

Comparación de resultados de laboratorios de diagnóstico de calidad de la leche, en términos de recuento de células somáticas (RCS) y unidades formadoras de colonias (UFC) en ordeño manual de ganaderías bufalinas del Magdalena Medio y Costa Atlántica colombiana

Comparison of results of laboratory diagnostic quality of milk in terms of Somatic Cell Count (SCC) and colony forming units (CFU) in manual milking herds bufalinas Magdalena Medio and Colombian Atlantic Coast

Sergio Andrés Morales Morales

Ing. Agropecuario
MSc en Ciencias Animales
Instructor e investigador
Grupo CICAS
smmmorales@sena.edu.co

Servicio Nacional de Aprendizaje
SENA Regional Antioquia
Complejo Tecnológico Minero
Agroempresarial (CTMAE)

Felipe Alejandro Jaramillo Monsalve

Tecnólogo en Reproducción Bovina,
coinvestigador



Resumen

La agrocadena alimenticia de la leche es de suma importancia debido a factores como: empleos generados, productos disponibles en la canasta familiar, seguridad alimentaria, entre otros.

Un actor indispensable en la generación de información para el seguimiento y control de las acciones en la actividad primaria u ordeño manual o mecánico según el Decreto 616 de 2006 son los laboratorios, los cuales deben estar acreditados bajo la Norma NTC/ISO17025 para la competencia de análisis de calidad para el pago de leche cruda.

Este proyecto surge como producto adicional de la investigación sobre los factores de riesgo que la práctica de ordeño puede tener sobre la calidad higiénica medida a través de unidades formadoras de colonias (UFC) así como la calidad sanitaria medida a través de recuento de células somáticas (RCS) en tanques de leche del Magdalena Medio y la Costa Atlántica.

Los laboratorios acreditados poseen diferentes equipos y protocolos para el productor y agroindustria láctea es indispensable conocer si ello influye en los resultados de calidad microbiológica. Para este fin, se utilizó un protocolo de toma de muestras en tanque de enfriamiento y los tubos con conservante en 23 hatos bufaleros.

Se tomaron muestras pareadas de leche en tanque frío el día de aplicación de la lista de chequeo para pruebas de bacterias

en el equipo Bactoscan®, encontrando un promedio de $182,6 \pm 295,4 \times 10^3$ UFC/ml y para RCS en Fossomatic™ un promedio calculado de $137,1 \pm 158,9 \times 10^3$ cs/ml.

Los análisis muestran para los resultados de comparación en UFC una tendencia lineal con un $r = 0,851$ ($p = 0,006$), para RCS el nivel de asociación es de $r = 0,84$ ($p = 0,0003$). Estos resultados permiten tomar la decisión de analizar las muestras de leche en cualquiera de los dos laboratorios en términos de calidad microbiológica e incluso en calidad química.

Palabras clave:

Laboratorios, RCS, UFC, leche, búfala.

Abstract

Dairy Farming is extremely important due to factors such as: workforce employed, development of new dairy added value products and by-products, food security among many others.

Dairy quality laboratories are indispensable stakeholders in the generation of information for monitoring and control of activities of the dairy farming process (manual or mechanical milking) according to the Colombian Legal Framework (Decreto 616 /2006), these facilities must be accredited and certified under NTC / ISO17025 Standard for quality analysis under the raw milk payment to the farmers. This project comes as an additional outcome of the research conducted on risk factors associated with milking

procedures over hygienic quality of the milk evaluated in terms of colony forming units (CFU) as well as its sanitary quality measured by Somatic Cell Count (SCC) sampled on bulk tanks of farms located in the Magdalena Medio and North Coast in Colombia. Accredited laboratories have different equipment's and protocols and for the farmers and the dairy agroindustry essential to know to what extend such differences influences the results of microbiological quality tests. For such we used a sampling protocol on bulk tanks and its sampling on 23 buffalo's milk farms.

Double samples of milk were sampled from the bulk tanks the day that checklists were implemented, testing bacteria by means of Bactoscan® and finding on average $182.6 \pm 295.4 \times 10^3$ CFU/ml and SCC by means of Fossomatic™MFC with an average of $137.1 \pm 158.9 \times 10^3$ cs/ml. A linear trend for UFC was found with $r = 0.851$ ($p = 0.006$) as well as for SCC with $r = 0.84$ ($p = 0.0003$). These results entirely validate the decision to analyze milk samples on any of the two laboratories tested in terms of microbiological and chemical quality for raw buffalo's milk.

Keywords:

Laboratories, SCC, CFU, milk, buffalo.

