



**Indicadores de Calidad en Leche de Tanque de Cinco Fincas del Municipio de Popayán,
Cauca.**

Angela Daniela Hawkins Belalcazar

Karen Johana Rosero Ortiz

Laura Valentina García Martínez

Universidad Antonio Nariño

Programa de Medicina Veterinaria

Facultad de Medicina Veterinaria

Popayán

2023

**Indicadores de Calidad en Leche de Tanque de Cinco Fincas del Municipio de Popayán,
Cauca.**

Angela Daniela Hawkins Belalcazar

Karen Johana Rosero Ortiz

Laura Valentina García Martínez

Trabajo presentado como requisito para optar al título de:

Médico Veterinario

Director (a):

Carmen Alicia Daza Bolaños

MV, MSc, PhD

Línea de investigación:

Salud pública y medicina veterinaria preventiva.

Universidad Antonio Nariño

Programa de Medicina Veterinaria

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Popayán

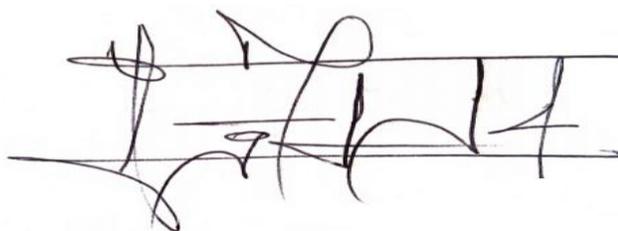
2023

Página de Aceptación

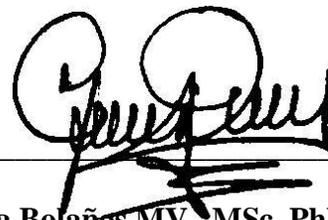
Aprobado por el jurado evaluador en cumplimiento de los requisitos exigidos

Por la universidad Antonio Nariño para optar al título de

Médico Veterinario



Fredy Javier Angarita Alonso. M. V. y Z. Esp.
Jurado evaluador



Carmen Alicia Daza Bolaños MV., MSc. PhD

Director

Tabla de contenido

Resumen	9
Introducción	11
Justificación	14
Objetivos	16
Objetivo General	16
Objetivos Específicos	16
Marco Referencial	17
Marco Teórico	17
Composición Nutricional de la Leche	18
Agua	18
Grasa	19
Proteína	20
Sólidos Totales (ST)	21
Lactosa	21
Caseína	22
Albúmina	22
Globulinas	22
Elementos minerales	23
Vitaminas	23
Enzimas	24
Enzimas Lácteas.	24
Indicadores de Calidad	26
Recuento de Células Somáticas	26
Adulterantes	27
Marco Legal de la Leche Cruda en Colombia	28
Marco de Antecedentes	30
Bacterias	31
Metodología	33
Línea de Investigación	33
Tipo de Estudio	33
Procedimiento	33
Colecta de Material	33
Obtención de la Muestra	34
Análisis Composicional	35
Recuento de Células Somáticas	35
Perfil de Sensibilidad In-Vitro	36
Pruebas Bioquímicas	36
Prueba de Manitol.	37
Triple Sugar Iron Agar (TSI).	37
Superficie Alcalina/Profundidad Alcalina (Pico Rojo/Fondo Rojo)..	38
La Presencia de Burbujas o la Ruptura del Medio de Cultivo.	38
El Ennegrecimiento del Medio.	38

Lisina Hierro Agar (LIA).	38
Descarboxilación de la Lisina.	38
Desaminación de la Lisina.	38
Producción de SH ₂ .	39
Citrato.	39
Análisis de Cambio de Color.	39
SIM.	39
Movilidad.	40
Producción de SH ₂ .	40
Prueba de Indol.	40
Mueller Hinton.	40
Caldo de Cultivo.	41
Agar Sangre	41
Agar MacConkey	42
Inoculación y Siembra en los Diferentes Procesos de Agares	44
Preparación del Cultivo Bacteriano	44
Esterilización del Asa bacteriológica	45
Inoculación en Placa	45
Inoculación en Tubo	45
Lazo de Siembra	45
Siembra de Cuadrantes	45
Invertir las Placas	45
Incubación	45
Técnica de Aislamiento	47
Técnica de Aislamiento por Estría Escocesa o Agotamiento en Placa	47
Resultados	50
Clasificación Bacteriana Según Pruebas Bioquímicas	51
SIM	51
Resultados del Laboratorio Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)	56
Discusión	58
Conclusiones	63
Recomendaciones	65
Bibliografía	67

Lista de Tablas

TABLA 1. RESULTADOS DE MUESTREOS 1,2,3 DENE SE IDENTIFICAN VALORES DE CÉLULAS SOMÁTICAS GRASAS, PROTEÍNAS, SOLIDOS TOTALES EN CINCO FINCAS LECHERAS PRODUCTORAS.	57
TABLA 2. PROMEDIO DE RESULTADOS DE VALORES DE CÉLULAS SOMÁTICAS, GRASAS, PROTEÍNAS Y SOLIDOS TOTALES, EN CINCO FINCAS PRODUCTORAS.	58

