron guantes desechables. Estas muestras fueron debidamente identificadas y colocadas en una hielera para su posterior transporte al Laboratorio. (Anexo 3)

A las muestras de leche obtenidas en los puntos antes mencionados se les hizo un recuento bacteriano total y determinación de presencia de Coliformes, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* para lo cual se hicieron siembras en Agar para recuento (Plate Count), Caldo Lactosado Biliado Verde Brillante (B.G.B.L.), Agar Levine y Agar Baird Parker en el laboratorio de Microbiología de la Facultad. Los resultados obtenidos sirvieron para determinar en cuál de los puntos hubo aumento, se mantuvo o bajó la cantidad de bacterias para observar el desarrollo de la curvatura de producción y luego comparar los resultados del laboratorio con los datos obtenidos de la recopilación de información de la primera fase.

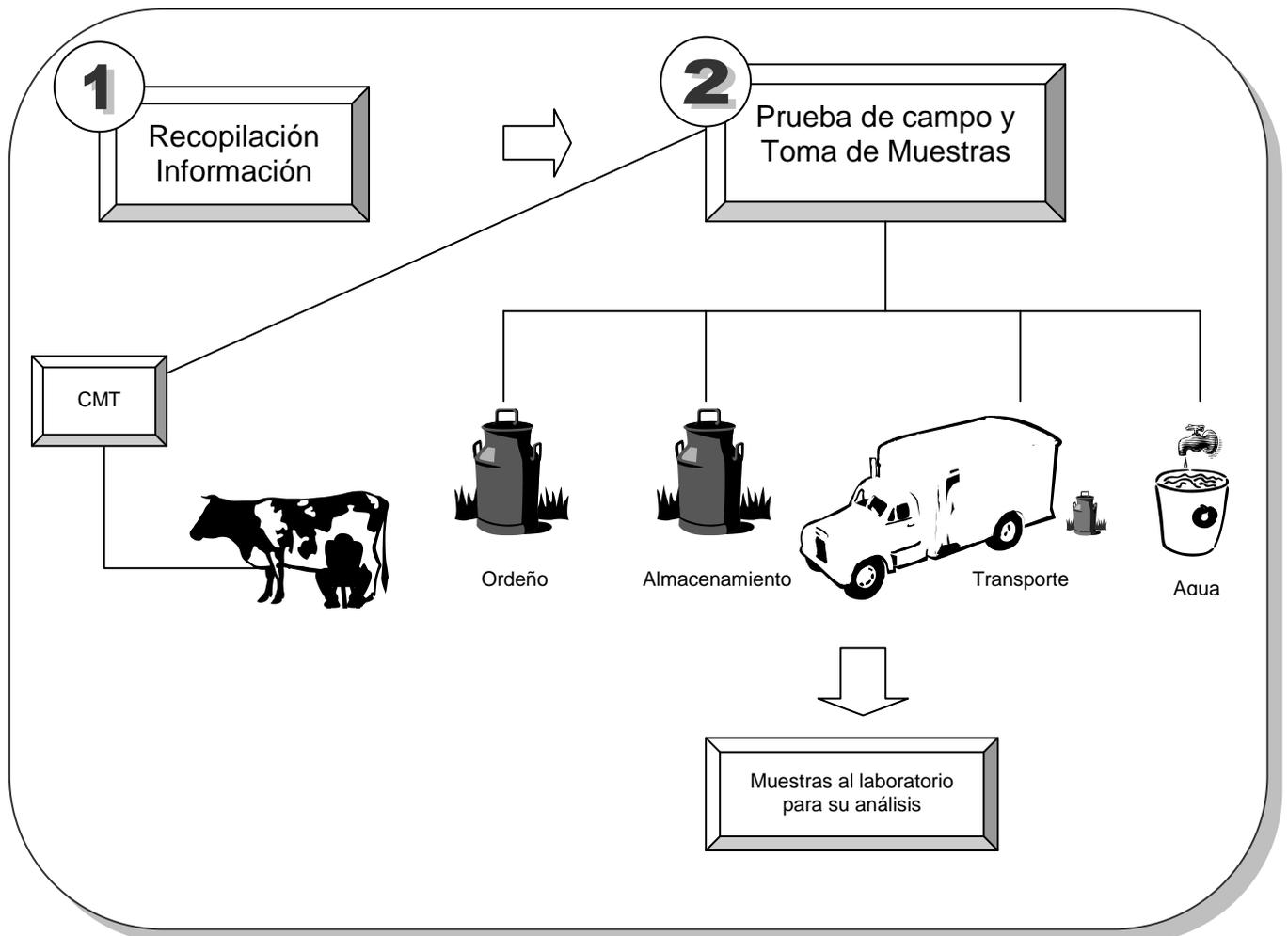
La recopilación de información y la toma de muestras de cada finca se inició con el ordeño de la mañana y las muestras fueron llevadas el mismo día al laboratorio para

evitar crecimiento bacteriano adicional, aunque las muestras se conservaron a una temperatura de 4°C de acuerdo al manejo de la cadena fría.

### 5.2.3.3 TOMA DE MUESTRA DE AGUA

Para complementar el estudio se corrió una prueba al agua del lugar con el propósito de determinar la calidad microbiológica de la misma, la cual, fue realizada por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad. El análisis realizado fue la determinación de presencia de coliformes específicamente *Escherichia coli* en agua a través de siembra de la muestra en caldo Lauril Sulfato y prueba de Indol a través de la adición de reactivo de Kovac. Esta prueba es importante para determinar si el agua utilizada durante todo el proceso es uno de los factores que puede estar contaminando la leche del área a investigar. (Anexo 4)

Flujograma del proceso de investigación:



#### 5.2.3.4 PROCESO DE LABORATORIO

Examen bacteriológico de la leche (Método de recuento en placa): se preparan placas de petri estériles con 20 ml de agar para recuento (Plate Count). Luego se toman 5 tubos con 9 ml de agua destilada o agua peptonada, los cuales corresponderán a las diluciones de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Se toma 1 ml de leche y se añade al primer tubo con diluyente para obtener la dilución 1:10 ( $10^{-1}$ ). A partir de la dilución anterior se agrega 1 ml al tubo 2 y se agita, repitiendo éste procedimiento hasta llegar al tubo 5. A partir de las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  se toma 1 ml y se siembra por inundación en el agar Plate Count previamente identificadas con la dilución correspondiente. Se homogeniza adecuadamente la siembra dejándola reposar por 40 minutos aproximadamente o hasta que el inóculo sea absorbido. Llevando las placas a incubación por 24 a 48 horas a  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Transcurrido el tiempo de incubación se procede a realizar el conteo de las colonias en aquellas placas donde aparezcan perfectamente aisladas, este conteo se realiza a través del contador de Québec, haciendo el análisis matemático correspondiente, tomando el número de colonias contadas multiplicado por el factor de dilución de la placa, lo cual proporcionará el recuento total en 0.1 mililitros. La cifra obtenida multiplicada por 10 expresa el recuento por mililitro de leche. El resultado obtenido se reporta en UFC/ ml.

Detección y recuento de bacterias coliformes en leche (recuento de Enterobacterias lactosa positivas en medio líquido): se preparan tres series de tres tubos cada una, conteniendo caldo lactosado biliado verde brillante (B.G.B.L), con campana de Durham. A cada uno de los tubos de la primera serie (prueba presuntiva), se le añade 1 ml de la dilución de leche al 1:10. A cada uno de los tubos de la segunda serie (prueba confirmativa), se les añade 1 ml de la dilución al 1:100. A cada uno de los tubos de la tercera serie (prueba complementaria), se les añade 1 ml de la dilución al 1:1000.

La lectura consiste en observar si se ha producido desprendimiento de gas, por lo menos en 1/10 del volumen de la campana de Durham, como consecuencia de la

fermentación de la lactosa con producción de gas. En caso afirmativo, el resultado es positivo. Con los resultados obtenidos se acude a las Tablas del Número Más Probable (NMP). Éstos resultados se expresarán como número de coliformes por mililitro de leche.

Detección y recuento de *Escherichia coli* a partir de Enterobacterias positivas (coliformes) en leche obtenidas en medio líquido: con asa de cultivo, se subcultivan todos los tubos positivos obtenidos en la detección de Enterobacterias lactosa positivas en tubos conteniendo 10 ml de caldo lactosado biliado verde brillante (B.G.B.L) con campana Durham. Se incuban los tubos en baño maría regulado a  $44.5 \pm 0.5$  °C durante 24 a 48 horas. Cualquier tubo que presente gas se considera *E. coli* presuntamente positivo. Para su confirmación se siembran todos los tubos positivos (gas en campana) sobre agar Levine, de tal forma que se obtengan colonias aisladas.

Examen bacteriológico de la leche (*Staphylococcus* en Agar Baird Parker): se preparan placas de petri estériles con 20 ml de agar Baird Parker. Luego se toman 5 tubos con 9 ml de agua destilada o agua peptonada, los cuales corresponderán a las diluciones de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Se toma 1 ml de leche y se añade al primer tubo con diluyente para obtener la dilución 1:10 ( $10^{-1}$ ). A partir de la dilución anterior se agrega 1 ml al tubo 2 y se agita, repitiendo éste procedimiento hasta llegar al tubo 5. A partir de las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  se toma 1 ml y se siembra por inundación en el agar Baird Parker previamente identificadas con la dilución correspondiente. Se homogeniza adecuadamente la siembra dejándola reposar por 40 minutos aproximadamente o hasta que el inóculo sea absorbido. Llevando las placas a incubación por 24 a 48 horas a  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Transcurrido el tiempo de incubación se procede a realizar el conteo de las colonias en aquellas placas donde aparezcan perfectamente aisladas, este conteo se realiza a través del contador de Québec, haciendo el análisis matemático correspondiente, tomando el número de colonias contadas multiplicado por el factor de dilución de la placa, lo cual proporcionará el recuento total en 0.1 mililitros. La cifra obtenida multiplicada por 10 expresa el recuento por mililitro de leche. El resultado obtenido se reporta en UFC/ ml.