Introducción

Este estudio es un aporte a las políticas contempladas en el Decreto 616 de 2006 expedido por el Ministerio de la Protección Social en el cual se exponen los requisitos que debe cumplir la leche cruda para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercialice, expendi, importe o exporte en el país. Esta normatividad además de proteger la salud humana, sugiere las condiciones ideales para mejorar la competitividad de la producción nacional, basado en estándares internacionales.

La Contraloría General de la República en 2010 menciona que el sector lechero colombiano está enmarcado en una alta informalidad y que ello, genera la imposibilidad de crear registros e información cercana a la realidad del país. Dada esta situación, los datos de producción de leche reportada por varias entidades no

concuerdan; por ejemplo, el Ministerio de Agricultura señaló que en el 2008 la producción llegó a 7.061 millones de litros de leche y el gremio ganadero relacionó 6.476 millones en el mismo año. Esta producción anual según la Federación Colombiana de Ganaderos (Fedegan) tiene como destino el 43% en comercialización informal y un 47% va a la industria.

La situación expuesta representa un claro riesgo a la salud humana especialmente para la población infantil y la tercera edad, aunado al desconocimiento de la calidad de la leche consumida de manera informal, la cual no contempla una adecuada cadena de conservación o frío, esto supone que muy posiblemente la calidad microbiológica de la misma puede estar afectada.

Las Resoluciones 000017 de 2012 y 00012 de 2007 expedidas por el Ministerio de Agricultura y

Desarrollo Rural definen como calidad higiénica, la condición que hace referencia al nivel de higiene mediante el cual se obtiene y manipula la leche; su medición se realiza por el recuento total de bacterias y se expresa en unidades formadoras de colonias por mililitro o UFC.

La calidad sanitaria corresponde a las acciones de vacunación de los animales al hato certificado por el ICA, como libre de brucelosis, tuberculosis y protección contra otras enfermedades objeto de control reglamentario. En las resoluciones mencionadas, se especifica además la definición y condiciones que debe cumplir un laboratorio para hacer parte de la agrocadena de la leche.

El marco institucional presentado y dada la importancia de la producción bufalera y sus derivados lácteos en Colombia, hace imperante resaltar el servicio que prestan las instituciones

con sus laboratorios de calidad e inocuidad de la leche, al examinar los constituyentes, adulteraciones y estado de la leche, lo que en evaluaciones técnicas conduce a emitir valoraciones de la glándula mamaria, de la calidad del ordeño y de la conservación de la leche. Es así entonces, como los laboratorios hacen parte fundamental de programas como el Control Lechero dirigido por la Unión Nacional de Asociaciones Ganaderas (UNAGA), que propende por diagnosticar la situación actual y proponer soluciones para mejorar la competitividad agroindustrial a nivel nacional.

1. Materiales y Métodos

Laboratorios de calidad e inocuidad de la leche

Para el estudio se utilizaron el Laboratorio de la Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias en la ciudad de Medellín y

el laboratorio de Colanta ubicado en la planta del municipio de San Pedro de los Milagros en Antioquia (Colombia).

El análisis se realizó mediante el uso de equipos con tecnología de citometría de flujo como el BactoscanTMFC para UFC e interferometría para composición química y RCS como el Combifoss y Fossomatic TMFC, los cuales están calibrados bajo metodologías internacionales de referencia AOAC 986.33, BS ISO 21187 (IDF 196, 2004) para bacterias mesófilos aerobias y la ISO 13366 - 1, 2008 (IDF 148-1, 2008) para células somáticas.

Toma de muestras en tanques de enfriamiento

Para la evaluación de los resultados de los laboratorios, se tomaron muestras pareadas de leche en tanque de enfriamiento, bajo las indicaciones reportadas por la Unidad de Diagnóstico del Laboratorio de Calidad e

Inocuidad de Leche Cruda, de la Universidad de Antioquia (Toro, 2012), las cuales aseguran la toma de la muestra de manera aséptica.

En cada muestreo se utilizaron frascos estériles con conservante Azidiol para las muestras usadas en la determinación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), con el bactoscan y con Bronopol, para las muestras dirigidas al Recuento de Células Somáticas (RCS).

Se depositaron las muestras en neveras con geles conservantes para asegurar refrigeración de la muestra a 4°C hasta la remisión en los laboratorios. Es importante aclarar que para la toma de las muestras se solicita con anterioridad el consentimiento del propietario de la empresa ganadera, especificando el propósito y compromiso en la entrega de los resultados de calidad de la leche producida.

Análisis estadístico

Los datos recolectados se almacenaron en una base de datos en Microsoft Excel para su posterior análisis en Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 18.0. Se realizó un análisis descriptivo para cada una de las variables contempladas en este estudio de acuerdo con su naturaleza, para las variables cuantitativas se

aplican medidas de tendencia central, posición y dispersión.