Lista de imágenes

IMAGEN 1. <i>RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LECHE</i>	34
IMAGEN 2. <i>MARCACIÓN Y ENVIÓ DE MUESTRAS DE LECHE</i>	36
IMAGEN 3. <i>SERIES UTILIZADAS PARA LA IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA.</i>	37
IMAGEN 4. <i>PREPARACIÓN DE AGAR SANGRE</i>	42
IMAGEN 5. <i>PREPARACIÓN DE AGAR MACCONKEY.</i>	43
IMAGEN 6. <i>INOCULACION Y SIEMBRA DE MUESTRAS</i>	45
IMAGEN 7. <i>SIEMBRA POR ESTRÍA ESCOCESA.</i>	48
IMAGEN 8. <i>PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE SIM</i>	52
IMAGEN 9. <i>PRUEBA DE INDOL</i>	52
IMAGEN 10. <i>PRUEBA BIOQUÍMICA TSI</i>	53
IMAGEN 11. <i>PRUEBA BIOQUÍMICA LIA</i>	53
IMAGEN 12. <i>PRUEBA BIOQUÍMICA CITRATO</i>	54
IMAGEN 13. <i>ANTIBIOGRAMA 3A.</i>	56

Lista de Cuadros

CUADRO 1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA LECHE.	26
CUADRO 2. REGLAMENTACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE CRUDA EN COLOMBIA.	29
CUADRO 3. RESULTADOS DE LOS MICROORGANISMOS INCUBADOS POR 24 Y 48 HORAS EN ÁGAR SANGRE Y ÁGAR MACCONKEY.	51
CUADRO 4. RESULTADOS DE POSITIVIDAD Y NEGATIVIDAD DE VACTERIAS PROVENIENTES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO CON LOS DIFERENTES AGARES: SIM, TSI, LIA Y CITRATO.	54

Resumen

Los parámetros de calidad en la leche son un aspecto fundamental tanto para la industria láctea como para la salud de los consumidores. En este estudio se examinan indicadores clave que incluyen la composición fisicoquímica de la leche, como su contenido de grasa, proteínas, sólidos totales y el recuento de células somáticas, lo que afecta directamente su valor nutricional y sus propiedades organolépticas.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los parámetros de calidad de la leche cruda en cinco tanques de enfriamiento en el municipio de Popayán, Cauca. Se colectaron muestras de cinco tanques con intervalos de 30 días, y se analizaron parámetros como la presencia de bacterias, la calidad fisicoquímica y recuento de células somáticas.

Respecto a los parámetros microbiológicos se encontró que hubo mayor presencia de bacterias de tipo *Enterobacteriaceae* como la *Klebsiella pneumoniae* con un porcentaje promedio de 50%, el 37,5% correspondió a *Citrobacter freundii* y el 12,5% correspondiente a *Escherichia coli*. En cuanto a la calidad fisicoquímica el promedio de grasa en las muestras de las cinco fincas fue de 4.1%, el promedio de proteínas 3.13%, sólidos totales 13.18% y el recuento de células somáticas 484.597 cel/ml. Finalmente se evidencia la presencia de microorganismos en las muestras de leche de los cinco tanques de enfriamiento, los cuales generan una degradación ya que la leche es un producto sensible a la proliferación de agentes microbiológicos por la resistencia de antibióticos, así mismo, influyen en la calidad composicional y aprovechamiento nutricional, implicando un impacto para la salud pública.

Palabras clave: Células somáticas, análisis microbio, grasa, proteína, antibiograma.

Abstract

Quality parameters in milk are a key issue for both the dairy industry and consumer health. This study examines key indicators that include the physicochemical composition of milk, such as its fat content, proteins, total solids and somatic cell count, which directly affects its nutritional value and organoleptic properties.

The objective of this study was to evaluate the quality parameters of raw milk in five cooling tanks in the municipality of Popayán, Cauca. Samples were collected from five tanks at 30-day intervals, and parameters such as bacteria, physicochemical quality and somatic cell count were analyzed.

Microbiological parameters showed a greater presence of Enterobacteriaceae type bacteria such as *Klebsiella pneumoniae* with an average percentage of 50%, 37.5% corresponded to *Citrobacter freundii* and 12.5% to *Escherichia coli*. In terms of physicochemical quality, the average fat in the samples of the five farms was 61.97%, the average protein 46.971%, total solids 197.74% and somatic cell count 6.635.846%.

Finally, the presence of microorganisms is evidenced in the milk samples of the five cooling tanks, which generate a degradation since milk is a product sensitive to the proliferation of microbiological agents by antibiotic resistance, also influence compositional quality and nutritional use, implying an impact on public health.

Keywords: somatic cells, microbiological analysis, fat, protein and antibiogram.

Introducción

En Colombia existen dos tipos de producción lechera, la especializada y la de doble propósito. Cada una se establece en territorios diferentes del país.

La lechería especializada, se caracteriza por presentar la mayor adaptación de *Bos taurus*, como Holstein, Jersey, Pardo suizo, Ayrshire, Normando, entre otras, se localiza en las zonas de trópico alto como el altiplano cundiboyacense, altiplano nariñense, altiplano norte y nordeste de Antioquia. Con un uso intensivo de los factores de producción como lo son tierra, capital y mano de obra, junto con uso de fertilizantes, riego, rotación de praderas, utilización de suplementos alimenticios y dos ordeños en el día (Sáenz, 2021).