Examen bacteriológico del agua en caldo Lauril Sulfato: se preparan 3 series de tres tubos conteniendo 10 ml de caldo lauril sulfato con campana de Durham. Se toman 10 ml de la muestra de agua a analizar colocándose esta cantidad en cada uno de los tubos de la primera serie, luego se toma 1 ml de la muestra y se siembra esta cantidad en cada uno de los tubos de la segunda serie de tubos y por último se toman 0.1 ml de la muestra y se coloca esta cantidad en cada uno de los tubos de la tercera serie. Luego de realiza la siembra, los tubos se incuban a 37°C por 24 horas. Se realiza la lectura de cada tubo observando si existe turbidez con presencia de gas, si es así se toma como positivo, aquellos tubos que no presenten gas en la campana de Durham se toman como negativos. La lectura es realizada por medio de la tabla de NMP/100 ml con lo cual se obtienen los resultados. A través de una lámpara de luz fluorescente (Lámpara de Woods) en un área oscura se aplica la luz a los tubos y a aquellos que presenten fluorescencia se realiza la prueba de Indol para confirmar la presencia de *E. coli*. Ésta se realiza agregando unas gotas del reactivo de Kovac. Si se forma un anillo color cereza la reacción es positiva lo cual indica que el agua tiene presencia de *E. coli* y si el anillo formado es de color amarillo significa que es indol negativo lo cual indica que el agua contiene coliformes.

#### 5.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando estadística descriptiva y presentados a través de:

- Cuadros
- Gráficas

Así mismo, se obtuvo la Prevalencia para los casos de mastitis subclínica diagnosticados a través de la prueba California de mastitis.

Fórmula:

$$\frac{\text{No. de casos}}{\text{Población expuesta}} \times 100$$

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1.1 DETERMINACIÓN DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE (UFC) EN EL DESARROLLO DE LA CADENA DE PRODUCCIÓN

El **ordeño** es un Punto Crítico de Control, pues al observar todo éste proceso se determinó que los productores no implementan adecuadamente las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO), siendo reflejo de esto el recuento bacteriano y las especies determinadas en los cultivos, las cuales sirven como indicadores de malas prácticas de higiene y manejo.

El **mantenimiento** es un Punto Crítico de Control, ya que 85.71% de las fincas no enfría la leche posterior al ordeño, siendo ésta práctica indispensable para la conservación de la calidad microbiológica de la leche y para el cumplimiento de la Norma COGUANOR NGO 34 040 (1ª revisión), que indica que ésta debe ser enfriada a 4.5°C inmediatamente después de su obtención.

El **transporte** es un Punto Crítico de Control pues en el 100% de los casos, la leche es transportada en un vehículo de uso general que no cumple con las especificaciones del Acuerdo Ministerial No. 427-2005. Este indica que el vehículo para transporte de leche debe estar provisto de una estructura que proteja el producto de cualquier fuente de contaminación y de los rayos solares, y construido con material impermeable y de superficies lisas de fácil limpieza y desinfección.

### 6.1.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA LECHE

En la finca No.1 el RBT inicial o de ordeño (tiempo aprox. 2 hrs. 15 min.) fue de 210,000 UFC/ml siendo una cantidad aceptable, pues en el Acuerdo Gubernativo No.147-2002 se considera leche tipo A aquellas con un recuento menor a 400,000 UFC/ml. Pero si las vacas se encuentran sanas, el equipo para el ordeño se encuentra

limpio y la refrigeración es adecuada, este recuento no debería superar las 5,000 UFC/ml. En el mantenimiento (tiempo aprox. 15 min.) el recuento fue de 120,000 UFC/ml dándose una disminución de la carga bacteriana, lo cual no es considerado un comportamiento lógico de las bacterias; indicándonos la posible adición de químicos (por lo general peróxido de hidrógeno) a la leche. En la muestra tomada del transporte (tiempo aprox. 10 min.), el recuento bacteriano fue de 150,000 UFC/ml, aumentando la cantidad de bacterias, lo cual en base a lo ocurrido en el mantenimiento indicaría que la cantidad de químico adicionada no fue suficiente para controlar la carga bacteriana. La prevalencia de mastitis subclínica por medio de CMT en ésta finca es de 30.19%, pues en ésta lechería es en la única que se utiliza un sellador posterior al ordeño de las vacas, pero aquellas que tienen mastitis no son ordeñas de último; dando lugar a la transmisión de agentes contagiosos a aquellas que se encuentran sanas. (Ver Anexo cuadro No.2 y No.5, gráfico No. 14 y No.15)

En la finca No.2 el RBT inicial o de ordeño (tiempo aprox. 1 hr. 15 min.) fue de 18,000 UFC/ml siendo una cantidad aceptable en base al Acuerdo Gubernativo No.147-2002 considerándose leche tipo A, no concordando con las pruebas de mastitis, pues en esta finca hay una prevalencia de 59.68% de mastitis subclínica y ésta es uno de los factores que producen recuentos bacterianos altos. Así mismo, la leche no es enfriada inmediatamente después del ordeño ni en ninguna de sus etapas, indicándonos con esto la posible adición de un químico. En el mantenimiento (tiempo aprox. 1 hr. 15 min.) el recuento fue de 20,000 UFC/ml dándose un aumento de la carga bacteriana, lo cual supone pérdida de efecto del químico usado. En la muestra tomada del transporte (tiempo aprox. 10 min.), el recuento bacteriano fue de 19,000 UFC/ml, disminuyendo la cantidad de bacterias, lo cual no es un comportamiento normal de las bacterias y dando la idea de una nueva adición química por parte del transportista. (Ver Anexo cuadro No.2 y No.6, gráfico No. 14 y No.16)

En la finca No.3 el RBT inicial o de ordeño (tiempo aprox. 1 hr. 45 min.) fue de 240,000 UFC/ml siendo una cantidad aceptable según los requerimientos del Acuerdo

Gubernativo No.147-2002 pero en el mantenimiento (tiempo aprox. 1 hr. 55 min.), el recuento fue de 60,000 UFC/ml dándose una disminución considerable de la carga bacteriana igualmente indicándonos la posible adición de químicos a la leche. En la muestra tomada del transporte (tiempo aprox. 1 hrs. 05 min.), el recuento bacteriano fue de 2,000,000 UFC/ml, aumentando de forma drástica la cantidad de bacterias, lo cual en base a lo ocurrido en el mantenimiento indicaría nuevamente que la cantidad de químico adicionada no fue suficiente para controlar la carga bacteriana. La prevalencia de mastitis subclínica por medio de CMT en ésta finca es de 33.33%, siendo ésta una de las probables causas para el recuento inicial así como el hecho de no contar con una sala de ordeño como tal. (Ver Anexo cuadro No.2 y No.7, gráfico No. 14 y No.17)

En la finca No.4 el RBT inicial o de ordeño (tiempo aprox. 2 hrs. 30 min.) fue de 150,000 UFC/ml siendo una cantidad aceptable según en el Acuerdo Gubernativo No.147-2002 pero en el mantenimiento (tiempo aprox. 1 hr. 50 min.) el recuento disminuyó a 100,000 UFC/ml y continuó descendiendo hasta 4,500 UFC/ml en el transporte (tiempo aprox. 20 min.), lo cual indica la posible utilización de un aditivo químico con la variante que la cantidad empleada en este caso por el productor fue suficiente para controlar la carga bacteriana. La prevalencia de mastitis subclínica en ésta finca es de 52.94% contribuyendo así al recuento bacteriano inicial. (Ver Anexo cuadro No.2 y No.8, gráfico No. 14 y No.18)

En la finca No.5 el RBT inicial o de ordeño (tiempo aprox. 1 hr. 20 min.) fue de 8,000 UFC/ml siendo una carga bacteriana muy buena pero que al compararla con la prevalencia de mastitis subclínica de 56.25% y con las BPO, no concuerda. Ésta leche no cuenta con ningún proceso de enfriamiento después del ordeño ni en ninguna de sus etapas, indicándonos con esto la posible adición de un químico que no fue suficiente para conservar la carga bacteriana pues en el mantenimiento el recuento llegó a 28,000 UFC/ml que a la hora del transporte (tiempo aprox. 40 min.) fue controlado por el encargado de esta actividad. El recuento bacteriano para esta última etapa fue de 0 UFC/ml haciendo de esta leche un líquido estéril, lo cual es imposible para las

condiciones en las cuales es obtenida. (Ver Anexo cuadro No.2 y No.9, gráfico No. 14 y No.19)