Para los resultados de la misma muestra de tanque (pareadas) en los dos laboratorios se realizaron pruebas de normalidad y en la comparación se presentarán pruebas de muestras relacionadas, con nivel de significancia de 95% en SPSS.

2. Resultados y Discusión

Resultados de UFC y RCS de laboratorios

Una vez tomadas las muestras pareadas de leche en tanque, fueron transportadas a 4°C al Laboratorio de Calidad de la Industria Láctea Colanta y la Universidad de Antioquia, siendo este último un laboratorio de referencia (Resolución 012 de enero 12 de 2007). Se analizaron 13 muestras, que se presentan en

la Tabla 1, encontrando valores en UFC para el laboratorio industria láctea con promedio de $172,3 \pm 370,9$ y para el laboratorio de U. de A $225,5 \pm 353,8 \times 10^3$ UF C/ml. Estas diferencias son atribuidas a la calibración de equipos para lo cual el laboratorio de la Universidad de Antioquia sigue los lineamientos de calibración según la técnica de referencia de recuento en placa estándar/Petrifilm 3M (estándar internacional BS ISO 21187, IDF 196, 2004).

Tabla 1. Resultados en forma ascendente de laboratorios para UFC y RCS de muestras pareadas.

Nº	Código Ordeño*	UFC U.de.A	UFC COLANTA	RCS U.de.A	RCS COLANTA
1	CA 1	10	7	34	31
2	CA 2	12	2	69	65
3	CA 13	13	13	12	82
4	MM 2	14	10	55	47
5	CA 12	17	13	69	71
6	CA 10	24	12	130	152
7	MM 1	31	15	55	56
8	MM 3	83	44	65	78
9	CA 9	90	63	74	76
10	CA 3	250	130	73	73
11	MM 6	449	190	50	93
12	MM 4	939	390	147	173
13	MM 9	1000	1351	107	120

*. El código MM representa los hatos de Magdalena Medio, CA hatos en Costa Atlántica, metodología empleada para la representación en bases de datos.

Para evaluar las diferencias de UFC y RCS entre laboratorios, se realizó una prueba no paramétrica de Wilcoxon a raíz de comprobación de normalidad

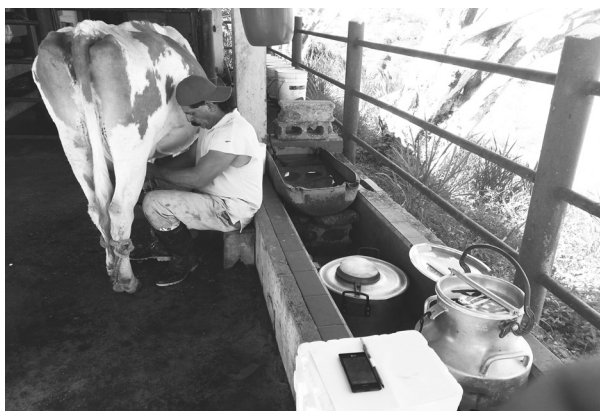
por el método Shapiro - Wilk, encontrando diferencia estadística para UFC ($p= 0,028$) y los resultados conservan una tendencia lineal con un $r= 0,851$

($p = 0,006$). Respecto a los resultados para RCS no se encontraron diferencias $p = 0,06$ pero conservan un nivel de asociación de $r = 0,84$ ($p = 0,0003$).

Los resultados permiten tomar la decisión de continuar con los análisis de las bases de datos aún cuando la diferencia se centre solo en los resultados para UFC, pero con un nivel de asociación alto.

En cuanto a los resultados de composición química entre laboratorios, como medida inicial se verificó por el método de Gerber (Gerber, 2013)

los resultados que emite el Fossomatic de la Universidad de Antioquia respecto a los porcentajes de grasa en leche de búfala, obteniendo una correlación de 1,0 que indica que no hay varianza intragrupos. Los porcentajes promedio entre laboratorios fue de: grasa 6,8 ($r = 0,93$), proteína 4,2 ($r = 0,87$), sólidos no grasos 9,6 ($r = 0,9$), sólidos totales 16,6 ($r = 0,9$), lactosa 5,1 ($r = 0,92$) y nitrógeno ureico en leche 18,7 ($r = 0,86$). Este análisis permite evidenciar que los resultados de composición química entre laboratorios son valores similares ($p > 0,0001$).





3. Resultados en aprendizaje

Los reportes y análisis a la rutina de ordeño en los hatos bufaleros de las regiones estudiadas, muestran que hace falta la implementación de fases que en la práctica son omitidas por muchas empresas, (Morales, et al., 2014), es imperante adoptar

de manera completa la rutina, dado que ello puede alterar la calidad microbiológica en tanque de enfriamiento.