A diferencia del sistema doble propósito, se localiza en las zonas de trópico bajo como la Costa Atlántica, Valles de los ríos Magdalena, Cauca, Piedemonte Llanero y Caqueteño, caracterizadas por ser una ganadería de tipo extensivo debido a la alta disponibilidad de tierras en estas zonas, su producción de leche se hace con base en las razas cebuinas (*Bos indicus*) o sus cruces con las razas europeas (*Bos taurus*). Estas diferencias en el sistema de producción se ven reflejadas en la estructura de costos de la canasta láctea, en cada uno de los sistemas de producción descritos. (Calderón, Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia, 2006).

La calidad higiénica de la leche tiene una importancia fundamental para la producción de una leche y productos lácteos que sean inocuos e idóneos para los usos previstos. Para lograr esta calidad, se han de aplicar buenas prácticas de higiene a lo largo de toda la cadena láctea. Los productores de leche a pequeña escala encuentran dificultades para producir productos higiénicos por causas como la comercialización, manipulación y procesamiento informal y no reglamentada de los productos lácteos; la falta de incentivos financieros para introducir mejoras en la calidad, y

el nivel insuficiente de conocimientos y competencias en materia de prácticas de higiene (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).

Las particularidades que definen la calidad de la leche básicamente son: características nutricionales y microbiológicas. Las características nutricionales se definen como el porcentaje de los diferentes constituyentes químicos como: proteínas, grasa, lactosa, minerales, vitaminas, sólidos no grasos y sólidos totales entre otros. La calidad microbiológica se refiere a la concentración de las bacterias de la leche, presencia de microorganismos patógenos, de residuos de antibióticos y medicamentos (inhibidores); los cuales pueden afectar la salud humana y los procesos de transformación de la leche, como lo son los altos conteos de bacterias y de células somáticas que pueden llegar a producir alteraciones en las propiedades nutritivas y organolépticas de la leche reduciendo así mismo la vida útil de los derivados lácteos (Organización DGPA).

La producción de leche de calidad higiénica, como todo sistema productivo, resulta sumamente complejo, más aún que otros ya que, el producto a manejar es extremadamente delicado, afectándose mucho por la manipulación. En la producción de la leche, interactúan innumerables factores y todos de una manera u otra se encuentran relacionados. Las bacterias son normalmente destruidas por la pasteurización, pero en países como Colombia las bacterias patógenas constituyen un serio problema de salud pública, por la costumbre de consumir leche cruda y procesar algunos derivados lácteos a partir de leches crudas. La brucelosis, leptospirosis, listeriosis, salmonelosis y tuberculosis son algunas de las zoonosis bacterianas que pueden ser transmitidas por el consumo de leches crudas (Gaspar de los Reyes González, 2010).

“Al examinar la cadena láctea, desde el productor hasta el consumidor, se puede hacer un análisis de todos los factores que afectan la calidad de la leche y sus derivados. Así el mejoramiento de la calidad higiénica de la leche se realiza a través de un proceso simple y de

resultados rápidos que empiezan con el mejoramiento de las prácticas de ordeño con el fin de evitar la contaminación de la leche y con una perfecta higienización de las cantinas o de los tanques de almacenamiento” (Calderón, Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia, 2006).

“La estructura del frío en la finca como a lo largo de toda la cadena es una variable importante en la conservación de la calidad de la leche, el establecimiento de esta no sólo ayuda a mantener la calidad, sino que optimiza el ordeño y la recolección de la leche por parte de la industria. Una deficiente infraestructura de la red de frío es una de las limitaciones más graves para el fortalecimiento de la industria láctea. También el inadecuado transporte agrava la deficiente calidad de la leche fresca, ya que, al hacer uso de vehículos no aptos sin ningún tipo de refrigeración, al recorrido de largas distancias, condiciones que favorecen el crecimiento bacteriano, muchas veces ayudado por las altas temperaturas ambientales” (Hanna Instrument)

Justificación

La calidad de la leche implica principalmente la composición en el producto, la presencia de microorganismos y adulteraciones, y está directamente influenciada por las condiciones de ordeño, nutrición y manipulación de los animales. Para conocer dicha calidad en los diferentes aspectos, es necesario la realización de pruebas específicas. Además, monitorear la composición de la leche, los aspectos higiénicos del ordeño y detectar fraudes y adulterantes en el producto también es un requisito legal en varios países de América Latina. En Colombia, los indicadores de calidad de la leche están establecidos por el Gobierno Nacional mediante el Decreto 616 de 2006, en el cual se expidió el reglamento técnico que señala los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercialice, expendia, importe o exporte en el país (Ministerio de protección social, 2011).

En virtud de las exigencias nacionales e internacionales respecto a la calidad e inocuidad de la leche y de la ausencia de estudios, sumado con la carencia de datos referente a la calidad microbiológica, fisicoquímica y organoléptica. Tres aspectos que unidos, pueden contribuir favorablemente a la mejora del sector de esta zona lechera, con el beneficio consecuente de un mejor producto para el productor, empresa, consumidor y desarrollo para la región.

El presente estudio investigó microbiológica, fisicoquímica y organoléptica la cadena de producción de la leche, se recolectaron muestras de leche de vaca de 5 tanques de enfriamiento en 5 fincas productoras. Las fincas seleccionadas para el estudio se encuentran en el municipio de Popayán, Cauca. Debido a que en esta región se concentró el estudio de la producción lechera, por ende, la importancia de esta investigación ya que, la calidad de la leche está estrechamente relacionada con las medidas de higiene aplicadas en la cadena de frío.