En la finca No.6 el RBT inicial o de ordeño (tiempo aprox. 2 hrs. 25 min.) fue de 2,000,000 UFC/ml siendo una leche tipo C (1,000,000 - 2,000,000 UFC/ml) y que en base a éste recuento puede estar sujeta a descuentos del precio base. Este recuento inicial tan elevado puede deberse al hecho de ser la única con ordeño mecánico pero que no realiza una limpieza adecuada de la máquina, permitiendo la multiplicación de las bacterias en los restos de leche y la contaminación de la leche al entrar en contacto con las superficies de ésta. Así mismo, algunas de las pezoneras estaban en mal estado, factor que contribuye al recuento inicial y a la prevalencia de mastitis encontrada. Esta prevalencia es de 52.94% y la cual continuará en aumento ya que las vacas no son ordeñadas según su estatus de salud. Para el mantenimiento (tiempo aprox. 45 min.) el recuento aumentó a 2,400,000 UFC/ml hasta llegar a las 2,500,000 UFC/ml en el transporte (tiempo aprox. 35 min.), presentando un comportamiento esperado para las bacterias en un medio nutritivo como la leche y no teniendo un proceso de enfriamiento que impida la multiplicación bacteriana. (Ver Anexo cuadro No.2 y No.10, gráfico No. 14 y No.20)

En la finca No.7 el RBT inicial o de ordeño (tiempo aprox. 2 hrs. 15 min.) fue de 13,000 UFC/ml siendo una cantidad aceptable según el Acuerdo Gubernativo antes mencionado pero que considerándose la prevalencia de mastitis subclínica de 57.50% es improbable; sugiriendo el uso de un aditivo químico desde el inicio y que cuyo efecto perduró hasta ser llevada al centro de acopio, pues para el mantenimiento (tiempo aprox. 5 min.) el recuento fue de 13,000 UFC/ml debido al corto tiempo de esta fase y para el transporte (tiempo aprox. 1 hr. 05 min.) 14,000 UFC/ml. En esta finca se utiliza el enfriamiento en pila pero la leche no tuvo un descenso significativo de temperatura, pues al terminar el ordeño la leche se encontraba a 36°C y antes de ser transportada se encontraba a 31°C. No logrando alcanzar una temperatura inhibitoria de multiplicación. (Ver Anexo cuadro No.2 y No.11, gráfico No. 14 y No.21)

En más de la mitad de los casos disminuye el recuento bacteriano total en la etapa de mantenimiento siendo un comportamiento inusual de las bacterias debido a las condiciones de la leche y el medio, pues aunque exista una fase bactericida, esta no puede ser tan pronunciada como la observada en las fincas con este comportamiento. En la etapa de transporte más de la mitad de las muestras tuvo un aumento en el recuento bacteriano total, siendo aceptable dadas las circunstancias durante esta actividad.

En la siembra en caldo lactosado biliado verde brillante el Recuento de Coliformes (Enterobacterias) determinó en promedio 625 como NMP/ml. Recuentos entre 100/ml y 1000/ml a menudo indican una mala higiene durante el ordeño. Por ello, es importante la presencia de éstas bacterias, pues desde el punto de vista higiénico varias de estas familias son responsables de enfermedades gastrointestinales y que en ocasiones se tornan epidémicas; y desde el punto de vista tecnológico éstas bacterias producen fermentación de los azúcares, sustancias viscosas y sabor desagradable con lo que alteran la leche y subproductos. En la normativa nacional no existen límites máximos para la presencia de estas en leche cruda. (Ver Anexo cuadro No.3)

Luego de la siembra en agar Levine de aquellas muestras positivas a Coliformes, el Recuento de *E. coli* fue negativo para todos los muestreos. (Ver Anexo cuadro No.3)

En promedio el Recuento de *Staphylococcus aureus* fue de 2072 como NMP/ml como resultado de la siembra de las muestras en agar Baird Parker, siendo de importancia pues es uno de los principales agentes causantes de mastitis, además de causar fuertes trastornos intestinales en el humano a través de una toxina resistente a la pasteurización. (Ver Anexo cuadro No.3)

### 6.1.3 CARACTERÍSTICAS DE LOS PRODUCTORES CON RESPECTO A LA UTILIZACIÓN DE BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO (BPO)

De las fincas muestreadas en San José Pinula pertenecientes a la Cooperativa Integral de Productos Lácteos y a la Cámara de Productores de Leche de Guatemala, el 71.43% posee corral de espera, los cuales debido a la época lluviosa se encontraban llenos de lodo. Lo cual aumenta la ocurrencia de infecciones intramamarias, duplica el tiempo de preparación de las vacas para el ordeño y no cumple con los requisitos del acuerdo ministerial No. 147-2005 que especifica que estos deben tener piso de cemento de fácil limpieza. (Ver Anexo gráfico No. 1)

De la población incluida en el estudio, el 85.71% posee sala de ordeño, pero de éste porcentaje, la mitad de las salas tienen el cemento en proceso de deterioro; lo cual, dificulta su lavado, total limpieza durante y posterior al ordeño; y no cumple con los requisitos del acuerdo ministerial No. 147-2005 que especifica que estos deben tener piso de cemento de fácil limpieza. (Ver Anexo No. 3)

Para la limpieza de la sala de ordeño el 50% realiza un lavado previo al inicio de ésta actividad, durante el ordeño todos realizan un lavado constante debido a la necesidad de retirar los desechos orgánicos (heces) del área, utilizando para éste fin solamente agua. Al concluir el ordeño un 83.33% lava la sala pero de éstos sólo el 33.33% usa algún tipo de desinfectante además de agua. Permitiendo con esto que en el suelo de la sala puedan permanecer bacterias y con lo cual se aumenta la probabilidad de contaminación de la leche. (Ver Anexo gráfico No. 2)

El 100% realiza la técnica de enrejado pero solo en el 28.57% de los casos el rejo se encuentra limpio. Así mismo, una parte importante de ésta técnica es adjuntar la cola al momento de llevar a cabo ésta actividad con el objetivo de evitar que ésta entre en contacto con la leche dentro de la cubeta; lo cual sólo es realizado por el 57.14%. Luego de ser enrejadas las vacas, sólo un 71.43% de los ordeñadores se lava las

manos, empleando únicamente agua. Esta mala práctica permite el traslado de bacterias que pueda tener el ordeñador en la piel a la leche. (Ver Anexo gráfico No. 4)

El despunte de las vacas se lleva a cabo en el 85.71%, siendo un método para estimular la bajada de la leche, eliminar microorganismos que están en la leche de la cisterna y permitir la detección de mastitis clínica. Esta detección comúnmente es a través del tazón de fondo, el cual sólo es usado por el 14.29% de las lecherías y una vez a la semana; haciendo mas difícil para el productor, la detección de anomalías en la leche. (Ver Anexo gráfico No.5 y No. 6)

El kit para la Prueba California de Mastitis solo lo posee el 14.29%, utilizándolo eventualmente, por lo cual los productores no pueden detectar mastitis subclínica en su lechería. (Ver Anexo gráfico No. 9)

El 14.29% de la población lava toda la ubre, disminuyendo el escurrimiento de agua de la ubre hacia la cubeta durante el ordeño y evitando la contaminación de la leche, pues se ha demostrado que los menores recuentos de bacterias ocurren cuando sólo se lavan los pezones y si las vacas están limpias los pezones pueden ser desinfectados adecuadamente con el uso de selladores antes del ordeño sin ningún lavado adicional. Todos realizan el secado de los pezones, ya que si estos permanecen húmedos permiten el fácil acceso de las bacterias dentro de la glándula mamaria. Pero el 85.71% aún utiliza toallas para el secado de los pezones, y éstas son usadas en su mayoría para el secado de todas las vacas del ordeño, con lo que se contribuye al contagio de mastitis a vacas sanas. (Ver Anexo gráfico No.7 y No.8)

El ordeño manual es realizado por el 85.71% de las lecherías y en la mayoría de los casos la persona que está llevando a cabo dicha actividad toca su ropa, alguna parte de la vaca o mete la mano en la cubeta de recepción de leche, contaminando así de forma directa o indirecta la leche. (Ver Anexo gráfico No. 10)

Los utensilios previo al ordeño se encuentran limpios y en área cubierta en el 85.71% de las fincas muestreadas pero sólo el 57.14% de éstos no tienen contacto con el suelo, lo cual permite el fácil acceso a los utensilios por parte de animales rastreros.

La mayoría de las fincas incluidas en el estudio deposita la leche de la cubeta de recepción en el bidón de transporte, pero el 42.86% realiza en promedio tres pasajes a distintos recipientes antes de depositar la leche en el bidón de transporte. Así, el 85.71% filtra la leche antes de ser depositada en éste último recipiente, ya sea a través de filtros de manta o plásticos. De los filtros antes mencionados sólo la mitad son lavados con jabón para remover residuos orgánicos (por ej. grasa de leche) que puedan contribuir a la contaminación de la leche por la multiplicación de bacterias en éstos utensilios.

Posterior al ordeño sólo el 14.29% realiza la técnica de sellado con lo cual, el porcentaje restante es más susceptible a padecer mastitis. Además, en la mayoría de los casos no se provee de incentivos a los animales para que éstos permanezcan parados y así evitar que los pezones con los esfínteres aún abiertos (tiempo aprox. 30 min.) entren en contacto con el suelo u otra superficie que los contamine y enferme. (Ver Anexo gráfico No. 11)

La mayoría de los ordeñadores se encontraban sanos, pero a la hora de enfermar el 71.43% se presenta a trabajar; no contando ninguno con tarjeta de salud. Lo cual puede contribuir al contagio de enfermedades infecto contagiosas de los ordeñadores a los animales (tuberculosis).

Para ordeñar, el 85.17% se presenta con ropa de diario y sólo en el 28.57% de los casos ésta se encuentra limpia. Siendo importante que para la realización de esta actividad se cuente con un uniforme completo y destinado exclusivamente para ésta actividad para brindar mayor limpieza al proceso.