No se encuentra información disponible similar a la expuesta en este estudio, lo que al SENA a través de la estrategia SENNOVA le permite contribuir a la generación de información no sólo útil para la academia, sino también para el aumento en la confianza de los productores. De la misma forma, un nuevo rol surge para la comunidad de aprendizaje: aprendiz-investigador, un personaje crítico, lector y facilitador en las relaciones interinstitucionales.

Los resultados de la búsqueda bibliográfica hacen vislumbrar para el grupo de investigación, la oportunidad de generar una línea de investigación específica y que aportará más conocimiento a este sector pecuario.

En conclusión, los resultados del presente estudio muestran que entre los dos laboratorios no

hubo diferencias, lo que permite al productor o investigador elegir cualquiera de los dos laboratorios, dado a que la confiabilidad del diagnóstico es alta en términos de calidad microbiológica y composición química.

El análisis en cuanto a los niveles altos o bajos y su afectación en la sanidad del hato ha sido ampliamente reportado por autores como, (Briñez, et al., 2000), (Vásquez, et al., 2012), Sharif, et al., 2007), (Hernández, et al., (2008), (Guha, et al., 2012), (Dhakal 2006), entre otros no menos relevantes.

4. Agradecimientos

A la empresa Colanta y en especial al médico veterinario Juan Fernando Vásquez Canop por la gestión y apoyo logístico en las plantas de San Pedro y Planeta Rica; a la doctora Martha Olivera, investigadora y coordinadora del laboratorio en la Universidad de Antioquia y a los directivos

del Complejo Tecnológico Minero Agroempresarial por la confianza y facilitación de espacio para el ejercicio en investigación.

Bibliografía

Decreto 616 de 2006. Ministerio de la Protección Social. Colombia. Disponible desde Internet en: <http://www.walcaldiabogotagov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=21980> (con acceso 18/03/2012).

Dhakal, P. 2006. Normal somatic count and subclinical mastitis in Murrah buffaloes. J. Vet. Med. 53 (2): 81-86. Disponible desde Internet en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16626405> (con acceso 23/03/2013).

FunkeGerber. Catálogo de Laboratorio Análisis para lácteos. http://www.funke-gerber.de/FG_Kat_SP.PDF (con acceso 19/10/2014).

- Guha, A., Guha, R., Gera, S.(2012). Comparison of somatic cell count, California mastitis test, chloride test and rennet coagulation time with bacterial culture examination to detect subclinical mastitis in riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). African Journal of Agricultural Research Volumen 7(41), p 5578- 5584. Disponible desde Internet en: <http://www.academicjournals.org/AJAR>(con acceso 19/06/2013).
- Hernández, R., Bedolla, J. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. Rev. REDVET. Vol. IX número 9. Disponible desde Internet en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908.html> (con acceso 07/04/2012).
- International Standard BS ISO 21187, IDF 196. First edition 2004 12-01. Milk Quantitative determination of bacteriological quality. Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results.
- Morales, S, A., Rodríguez, N., Vásquez, J F., Olivera, M. (2014). Influencia de la práctica de ordeño sobre el recuento de células somáticas (RCS) y unidades formadoras de colonias (UFC) en leche bufalina. Rev. U.D.C.A Act & Div. Cient. 17(1):189-196.
- Resolución 00017 de 2012. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Colombia.
- Resolución 00012, enero 12 de 2007. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Colombia.
- Rodríguez, M., Serrano, H. (2010). Agenda ciudadana 'Situación de la producción lechera en Colombia'. Documento Base. Contraloría General de la República, 83-113-059-08.
- Sharif, A., Ahmad, T., Bilal, M.Q., Yousaf, A., Muhammad, G.

- (2007). Effect of severity of subclinical mastitis on somatic cell count and lactose contents of buffalo milk. *Pakistan Vet. J.*, 2007, 27(3): 142-144.
- Toro, C. 2012. Protocolo de Toma de Muestras de Leche. LaboratoriodeCalidadeInocuidad de Leche Cruda. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia. Disponible desde Internet en: <http://www.udea.edu.co/portal/page/portal/bibliotecaSedesDependencias/unidadesAcademicas/FacultadCienciasAgrarias/BibliotecaDiseno/Archivos/DocsVarios/TomaMuestrasLeche.PDF>. (con acceso 04/03/2013).
- Vásquez, J.F., Loaiza, E.T., Olivera, M.(2012). Calidad higiénica de leche cruda acopiada en diferentes regiones Colombianas. Orinoquía, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta (Colombia) Vol. 16 Num. 2: 13 - 23. Disponible desde Internet en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89626049004>(con acceso 11/04/2013).