La cadena de frío se refiere al conjunto de procesos y condiciones que se deben cumplir para mantener la leche de vaca a una temperatura adecuada desde su producción hasta su consumo.

La higiene en la cadena de frío es esencial para garantizar la calidad e inocuidad de la leche. Algunas medidas de higiene importantes incluyen, mantener una temperatura constante y adecuada durante el transporte y almacenamiento de la leche.

Cumplir con las medidas de higiene en la cadena de frío es fundamental para garantizar la calidad y seguridad de la leche de vaca, evitando la proliferación de bacterias y asegurando que los consumidores puedan disfrutar de un producto de calidad.

Objetivos

Objetivo General

- Determinar los principales indicadores de calidad en muestras de leche cruda provenientes de cinco tanques de enfriamiento en fincas productoras de la vereda el Palmar, municipio Popayán, Cauca, Colombia.

Objetivos Específicos

- Realizar el recuento de células somáticas de las muestras de leche cruda provenientes de cinco tanques de enfriamiento de la vereda el Palmar, municipio de Popayán, Cauca, Colombia.
- Identificar los principales microorganismos presentes en muestras de leche cruda colectada de cinco tanques de enfriamiento de la vereda el Palmar, municipio de Popayán, Cauca, Colombia.
- Realizar el perfil de sensibilidad "in vitro" de los microorganismos aislados frente a los principales antibióticos utilizados en la región.

Marco Referencial

Marco Teórico

La leche de vaca es un alimento de primera necesidad, de gran demanda por su alto valor nutricional que se refleja en sus componentes, y es considerada un alimento básico en la dieta de niños, ancianos, enfermos, y en general de toda la población.

Los mamíferos dependen fundamentalmente de la leche en sus primeros períodos de vida y el hombre la ha aprovechado para su alimentación, empleando directamente y transformándola para la obtención de productos como el queso, yogurt y mantequilla, entre otros. (Mejía, 2005)

La leche por ser un alimento muy completo es un medio ideal para el crecimiento de microorganismos, los que, si no son eliminados, pueden convertirse en un riesgo para los consumidores. Así mismo, la leche puede ser un vehículo de enfermedades que pueden afectar a los consumidores, si no se realizan los controles de calidad necesarios en los procesos de la industrialización que parten en la granja y culminan en el consumidor final.

Al igual que los demás tipos de alimentos, la leche y los productos lácteos pueden provocar enfermedades. Factores como la contaminación y el crecimiento de patógenos, los aditivos químicos, la contaminación ambiental y la descomposición de los nutrientes pueden afectar a la calidad de la leche. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2022)

Los peligros microbiológicos son un importante problema de inocuidad de los alimentos en el sector lechero porque la leche es un medio ideal para el crecimiento de bacterias y otros microbios. Estos se pueden introducir en la leche a partir del medio ambiente o de los mismos animales lecheros. La leche puede contener microorganismos nocivos como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus*

aureus, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus* y *Brucella melitensis*. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2022)

Los peligros químicos se pueden introducir accidentalmente en la leche y los productos lácteos y transformarlos en peligrosos e inadecuados para el consumo. La leche puede contaminarse cuando los animales lecheros consumen piensos o agua que contienen sustancias químicas. Otras causas de contaminación pueden ser el control inadecuado del equipo, el entorno y las instalaciones de almacenamiento de la leche. Entre los peligros químicos cabe mencionar productos como detergentes, desinfectantes de pezones, desinfectantes lácteos, antiparasitarios, antibióticos, herbicidas, plaguicidas y fungicidas. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2022)

Las infecciones zoonóticas comúnmente asociadas al consumo de leche y productos lácteos son la tuberculosis, la brucelosis, la leptospirosis, la salmonelosis y la listeriosis. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2022)

En el sector lácteo colombiano, una leche de buena calidad tiene una composición de grasa mayor de 3.6%, proteína mayor de 3.07%, Sólidos Totales (ST) mayores 12.1%, lactosa mayor a 4.7%, Nitrógeno Ureico en Leche (MUN, urea nitrogen in milk) en un rango entre 12-18 mg/dl, y Recuento de células somáticas (RCS) menores de 400.000 CS/ United Nations Models ml (Comisión mundial sobre el medio ambiente y desarrollo, 1987-2013):

Composición Nutricional de la Leche

Agua

Es la fase dispersante, en la cual los glóbulos grasos y demás componentes de mayor tamaño se encuentran emulsionados o suspendidos. Las sustancias proteicas se encuentran

formando un coloide en estado de “sol” liófilo (albúmina) o liófobo (caseína y globulina), mientras que la lactosa y las sales se hallan en forma de solución verdadera. El peso específico de la leche oscila entre 1.027 y 1.035, con una media de 1.032. El punto de congelación se encuentra por término medio entre $-0.54\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-0.55\text{ }^{\circ}\text{C}$ (valores límites: $-0.51\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-0.59\text{ }^{\circ}\text{C}$) en virtud de la lactosa y sales disueltas; la técnica de su determinación se llama crioscopía y ha sido también adoptada en el examen de la leche para determinar posibles adulteraciones por adición de agua. También puede influir sobre el punto de congelación de la leche la acidificación, en cuyo caso el punto crioscópico disminuye y el calentamiento de la leche origina la elevación del punto de congelación (Mejía, 2005).