Antes de iniciar el ordeño sólo el 71.43% se lava las manos, realizando dicha acción únicamente con agua con lo cual, no se remueve ninguna cantidad de bacterias que puedan estar adheridas a la piel de los ordeñadores. (Ver Anexo gráfico No. 12)

Todos depositaban y mantenían la leche en bidones de plástico y limpios. Incumpliendo el acuerdo ministerial pues los recipientes y el equipo utilizados en la recolección, filtración, almacenamiento y enfriamiento de leche deben ser de acero inoxidable. Solo el 14.29% enfría la leche durante éste periodo, pero en general la leche se mantenía en un promedio de temperatura de 31.5°C, pues los bidones plásticos requieren cuatro veces más tiempo para bajar la temperatura; favoreciendo así la multiplicación de bacterias por ser la leche un medio ideal para el crecimiento de las mismas y por la temperatura a la que ésta se encuentra. En ningún caso puede el enfriamiento mejorar la calidad de la leche obtenida en malas condiciones pero sí impide que se aumente la carga bacteriana, siendo de beneficio para cualquiera que sea la calidad inicial.

El 57.14% cuenta con servicio de transporte para la leche, el 28.57% sale a dejar la leche al camino mas cercano para que un transportista lleve la leche a la cooperativa y en el 14.29% de los casos la leche es llevada por el productor. En todos los casos la leche era transportada en vehículos de uso general, lo cual no permite que la leche sea transportada con la limpieza necesaria para garantizar su calidad. Así mismo, estos vehículos se encuentran descubiertos con lo cual, los recipientes reciben calor o lluvia, dependiendo de las condiciones climáticas. Incumpliendo el acuerdo ministerial antes mencionado pues para dicha actividad el vehículo debe estar provisto de una estructura que proteja el producto de cualquier fuente de contaminación y de los rayos solares, debe estar construido con material impermeable de superficies lisas de fácil limpieza y desinfección. (Ver Anexo gráfico No. 13)

Con respecto a los transportistas, todos usan ropa de diario para cumplir con dicha actividad y solo el 42.86% contaba con características de limpieza en su vestimenta. El 85.71% se encontraba sano pero en caso de enfermar todos siguen

trabajando, contando con tarjeta de salud el 20% de los transportistas, lo cual esta normado en el acuerdo ministerial y por lo cual **todos** los transportistas deberían contar con su tarjeta.

#### 6.1.4 SALUD DEL HATO

El 100% de los productores **no** cuenta con registros generales o individuales detallados de los animales y de los acontecimientos que se dan en la explotación lechera. Incumpliendo con el acuerdo ministerial 147-2005 el cual cita que debe mantenerse implementado el manual de buenas prácticas pecuarias y dentro del cual se lleva un registro detallado. Así mismo, las actividades realizadas no cuentan con la asesoría de un Médico Veterinario dando lugar a equivocaciones en el uso de medicamentos, gastos innecesarios, problemas reproductivos entre otros. (Ver Anexo cuadro No. 1)

#### 6.1.5 PRUEBA CALIFORNIA DE MASTITIS

Al realiza el CMT a las vacas del ordeño de la población incluida en el estudio, se determinó que la prevalencia de mastitis subclínica en los hatos en promedio es de 53.26%. Indicándonos que existe una falla en el manejo de las vacas pues en la mayoría de los casos más de la mitad de éstas están infectadas. Así mismo, la leche proveniente de estos animales disminuye en la calidad y cantidad de proteína reduciendo así, la producción de queso y la vida útil de los productos lácteos. Además causa daño a las células secretoras y reduce la síntesis de lactosa y grasa. (Ver Anexo gráfico No. 14)

#### 6.1.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA

Todas las muestras de agua provenientes del grifo tienen un origen en común, siendo este, un nacimiento en una montaña cercana. Así, las muestras tomadas de fuente directa (grifo) tuvieron 240 como NMP/ml positivo a *E.coli*. En el caso de las

muestras de agua tomadas a partir de depósitos de uso general, el NMP/ml fue >1100 positivo a *E. coli*. Lo cual indica que el agua no es potabilizada en el nacimiento o en los depósitos de cada finca y que cualquier microorganismo que se encuentre en ella pasará a la leche directamente o a través de los utensilios usados para el ordeño. Así mismo, no se cumple con el requisito del acuerdo ministerial No. 147-2005 que especifica que el agua debe ser potable para todas las actividades incluidas en el ordeño. (Ver Anexo cuadro No. 4)

## VII. CONCLUSIONES

- El mayor punto de contaminación de la leche fue el transporte, pues en el 57.14% de los casos se incrementó el recuento bacteriano en promedio 382,750 UFC/ml.
- El 85.71% de los productores obtuvieron durante el ordeño una leche de recuento bacteriano bajo, siendo éste no mayor a 250,000 UFC/ml.
- En las fincas evaluadas se obtuvo un promedio de 625 UFC/ml de Coliformes en leche, siendo éste un valor alto e inaceptable para consumo humano.
- En la determinación de la presencia de *E. coli* en el 100% de las finca evaluadas estuvo ausente.
- La presencia de *Staphylococcus aureus* en leche fue en promedio 2072 UCF/ml de todas las muestras realizadas, siendo este un valor alto e inaceptable para consumo humano.
- El 100% de las fincas no ha implementado Buenas Prácticas de Ordeño.
- El 100% de las fincas evaluadas no lleva adecuadamente sus registros de salud y producción.
- En las fincas evaluadas, ninguna de ellas utiliza agua potable para el proceso de ordeño, utensilios y superficies.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Implementar las Buenas Prácticas de Ordeño para mejorar la calidad y cantidad de la leche producida.
- Utilizar la Cadena Fría de la leche desde su obtención hasta ser entregada para su procesamiento.
- Llevar registros individuales, detallados y continuos de cada animal.
- Tener sistemas de diagnóstico y tratamiento para vacas mastíticas.
- Eliminación de leche proveniente de vacas mastíticas o en tratamiento.
- Utilizar agua potable en instalaciones y procesos de las lecherías.

## IX. RESUMEN

El presente estudio se realizó en San José Pinula, en las aldeas El Colorado, El Sombrerito y El Zapote de donde se muestrearon siete fincas. En cada una de las fincas se llenó una ficha de datos donde se entrevistó al propietario acerca de la salud del hato y del registro de las actividades que se llevan a cabo en la finca; además se observaba todo el proceso de ordeño con el fin de determinar las características del productor con respecto a la implementación de las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO). Siendo importante la adopción total de las mismas para el mejoramiento de la salud de los animales, la cantidad y calidad de la leche.

Durante el proceso de ordeño se fueron realizando Pruebas California para el diagnóstico de mastitis subclínica (CMT). Obteniéndose una prevalencia promedio de 53.26%.

Así mismo, se tomó muestras de leche al finalizar el ordeño, antes de ser transportada la leche, o sea, la etapa de mantenimiento y posterior al transporte. Realizándose un total de 42 pruebas microbiológicas en el laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos para determinar el recuento bacteriano total (RBT), recuento de coliformes totales, recuento de *Escherichia coli* y recuento de *Staphylococcus aureus* en la leche proveniente de éstas fincas. Teniendo un RBT inicial no mayor a los 250,000 UFC/ml. Para la etapa de mantenimiento el promedio fue de 141,000 UFC/ml y para el transporte 518,000 UFC/ml. Para el recuento de Coliformes se obtuvo en promedio 626 NMP/ml siendo este valor inaceptable para consumo humano; y para *E. coli* el resultado fue negativo. En el recuento de *Staphylococcus aureus* los resultados fueron en promedio 2072 NMP/ml también siendo inaceptable para consumo humano.

Para la complementación del estudio se realizaron nueve muestras de agua con el fin de determinar la presencia de coliformes específicamente *E. coli*, teniendo como resultado el agua tomada de fuente directa (grifo) 240 NMP/ml positivo a *E. coli* y para las muestras tomadas de los depósitos de uso general >1100 NMP/ml positivo a *E. coli*.

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Alais, C. 2001. Ciencia de la leche. Trad. A Lacasa. 6 ed. México, Continental. 593 p.
2. Boletín Alimentación Sana. s.f. Leche (en línea). Argentina. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en <http://www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/novedades/bebemos.htm>
3. Cepero, O; Castillo, J; Salado, J; Monteagudo, E. s.f. Detección de mastitis subclínica mediante diferentes técnicas diagnósticas en unidades bovinas (en línea). Cuba. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en <http://www.uclv.edu.cu>
4. \_\_\_\_\_; Camacho, C; Castillo, J; Salado, J. 2005. Conductividad eléctrica y californina mastitis test en la detección de la mastitis subclínica (en línea). Cuba. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>
5. Codex CAC/RCP 57. 2004. Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. s.l. FAO/OMS. p. 1-44
6. Codex Stan 206. 1999. Norma general del codex para el uso de términos lecheros. s.l. FAO/OMS. p. 1-3
7. COGUANOR (Comisión Guatemalteca de Normas, GT). 2000. Guía de análisis de riesgos y puntos críticos de control en la industria de alimentos (HACCP). Guatemala, GT, COGUANOR. p.1-16 (COGUANOR NGO 34 243)
8. \_\_\_\_\_. 1997. Leche de vaca sin pasteurizar. Guatemala, GT, COGUANOR. p.1-5 (COGUANOR NGO 34 040:97)

9. \_\_\_\_\_. 1999. Leche y productos lácteos. Código de prácticas de limpieza y desinfección de las plantas de ordeño. Guatemala, GT, COGUANOR. p. 1-46 (COGUANOR NGO 34 235)
10. \_\_\_\_\_. s.f. Leche y productos lácteos. Análisis microbiológico. Recuento de bacterias Coliformes y *Escherichia coli*. Guatemala, GT, COGUANOR. p. 1-13 (COGUANOR NGO 34 046 h23)
11. \_\_\_\_\_. s.f. Leche y productos lácteos. Análisis microbiológico. Detección y recuento de *Staphylococcus aureus*. Guatemala, GT, COGUANOR. p. 1-12 (COGUANOR NGO 34 046 h25)
12. Cotriño, V; Gaviria, BC. s.f. Bacteriología de la leche cruda (en línea). Colombia. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en <http://www.lmvltda.com/cms/index.php?section=15>
13. ¿De dónde viene la leche? (en línea). EEUU. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en [http://www.delaval.es/Dairy\\_Knowledge/EfficientCooling/Leche.htm](http://www.delaval.es/Dairy_Knowledge/EfficientCooling/Leche.htm)
14. Dingwell, RT et al 2003. Evaluation of the California mastitis test to detect intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. Canadá, Canadian Veterinary Medical Association. p.413-416
15. El test de California para el diagnóstico de la mastitis (en línea). España. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en <http://www.capraispana.com/enfermedades/mastitis/california.htm>
16. Frazier, WC; Westhoff, DC. 2003. Microbiología de los alimentos. Trad. M Ramis Vergés. 4 ed. España, Acribia. 681 p.

17. Gandolfo, C. 2006. Leche, enfriamiento y tanques enfriadores (en línea). Uruguay. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en [http://www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad\\_y\\_consumo/infografias/swf/leche\\_historia.swf](http://www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad_y_consumo/infografias/swf/leche_historia.swf)
18. González F; Godoy J. 2001. (a) Microbiología de la leche (en línea). Argentina. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en [http://www.manant.unt.edu.ar/Departamentos/Ecologia/microbiologia/micro\\_leche.htm](http://www.manant.unt.edu.ar/Departamentos/Ecologia/microbiologia/micro_leche.htm)
19. \_\_\_\_\_. 2001. (b) Los riesgos microbiológicos (en línea). Argentina. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en [http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2001/12/04/568\\_2.php](http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2001/12/04/568_2.php)
20. Magariños, H. 2000. Producción higiénica de la leche cruda. Chile, OEA-GTZ. 95 p.
21. Parra, JL; Martínez, M; Pardo, H; Vargas, S. 1998. Mastitis y calidad de la leche en el Piedemonte del meta y Cundinamarca (en línea). Colombia. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en [http://www.corpoica.org.co/libreria/Publicaciones.asp?id\\_categoria=almacen&id\\_producto=1&offset=290](http://www.corpoica.org.co/libreria/Publicaciones.asp?id_categoria=almacen&id_producto=1&offset=290)
22. Pascual, MA. 1989. Microbiología alimentaria: Detección de bacterias con significado higiénico-sanitario. España, AGISA. 440 p.
23. ¿Porqué enfriar la leche? (en línea). Estados Unidos de Norte América. Consultado 14 oct. 2006. Disponible en [http://www.delaval.es/Dairy\\_Knowledge/EfficientCooling/Why\\_Cool\\_Milk.htm](http://www.delaval.es/Dairy_Knowledge/EfficientCooling/Why_Cool_Milk.htm)
24. Revilla, A. 1996. Tecnología de la Leche. Honduras, ZAP. 396 p.
25. Robinson, RK. 2002. Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Nueva York, US, Wiley & Sons. 230 p.

26. Ruegg, P. 2001. Secreción de leche y estándares de calidad. Estados Unidos de Norte América, Novedades lácteas. p.1-8 (Ordeño y calidad de leche No. 404)
27. Ruegg, P et al 2001. Siete hábitos para una Rutina de Ordeño Exitosa. Trad. M Fernández. Estados Unidos de Norte América, Novedades lácteas. p.1-8 (Milking and milk quality No. 401)
28. Wattiaux, MA. 2002. Esenciales Lecheras. Principios del Ordeño (en línea). Estados Unidos de Norte América. 14 oct. 2006. Disponible en <http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de/21.es.pdf>

## XI. ANEXOS

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

Id. _____					
D <input type="radio"/> C <input type="radio"/>					
B <input type="radio"/> A <input type="radio"/>					

## FINCAS LECHERAS ASOCIADAS A COPELAC Y CPLG SAN JOSÉ PINULA, GUATEMALA

### SALUD DEL HATO (COMUNICACIÓN DIRECTA CON DUEÑO)

Cuenta con registros? SI NO Registros general de hato  Registro de cada individuo  Registro de salud

Realiza vacunaciones... SI NO Según registro... SI NO Cuando es necesario... SI NO

Ántrax  Brucelosis  Enf. Clostridiales  Estomatitis  Otras: \_\_\_\_\_

Observaciones: \_\_\_\_\_

Realiza desparasitaciones? SI NO Parásitos Externos  Parásitos internos  cada 3  6  12  meses

Observaciones: \_\_\_\_\_

Realiza exámenes de sangre? SI NO ¿con qué fin? \_\_\_\_\_

Ha tenido mastitis en el hato? SI NO Subclínica  Clínica  Cómo lo diagnosticó? \_\_\_\_\_

Le brindó tratamiento? SI NO Observaciones: \_\_\_\_\_

Observaciones generales: \_\_\_\_\_

### ORDEÑO (OBSERVACIÓN DE TODO EL PROCESO)

Cuenta con corral de espera... SI NO Cemento  En buen estado? SI NO Tierra  Pediluvio

Observaciones: \_\_\_\_\_

Sala de ordeño limpia... SI NO Lavado preordeño... SI NO... Lavado post ordeño... SI NO

Agua  Jabón  Desinfectante  Preordeño  Postordeño

Se enreja al animal... SI NO Junto con la cola... SI NO Rejo limpio... SI NO

Lavado de manos post enrejado... SI NO Agua  Jabón

Observaciones: \_\_\_\_\_

Despunte... SI NO Antes del lavado o presellador  Después del lavado o presellador

Utiliza tazón de fondo oscuro... SI NO cada 1  7  15  30  días

Lavado de pezones  Lavado de ubre  Agua  Jabón  Recipiente  Manguera

Solución desinfectante o Presellador SI NO Comercial  Preparación yodo/agua  Aplicador  Hechizo

Observaciones: \_\_\_\_\_

Secado de pezones... SI NO Papel desechable  Papel periódico  Toalla  Por cuarto  Por vaca

Para todas las vacas  Observaciones: \_\_\_\_\_

Realiza CMT... SI NO cada 1  7  15  30  días

Ordeño Manual  Ordeño Mecánico  Ternero SI NO Observaciones: \_\_\_\_\_

Utensilios limpios... SI NO En área cubierta... SI NO Sin contacto con el suelo... SI NO

Cubetas de recepción de leche Limpias y escurridas SI NO Leche en cubeta de recepción directo a bidón de mantenimiento SI NO Pasaje de leche a otro recipiente para pesar SI NO

No. de pasajes  Filtración de leche SI NO Manta  Metal  Plástico

Después de cada vaca... SI NO Filtro limpio SI NO En buen estado... SI NO Se lava el filtro... SI NO

Agua  Jabón  Desinfectante  Preordeño  Después de c/filtración  Postordeño

Observaciones: \_\_\_\_\_

Se sellan las vacas... SI NO Sellador comercial  Preparación yodo/glicerina  Aplicador  Hechizo

Observaciones: \_\_\_\_\_

No. de ordeños/día  Hora: \_\_\_\_\_ Duración: \_\_\_\_\_ Litros producidos: \_\_\_\_\_

Ordeñador sano... SI NO Cuenta con tarjeta de salud... SI NO Cuenta con tarjeta de pulmones... SI NO

Se presenta a trabajar enfermo... SI NO Ordeña con uniforme  Ordeña con ropa de diario

Se presenta limpio... SI NO Lavado de manos antes del ordeño... SI NO Lavado de antebrazos antes ordeño... SI NO

Agua  Jabón  Lavado de manos entre cada vaca... SI NO Agua  Jabón

Toca a la vaca durante el ordeño... SI NO Observaciones: \_\_\_\_\_

Se toca la ropa durante el ordeño... SI NO Al dar tratamiento lo hace adecuadamente... SI NO

Observaciones: \_\_\_\_\_

### ALMACENAMIENTO (MANTENIMIENTO)

Bidones  Plástico  Metal  Limpios SI NO Capacidad: \_\_\_\_\_

Se enfría la leche... SI NO Tanque frío  Pila de agua

Temperatura leche después de ordeñar: \_\_\_\_\_ °C Tiempo de almacenamiento previo al transporte: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ °C

### TRANSPORTE

Se llega a recoger al lugar  Se sale a dejar al camino mas cercano  Bidones  Toneles

Plástico  Acero inoxidable  Se mezcla la leche en los toneles para el transporte SI NO

No. de fincas: \_\_\_\_\_ Limpios  Residuos de leche  Distancia de transporte: \_\_\_\_\_

Hora salida: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ °C Hora llegada al centro de acopio: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ °C

Medición de temperatura... SI NO Toma muestras... SI NO Prueba de antibióticos... SI NO

Vehículo uso general  Vehículo cubierto SI NO Tanque isotérmico  Transporte limpio SI NO

Transportista limpio... SI NO Transportista sano... SI NO Trabaja enfermo... SI NO Tarjeta de salud... SI NO