Grasa

Según el sector colombiano, una leche de buena calidad tiene una composición de grasa mayor de 3.6%; para obtener resultados válidos y verídicos, se requiere una agitación adecuada del tanque de almacenamiento de leche, con el fin de asegurar la adecuada homogeneización de sus componentes antes del muestreo. Existe un acuerdo general entre los diversos países y organismos (DFO, Productores lácteos de Ontario; IDF: Federación Internacional de Productos Lácteos) que recomiendan cinco minutos de agitación para los tanques pequeños y diez minutos para los tanques grandes, con el fin de asegurar la homogeneidad de la muestra (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).

La grasa de la leche se forma en las células secretoras de la glándula mamaria cuando los ácidos grasos se combinan con glicerol y se convierten en grasa neutra, llamada triglicéridos (TGS). Los ácidos grasos se derivan de tres fuentes principales representadas por la grasa corporal, las grasas dietéticas y la síntesis en la glándula mamaria. (Edmonson et al., 1989).

Las grasas dietéticas consisten principalmente en ácidos grasos de cadena larga, el uso de grasa protegida (grasa tratada con tránsito sin cambios a través del rumen) puede aumentar el

contenido de grasa de la leche. Sin embargo, los ácidos grasos de cadena corta y los ácidos poliinsaturados en la dieta pueden conducir a una disminución en el contenido de la grasa de la leche (Mayer, 2021).

Los ácidos grasos también se sintetizan en la glándula mamaria a partir de acetato, que se absorbe como producto de la fermentación ruminal. Las dietas altas en fibra, que promueven un aumento en los niveles de acetato de rumen, pueden generar un aumento en la producción de grasa de la leche (Hongyu Wen, 2010).

En rumiantes domésticos con mastitis, el contenido de grasa de la leche se reduce; las vacas generalmente producen entre 3% y 5% de grasa, la reducción de grasa en la leche en vacas con mastitis tiene un impacto negativo en la producción de productos lácteos, así como también reduce la calidad nutricional y sensorial de la leche, ya que la grasa está involucrada en la palatabilidad y sabor del producto (Cavalcanti, 2010).

Proteína

Según el sector colombiano, una leche de buena calidad tiene una composición de proteínas mayor de 3.07% (Repository). La mayoría de las proteínas de la leche están en forma de caseína; los aminoácidos son transportados a la ubre por el torrente sanguíneo y se transforman en caseína por las células alveolares de la glándula mamaria. Una vez formada, la caseína es secretada por estas células mediante un mecanismo similar al de las gotas de grasa (Hongyu Wen, 2010). El contenido energético de la dieta tiene un mayor efecto sobre el contenido de caseína de la leche, mientras que la proteína de la dieta tiene menor influencia en el contenido de proteína de la leche. Otros tipos de proteínas presentes en la leche en pequeñas cantidades son la albúmina y las globulinas, que se transfieren directamente de la sangre a la leche (Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura, 2023).

La leche con presencia de mastitis tiene un bajo contenido de caseína y altos niveles de albúmina y globulina. El contenido total de proteínas de la leche con mastitis puede permanecer constante, pero es un producto de calidad inferior para la industria, ya que la coagulación de la caseína es muy importante como parte del proceso de producción de queso y yogur. Así mismo, la leche mastítica contiene niveles aumentados de la enzima plasmina, que descompone la caseína en la leche almacenada.

Además, la plasmina no se destruye por pasteurización y permanece viable a una temperatura de almacenamiento de 4 °C a 8 °C en los supermercados. Por lo tanto, la leche mastítica puede continuar degradando incluso después de la pasteurización y el almacenamiento a 4 °C, un hecho que justifica la política industrial de bonificación al productor por una leche de mejor calidad, con respecto a la composición, baja celularidad y TCC (Recuento bacteriano total) (Hongyu Wen, 2010).

Sólidos Totales (ST)

Según el sector colombiano, una leche de buena calidad tiene una composición de ST mayores a 12.1% (Repository). El extracto seco es el resto de la evaporación completa del agua, el cual incluye proteínas, grasas, lactosa y materia mineral. La cuantificación del extracto seco es un parámetro importante en la evaluación de los principales componentes de la leche. El nivel normal de ST en vacas es del 12.5% y puede disminuir en animales con mastitis (Motta, 2012; Malek Dos Reis et al., 2013).

Lactosa

La lactosa es el principal determinante osmótico de la leche, para mantener la leche en la misma concentración sanguínea, la lactosa aumenta o disminuye a medida que varía la concentración de otros componentes. Sin embargo, el pH de la leche (6.4 - 6.8) es ligeramente más bajo que el pH de la sangre (7.2 - 7.6); en animales con mastitis, los componentes

sanguíneos se mezclan con la leche, debido a la vasodilatación resultante del proceso inflamatorio, el pH de la leche termina aumentando (alcalinización), este parámetro se utiliza en la prueba de california para mastitis (CMT) con el fin de identificar animales con mastitis subclínica, debido a la presencia de un indicador de pH en el reactivo CMT (PYÖRÄLÄ, 2003).

Caseína

Siendo la proteína más abundante, además de ser la más característica de la leche por no encontrarse en otros alimentos. Existen tres tipos de caseína, los cuales son α , β y Kapa caseína, en la leche también se encuentra la albúmina y la globulina. El valor biológico de la caseína en la alimentación obedece a su contenido en aminoácidos esenciales que se separan de la parte acuosa por acción de enzimas como la renina o la quimiocina, que son las responsables de la precipitación de la proteína en la elaboración de quesos (Mejía, 2005).

El comportamiento de los diferentes tipos de caseína en la leche al ser tratada con calor, diferente pH (acidez) y diferentes concentraciones de sal, provee las características de los quesos, los productos de leche fermentada y las diferentes formas de leche (Wattiaux, 1999).

Albúmina

Es la proteína de la leche, que sigue en cantidad a la caseína, con una cifra aproximada de 0.5%. Mientras que la caseína es relativamente estable a la acción del calor, las albúminas se desnaturalizan con facilidad al calentarlas. Por esta razón durante el proceso de calentamiento a altas temperaturas se destruye gran parte de la proteína sérica. (Mejía, 2005).

Globulinas

Las globulinas de la leche son proteínas de alto peso molecular que se encuentran preformadas en la sangre, también es posible que parte se produzca en las células del parénquima mamario. Son las proteínas que más fluctuaciones experimentan en el transcurso de un período de lactación, desde 9% al 16% del total de la proteína, que es la tasa que puede alcanzar en el

calostro, disminuye hasta ser de sólo unas milésimas de dicho porcentaje en las últimas etapas de la lactancia (Mejía, 2005).

Elementos minerales

La leche de vaca contiene Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Cu, P, fluoruros, yoduros. Además, se reconoce la presencia de otros elementos, como el Al, Mo y Ag. No obstante, en la membrana de los glóbulos grasos se encuentran en mayor concentración el Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P y Zn. Una parte de los metales, sobre todo los alcalinos y los halógenos, se encuentran libres en forma de iones en solución; el Ca, por el contrario, se halla en su mayor parte ligado a la caseína (Mejía, 2005).

Vitaminas

La leche contiene vitaminas como la A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, C, carotenos, nicotinamida, biotina, ácido fólico, su concentración está sujeta a grandes oscilaciones; en cuanto al calostro, posee una extraordinaria riqueza vitamínica, la cual contiene de 5 a 7 veces más vitamina C y de 3 a 5 veces más vitaminas B2, D y E que la leche normal. También influye la época del año, tiempo atmosférico, ambiente y la alimentación; este último factor repercute especialmente en los carotenos y en la vitamina A como consecuencia de la abundante ingestión de carotenos cuando la base de la alimentación son forrajes frescos. La vitamina E por su parte es 10% más abundante en épocas en que el ganado tiene acceso a forraje más tosco, lo cual posiblemente dependa del mayor contenido graso de la leche en verano. Por lo general, la concentración de las vitaminas hidrosolubles se conserva constantemente. En la vitamina C se observan fluctuaciones dependiendo de la alimentación, son variadas las influencias de la manipulación de la leche sobre su contenido vitamínico ya que en el simple almacenamiento se producen pérdidas de vitaminas, dependientes de la temperatura y de las radiaciones lumínicas (Mejía, 2005).

Enzimas

Las enzimas se aprovechan para efectos de inspección y control, ya que muchas de ellas influyen en la calidad de la leche y en el origen de distintas alteraciones. Sin embargo, las enzimas de la leche carecen de valor desde el punto de vista alimenticio, sobre todo para los organismos ya desarrollados (alfonso, 2015).

Enzimas Lácteas. Se clasifican en dos grupos, las enzimas corporales y las enzimáticas. Las primeras llegan directamente a la leche en la que se encuentran en forma libre procedentes de la sangre, o bien de las células corporales. Pero también pueden llegar a la leche con las células. En ambos casos se trata de enzimas originadas en el organismo. Las segundas se originan en la leche misma, producto de la acción de los gérmenes. Por otra parte, existen dos grupos de enzimas: las hidrolasas cuyo mecanismo de acción se caracteriza por un desdoblamiento hidrolítico, a este grupo pertenecen las esterases, lipasas, carbohidratasas y proteasas. Entre las esterases es importante la lipasa que actúa cuando la leche es depositada sin refrigeración, dándole un sabor rancio. Las lipasas se inactivan a temperaturas superiores a los 60 °C, por lo tanto, no son evidenciables después de la pasteurización. A las esterases pertenecen también las fosfatasa que se dividen en ácidas y alcalinas, la fosfatasa alcalina se encuentra preferentemente en la membrana proteica de los glóbulos grasos y es inactivada al someter la leche a procesos de calentamiento (62 °C durante 30 minutos o a 72 °C 15 segundos). El otro grupo de enzimas son las oxido-reductasas, las más importante son la catalasa y la peroxidasa que sirven como indicadores de calidad microbiológica de la leche (Alfonzo, 2015).

Cuadro 1. Composición nutricional de la leche.

Nutrientes	%
Agua	87,70
Glúcidos (lactosa)	4,70
Lípidos	3,60
Sustancias Nitrogenadas	3,30
Caseínas	2,70
Proteínas del suero	0,42
Nitrógeno no proteico	0,18
Sales minerales	0,70
Na	50
K	150
Ca	120
Mg	12
P	95
Fe	0,40
Cu	0,22

Zn	4,19
Vitaminas	Trazas
Enzimas	Trazas
Gases disueltos	5

Fuente. (Sustainable milk production systems in humid areas using farm resources, 2011).