Tarjeta de pulmones... SI NO Hora en que inicia la recolección: \_\_\_\_\_ Observaciones: \_\_\_\_\_

### CENTRO DE ACOPIO

Descarga inmediata ... SI NO Transportista  Personal del centro  Personal limpio... SI NO

Pruebas realizadas: \_\_\_\_\_ Centro de acopio limpio... SI NO Manguera de traspaso de leche limpia... SI NO

Hora leche en tanque: \_\_\_\_\_ Temperatura leche en tanque: \_\_\_\_\_ °C Observaciones: \_\_\_\_\_

## FICHA TOMA DE MUESTRA DE LECHE

### DATOS GENERALES

Finca: \_\_\_\_\_

Propitario: \_\_\_\_\_

Ubicación: \_\_\_\_\_

### DATOS MUESTREO

Ordeño

Hora toma muestra: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ Cantidad: \_\_\_\_\_

Almacenamiento

Hora toma muestra: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ Cantidad: \_\_\_\_\_

Transporte

Hora toma muestra: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ Cantidad: \_\_\_\_\_

Acopio (Tanque Frío)

Hora toma muestra: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ Cantidad: \_\_\_\_\_

Hora entrega de muestras en Lab. FMVZ: \_\_\_\_\_

## FICHA TOMA DE MUESTRA DE AGUA

### DATOS GENERALES

Finca: \_\_\_\_\_

Propitario: \_\_\_\_\_

Ubicación: \_\_\_\_\_

### DATOS MUESTREO

Fuente: \_\_\_\_\_ Cantidad: \_\_\_\_\_

Hora entrega de muestra en Lab. FMVZ: \_\_\_\_\_

## FICHA DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

### DATOS GENERALES

Nombre del Propietario: \_\_\_\_\_

Finca: \_\_\_\_\_

Ubicación: \_\_\_\_\_

### RESULTADOS

#### ORDEÑO

Análisis Microbiológico	Positivo	Negativo	Cantidad
Recuento Bacteriano Total			
Recuento de Coliformes			
Recuento de Escherichia coli			
Recuento de Staphylococcus aureus			

#### ALMACENAMIENTO

Análisis Microbiológico	Positivo	Negativo	Cantidad
Recuento Bacteriano Total			

#### TRANSPORTE

Análisis Microbiológico	Positivo	Negativo	Cantidad
Recuento Bacteriano Total			

Cuadro No. 1

## SALUD DEL HATO EN LAS FINCAS PERTENECIENTES A COPELAC

SALUD DEL HATO	FINCA 1	FINCA 2	FINCA 3	FINCA 4	FINCA 5	FINCA 6	FINCA 7
Registro Individual	No	No	No	No	No	No	No
Vacunaciones	Ántrax Brucelosis * Estomatitis	Ántrax Brucelosis	Ántrax Brucelosis *	Ántrax Brucelosis * Estomatitis	*	Ántrax Estomatitis	*
¿Cada cuánto es realizado?	Cuando Necesario	Cuando Necesario	Cada 6 meses	1 vez al año	1 vez al año	Cada 6 meses	1 vez al año
¿Desparasitaciones?	Externa Interna	Externa Interna	Externa Interna	Externa Interna	Externa Interna	Externa Interna	Externa Interna
¿Cada cuánto es realizado?	Cada 2 meses	Cada 2 meses	Cada mes	Cuando necesario	Cada 15 días	Cada 4 meses	Cada 3 meses
¿Examen de sangre? ¿Con que fin?	Si Brucelosis	No -	No -	No -	No -	No -	No -
¿Mastitis?	Subclínica	Clínica	No	No	No	No	No
¿Cómo fue diagnosticada?	CMT	Golpe	-	-	-	-	Tacto
¿Tratamiento?	Intramamario	-	-	-	-	-	-

\*Enfermedades Clostridiales

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Cuadro No. 2

## RECUENTO BACTERIANO TOTAL (RBT) POST ORDEÑO, POST MANTENIMIENTO Y POST TRANSPORTE DE LA LECHE DE FINCAS PERTENECIENTE A COPELAC

FINCA No.	Recuento Bacteriano Total (RBT) ORDEÑO	Recuento Bacteriano Total (RBT) MANTENIMIENTO	Recuento Bacteriano Total (RBT) TRANSPORTE
1	210,000 UFC/ml	120,000 UFC/ml	150,000 UFC/ml
2	18,000 UFC/ml	20,000 UFC/ml	19,000 UFC/ml
3	240,000 UFC/ml	60,000 UFC/ml	2,000,000 UFC/ml
4	150,000 UFC/ml	100,000 UFC/ml	4,500 UFC/ml
5	8,000 UFC/ml	28,000 UFC/ml	Negativo
6	2,000,000 UFC/ml	2,400,000 UFC/ml	2,500,000 UFC/ml
7	13,000 UFC/ml	13,000 UFC/ml	14,000 UFC/ml

Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

Cuadro No. 3

**RECUENTO DE COLIFORMES, ESCHERICHIA COLI Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS DE LECHE POST ORDEÑO EN FINCAS PERTENECIENTES A COPELAC**

<b>FINCA No.</b>	<b>Recuento de Coliformes NMP/ml</b>	<b>Recuento de E.coli NMP/ml</b>	<b>Recuento de Staphylococcus aureus UFC/ml</b>
1	1100	Negativo	1900
2	240	Negativo	1800
3	Negativo	Negativo	3000
4	150	Negativo	1200
5	480	Negativo	1200
6	2400	Negativo	5000
7	43	Negativo	400

Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

Cuadro No. 4

**DETERMINACIÓN DE COLIFORMES Y ESCHERICHIA COLI EN EL AGUA UTILIZADA DURANTE EL PROCESO DE ORDEÑO**

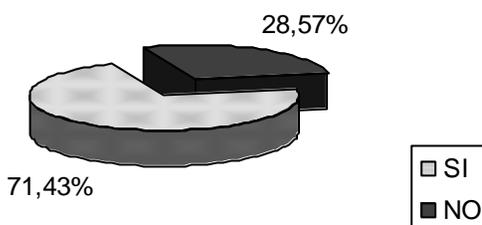
<b>FINCA No.</b>	<b>Muestra de Agua de Fuente Directa(grifo) NMP/100 ml</b>	<b>Muestra de Agua a partir del Depósito para uso general NMP/100 ml</b>
1	240 Positivo a E. coli	>1100 Positivo a E.coli
2	240 Positivo a E. coli	>1100 Positivo a E.coli
3	240 Positivo a E. coli	>1100 Positivo a E.coli
4	240 Positivo a E. coli	>1100 Positivo a E.coli
5	240 Positivo a E. coli	>1100 Positivo a E.coli
6	240 Positivo a E. coli	>1100 Positivo a E.coli
7	240 Positivo a E. coli	>1100 Positivo a E.coli

Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

## CARACTERÍSTICAS DE LOS PRODUCTORES CON RESPECTO A LA IMPLEMENTACIÓN DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO (BPO) EN LA FINCAS PERTENECIENTES A COPELAC

Gráfico No. 1

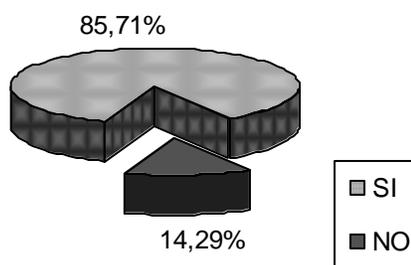
### Productores que poseen Corral de Espera



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 2

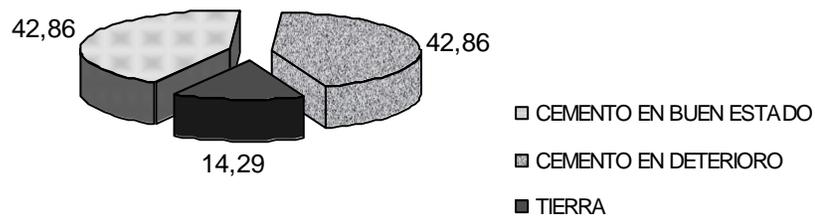
### Productores que poseen Sala de Ordeño



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 3

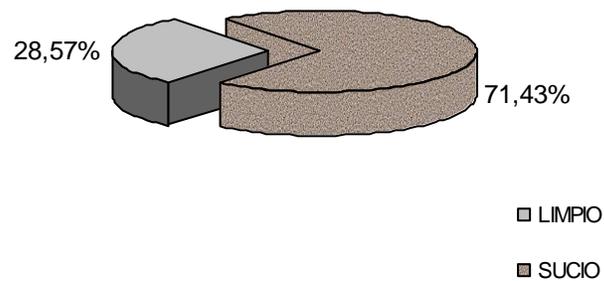
### Tipo de piso que posee la Sala de Ordeño para su Adecuada Limpieza



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

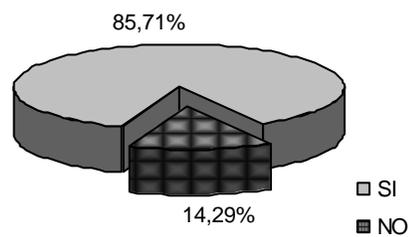
Gráfico No. 4

### Limpieza del Rejo durante el Ordeño



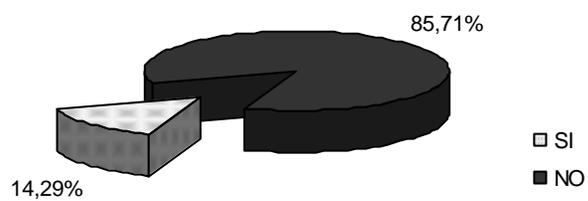
Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 5