Indicadores de Calidad

Recuento de Células Somáticas

Según el sector colombiano, una leche de buena calidad tiene un RCS menores de 400.000 Cs/ ml. El recuento de células somáticas es el número de células presentes en la leche, utilizado en las últimas décadas como un indicador de inflamación en la glándula mamaria y, en consecuencia, la calidad de la leche de vaca. Las células somáticas están compuestas de células inflamatorias (principalmente neutrófilos) y células epiteliales (Blowey; Edmonson, 2010).

En la leche de vaca normal se encuentra el 60% de los macrófagos, el 25% de los linfocitos y el 5% de los neutrófilos. En contraste, el 90% o más de todas las células presentes en la leche de un cuarto pezón infectado están representadas por células inflamatorias, especialmente neutrófilos, mientras que el resto son otras células inflamatorias y células secretoras de leche del tejido mamario (Nickerson, 2000).

En un estudio epidemiológico realizado en la Sabana de Bogotá y los Valles de Ubaté y Chiquinquirá se encontró un promedio de 383.000 cel/ml en tanques de leche (Álvarez, 2015). Los valores de células somáticas informados en casos de ausencia de infección mamaria oscilan entre 200.000 y 300.000 cel/ml, mientras que recuentos superiores a 800.000 cel/ml suelen estar

asociados con infecciones persistentes; la mayoría de los cuartos lecheros normales poseen menos de 100.000 cel/ml. Con el establecimiento de procesos inflamatorios en la glándula mamaria, el recuento de células se eleva excediendo con frecuencia de 500.000 células/ml (Mario F Cerón Muñoz, 2007). Conteos en tanque por debajo de 400.000 cel/ml son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no realizan un énfasis en particular en el control de la mastitis (Mario F Cerón Muñoz, 2007).

Las células somáticas participan en procesos inflamatorios causados por microorganismos infecciosos en la glándula mamaria a través del proceso de fagocitosis y ayudan en la reparación del tejido secretor dañado (Nickerson, 2000). El crecimiento del comercio internacional de productos lácteos ha llevado a muchos países a desarrollar estándares de cuantificación de células somáticas. La Unión Europea, Nueva Zelanda y Australia establecieron el límite de 400,000 cel/ml, Canadá estableció 500,000 cel/ml mientras que la mayoría de los estados en los EE. UU. Adoptan 750,000 cel/ml (Nickerson, 2000). Esta política del mercado y de la industria receptora de leche generó el sistema de bonificación para el productor de leche baja en células. En Colombia, aún no se ha reglamentado este parámetro para la leche cruda.

Adulterantes

Residuos de antimicrobianos/inhibidores de la multiplicación bacteriana, los antimicrobianos también se pueden clasificar como adulterantes cuando los productores no respetan los períodos de abstinencia de antimicrobianos recomendados para el tratamiento de animales, o usan productos para vacas secas en animales lactantes (Mayer, 2021). El uso de antimicrobianos es un procedimiento esencial en el tratamiento de enfermedades en animales destinados al consumo humano.

Los animales sanos generan alimentos seguros. Sin embargo, la industria láctea está bajo presión para justificar el uso de antimicrobianos en las vacas debido al riesgo de residuos en la leche. Esta preocupación surge de la posibilidad de aumentar la presión de selección de microorganismos resistentes que podrían transmitirse a los humanos, así como de reacciones indeseables causadas en personas que comen alimentos con residuos, como reacciones alérgicas, trastornos gastrointestinales, hígado y anemia (Montero, 2021).

El uso de antimicrobianos es común en el tratamiento de vacas durante la lactancia y también en la profilaxis de vacas secas (Koch, 2008). Por lo tanto, es necesario el uso racional de antimicrobianos en la mastitis, evitando la presencia de residuos y la presencia de aislamientos multirresistentes (Nickerson, 2000).

Marco Legal de la Leche Cruda en Colombia

Cuadro 2. Reglamentación sobre la calidad de la leche cruda en Colombia.

Reglamentación legal	Descripción	Observación
En el Plan Nacional de Desarrollo 2014 - 2018 la Política Nacional Logística.	En este sentido, la adopción de medidas como el acopio y enfriamiento de la leche cruda contribuirá a agregar valor a este producto y mejorar con ellos la situación actual que prevalece en las zonas productoras más apartadas	Además de atender las cadenas de comercio exterior, promueve la eficiencia y crecimiento de cadenas locales.

	(Observatorio Regional de Planificación para el Desarrollo, 2014).	
La Ley 1122 de 2007.	Otorga al Instituto Nacional de Alimentos y Bebidas, Invima la “competencia exclusiva de la inspección, vigilancia y control de la producción y procesamiento de alimentos” (El congreso de la republica de colombia , 2007).	Esta normatividad también rige las plantas de beneficio de animales y de los centros de acopio de leche.
Decreto 616 de 2006.	En el cual se establecen los requisitos que deben cumplir los hatos productores de leche, las buenas prácticas en el uso de los medicamentos veterinarios y de la alimentación animal (Ministerio de la proteccion social, 2006)	Establece las condiciones que se deben cumplir en el proceso de ordeño y sobre la salud e higiene del personal que realiza esta actividad.
La Resolución 2674 de 2013.	Se establecen los requisitos sanitarios que deben cumplir las personas naturales y/o jurídicas	Los parámetros para la notificación, permiso o registro sanitario de los

que ejercen actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos y materias primas (Ministerio de salud y protección social, 2013).

alimentos, según el riesgo en salud pública.