**Despunte de las vacas previo al Ordeño de las mismas.**

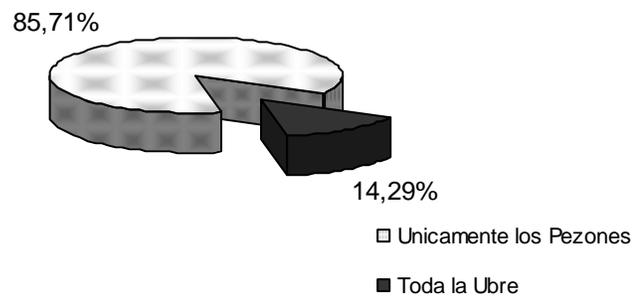
Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 6

**Utiliza Tazón de Fondo Oscuro**

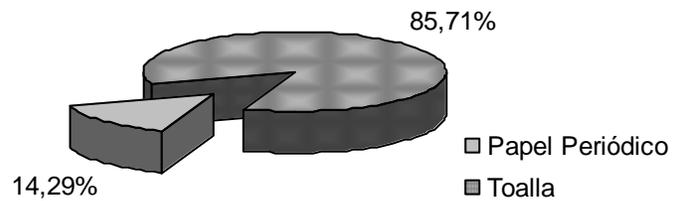
Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 7

**Área de lavado de la Ubre previo al Ordeño**

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

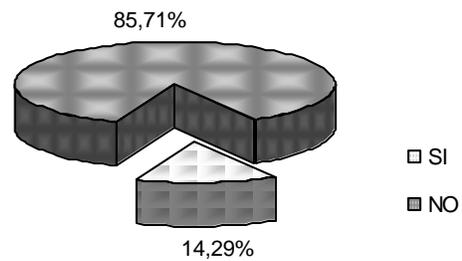
Gráfico No. 8

**Material de Secado para el Área lavada de la Vaca.**

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 9

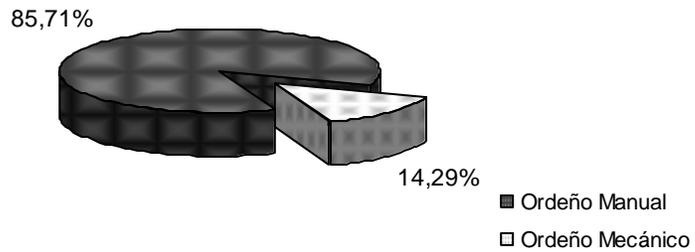
### Utiliza la Prueba California de Mastitis en su finca para la detección de Mastitis Subclínica



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 10

### Tipo de Ordeño realizado en su Finca



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

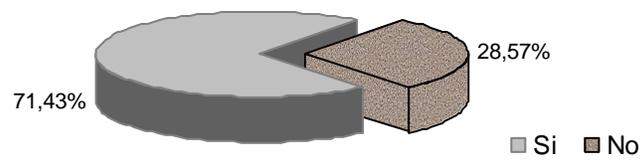
Gráfico No. 11



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 12

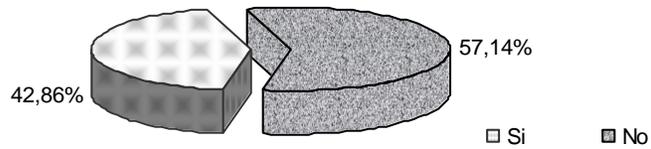
**Se lava las manos antes de iniciar con el Ordeño?**



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 13

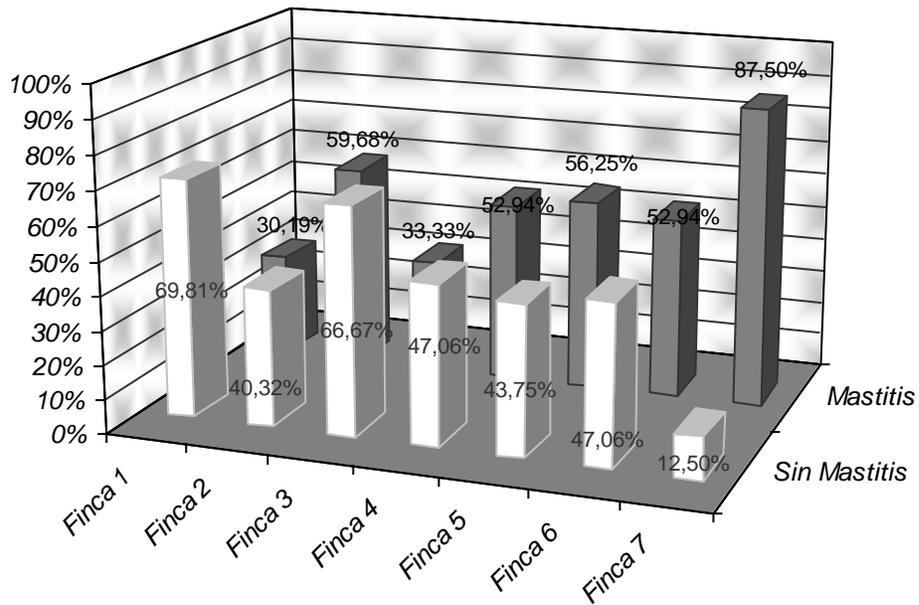
**Vehículo limpio para transporte de leche?**



Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 14

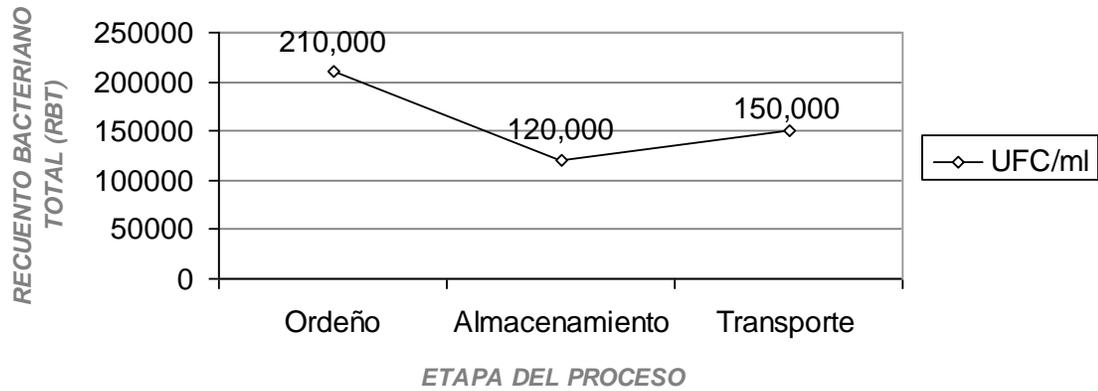
**Prevalencia de Mastitis Subclínica por medio de la Prueba California de Mastitis (CMT) en fincas pertenecientes a COPELAC**



Datos obtenidos a través de la realización de la Prueba California de Mastitis para el diagnostico de mastitis subclínica. Junio 2006.

Gráfico No. 15

**Conteo Bacteriológico de la leche obtenida por el productor de la Finca 1 perteneciente a COOPELAC**



Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

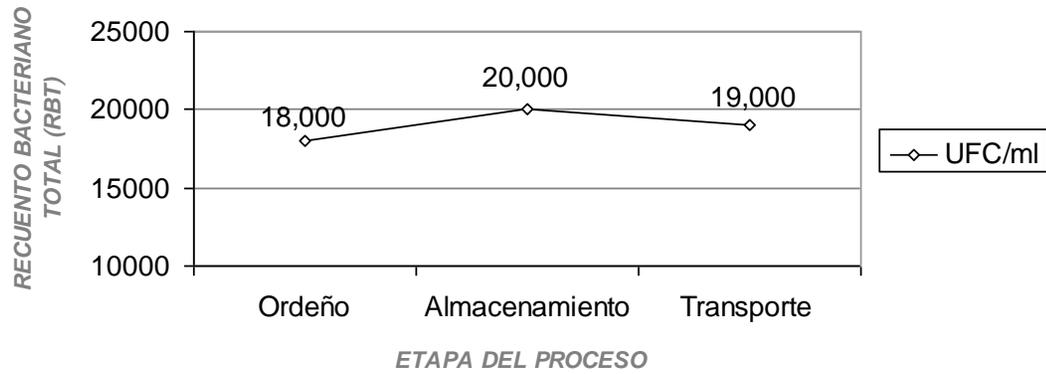
Cuadro No. 5

Finca 1	Ordeño	Mantenimiento	Transporte	Distancia recorrida
Tiempo transcurrido	2 hr 15 '	15 '	10 '	1.5 km

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 16

**Conteo Bacteriológico de la leche obtenida por el productor de la Finca 2 perteneciente a COOPELAC**



Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

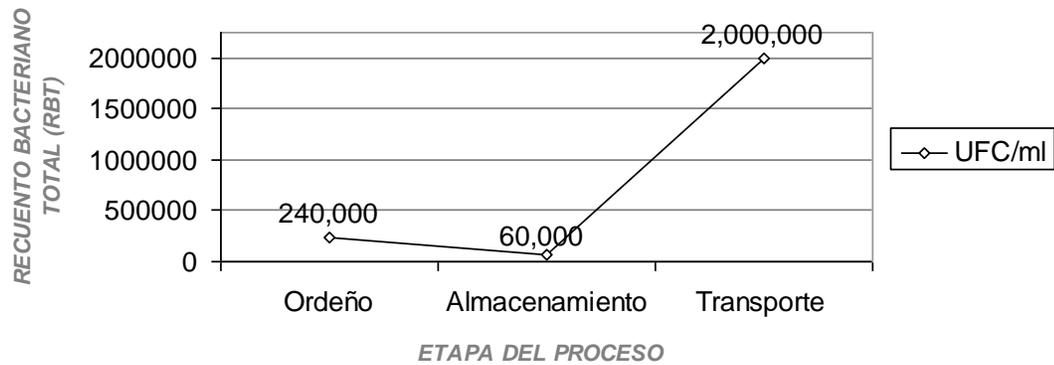
Cuadro No. 6

Finca 2	Ordeño	Mantenimiento	Transporte	Distancia recorrida
Tiempo transcurrido	1 hr 15 '	1 hr 15 '	10 '	4 km

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 17

**Variación Bacteriológica de la leche obtenida por el productor de la Finca 3 perteneciente a COOPELAC**



Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

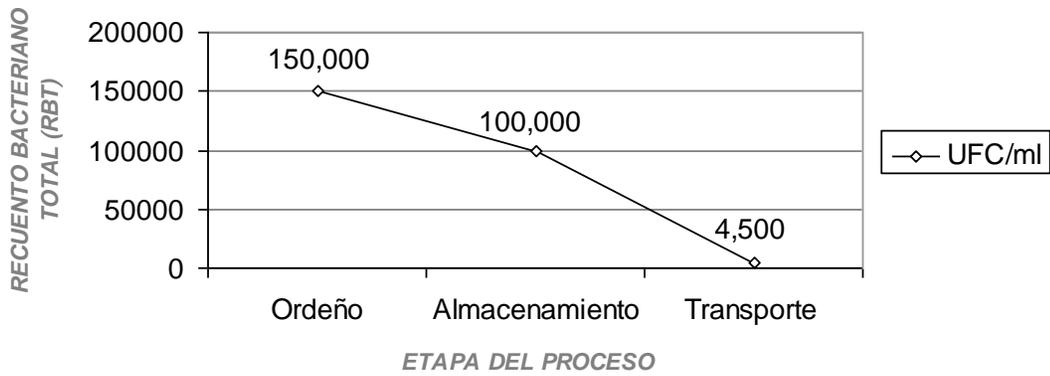
Cuadro No. 7

Finca 3	Ordeño	Mantenimiento	Transporte	Distancia recorrida
Tiempo transcurrido	1 hr 45 '	1 hr 55 '	1 hr 05 '	4.5 km

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 18

**Conteo Bacteriológico de la leche obtenida por el productor de la Finca 4 perteneciente a COOPELAC**



Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

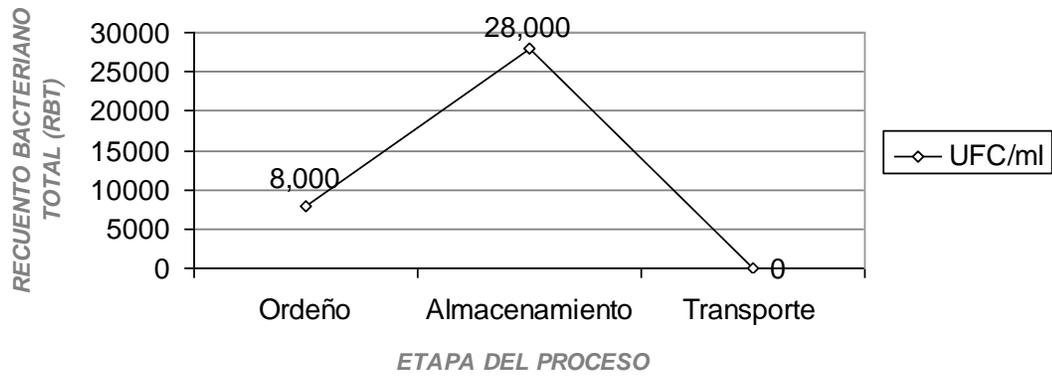
Cuadro No. 8

Finca 4	Ordeño	Mantenimiento	Transporte	Distancia recorrida
Tiempo transcurrido	2 hr 30 '	1 hr 50 '	20 '	2 km

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 19

**Conteo Bacteriológico de la leche obtenida por el  
productor de la Finca 5 perteneciente a  
COPELAC**



Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

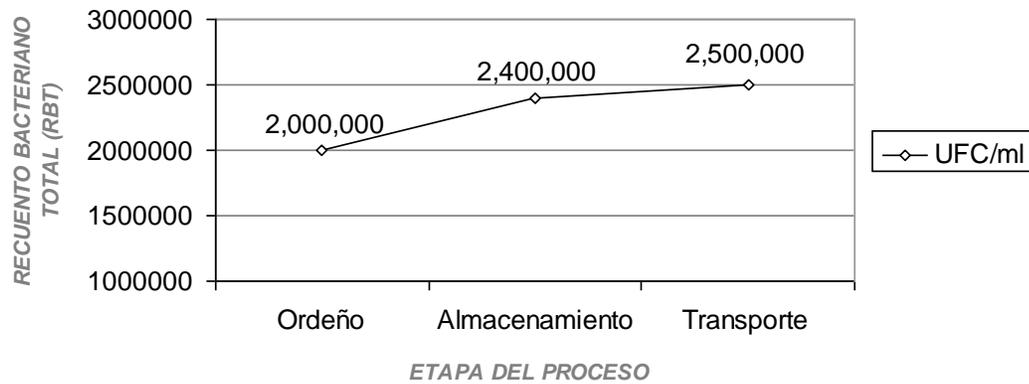
Cuadro No. 9

Finca 5	Ordeño	Mantenimiento	Transporte	Distancia recorrida
Tiempo transcurrido	1 hr 20 '	35 '	40 '	4 km

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 20

**Conteo Bacteriológico de la leche obtenida  
por el productor de la Finca 6 perteneciente a  
COOPELAC**



Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

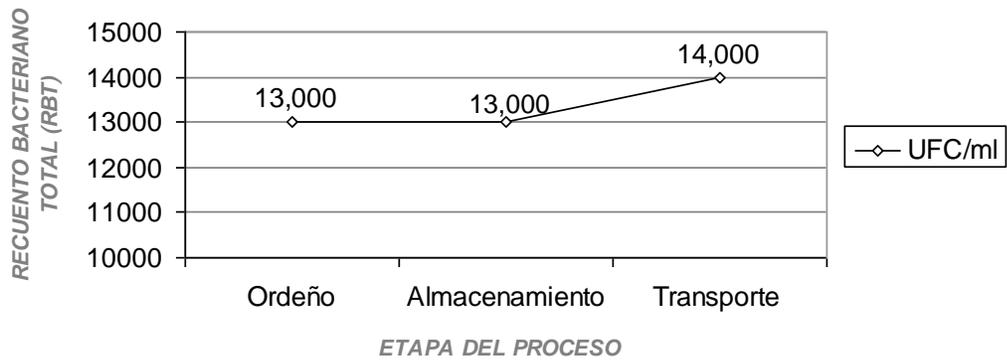
Cuadro No. 10

Finca 6	Ordeño	Mantenimiento	Transporte	Distancia recorrida
Tiempo transcurrido	2 hr 25 '	45 '	35 '	8 km

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

Gráfico No. 21

**Conteo Bacteriológico de la leche obtenida por el productor de la Finca 7 perteneciente a COOPELAC**



Pruebas realizadas y Resultados proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Junio 2006.

Cuadro No. 11

Finca 7	Ordeño	Mantenimiento	Transporte	Distancia recorrida
Tiempo transcurrido	2 hr 15 '	05 '	1 hr 05 '	9 km

Resultados obtenidos a través de la Ficha de Datos. Junio 2006.

## XII. APÉNDICES

Cuadro No. 1

Rangos de pH para crecimiento de microorganismos		
Grupo	Rango	Óptimo
Bacterias	4.5 a 9	6.5 a 7.5
Levaduras	2 a 11	4 a 6
Mohos	2 a 9	-

Fuente:(1)

Cuadro No. 2

Actividad de agua ( $a_w$ ) a la cual crecen algunos microorganismos	
Grupos	$A_w$
Bacterias Gram Negativas	0.97
Bacterias Gram Positivas	0.90
Levaduras	0.88
Hongos filamentosos	0.80
Bacterias halófilas	0.75
Hongos xerófilos	0.61

Fuente:(1)

Cuadro No. 3

Rangos de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) para crecimiento de microorganismos			
Grupos	Mínima	Óptima	Máxima
Termófilos	40 – 45	55 - 75	60 - 90
Termótrofos	15 – 20	30 - 40	45 - 50
Mesófilos	5-15	30 - 40	40 - 47
Psicrófilos	menos 5 – 5	12 - 15	15 - 20
Psicrotrofos	menos 5 – 5	25-30	30-35

Fuente:(1)

**Tabla del Número Mas Probable (NMP) por mililitro utilizando tres series de tres tubos cada una conteniendo 10 mililitros de medio líquido y sembrando 1 ml de la dilución 1:10; 1 ml de la dilución 1:100 y 1 ml de la dilución 1:1000**

<b>3 Tubos 1 ml 1:10</b>	<b>3 Tubos 1 ml 1:100</b>	<b>3 Tubos 1 ml 1:1000</b>	<b>NMP de bacterias ml</b>
0	0	0	< 3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	480
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

Fuente:(25)