Decreto 1880 de 2011 y en la Resolución 017 de 2012	Los requisitos mínimos para la comercialización de la leche en el territorio nacional (Ministerio de protección social, 2011).	Se implementa el sistema de pago que registrará a este mercado y que, por tanto, recibirá el proveedor.
--	--	---

Fuente. (Guzman, 2021).

Marco de Antecedentes

Existen diferentes estudios en Latino América en donde se ha evaluado la calidad de la leche y los parámetros que inciden en la misma y gracias a esto se determina también la mala calidad de la leche. A nivel nacional el mayor porcentaje de rechazo lo tienen los hatos lecheros gracias a grandes recuento de células somáticas, lo cual motivó el presente estudio a evaluar parámetros fisicoquímicos y determinar qué valores alteran de forma positiva o negativa en los tanques de enfriamiento, donde llegan grandes cantidades de leche cruda sin refrigerar y determinar cómo afecta esta sinergia de leche de diferentes lugares y con diferentes valores, la

calidad microbiológica, fisicoquímica y organoléptica de la leche y qué papel cumple la refrigeración en los procesos de control de calidad e inocuidad de la leche.

Un estudio en Colombia determinó la calidad química mediante la medición de tres parámetros: sólidos totales, grasas y proteínas. La calidad de la leche cruda es aceptada cuando, el resultado de sólidos totales es mayor a 11,3 %, el de proteína mayor a 2.9 % y las grasas mayores a 3.0 %, valores de referencia tomados a partir de lo establecido en el (Ministerio de la protección social, 2006).

La determinación de la calidad química de la leche cruda comercializada se realizó para las tres pruebas en el 12 % (178/1526) de las muestras recolectadas. De estas, el 1 % (15/1526) fueron rechazadas para la prueba de proteínas, el 10,6 % (161/1526) para la prueba de grasas y el 44.5 % (679/1526) para la prueba de sólidos totales. Al realizar el análisis en conjunto de las tres pruebas (sólidos totales, grasas y proteínas) el 8.35 % (127/1526) de las muestras fueron aceptadas, el 12,1 % (185/1526) fueron rechazadas y el 39 % (602/1526) no se les realizó ninguna de las pruebas y al 40,1% (612/1526) se les procesó una o dos pruebas con resultado aceptable. La distribución de la calidad química de la leche por departamentos en donde el departamento de Nariño tuvo el menor porcentaje de aceptación, mientras que Antioquia presentó el mayor número de leches aceptadas, estos dos departamentos corresponden a la zona 1 de acuerdo con la clasificación de la Resolución 000017 de 2012, por tanto, se espera tengan un menor contenido de sólidos, por el tipo de ganado que se encuentra en estas zonas. No obstante, el resultado de Antioquia es prometedor y es el resultado de los diversos esfuerzos que han realizado en ese departamento gremios, asociaciones, universidades, centros de investigación y gobernación, entre otros (Ministerio de agricultura y desarrollo rural, 2012).

Del mismo modo, en el estado de Hidalgo se encontraron células somáticas en tres cuencas las cuales estaban por encima de los niveles normales. Los conteos de células somáticas indicaron, entre otras cosas, problemas de mastitis (Cervantes, 2013).

Así como también en el estudio de Contero en el trabajo calidad de la leche cruda y sistema de pago por calidad en el Ecuador, los resultados del estudio destacan un período común de descenso del CCS en todas las regiones partiendo de un valor promedio de $460 \times 10^3 \pm 118$ a $447 \times 10^3 \pm 32$ células/mL para el 2009 y 2018.

En el año 2018 las regiones Sierra Norte, Sierra Central y Amazonía presentaron valores de $<400 \times 10^3$ células/mL y la región de la Costa presentó un valor mayor a 500×10^3 células/mL (Contero, 2021).

Bacterias

La leche contiene pocas bacterias al extraerla de la ubre de una vaca sana, sin embargo, durante el ordeño, la leche se puede contaminar a partir del animal, especialmente de las zonas externas de la ubre y áreas próximas; del medio ambiente, desde el estiércol y el suelo, así como del lecho en el que descansan los animales, y a través del polvo, aire, agua e insectos (particularmente moscas). Probablemente las dos fuentes de contaminación más significativas sean el equipo y utensilios, utilizados para su obtención y recolección, así como las superficies que entran en contacto con la leche, incluidas las manos de los ordeñadores y demás personal (Mauricio Celis, 2009).

Un estudio en el Valle del Cauca, Colombia determinó la presencia de 14 bacterias aisladas en los cultivos, que fueron agrupadas con una prevalencia del 86% representados por: 1. ambientales. *Streptococcus spp.* (76.7%), *Citrobacter spp.* (50,8%), *Enterobacter spp.* (26.7%), *Streptococcus*

uberis (23.3 %), bacilos Grampositivos (16.7%), *Proteus spp.* (14.2%), *Pseudomonas spp.* (14.2%), *Klebsiella spp.* (5%), *Streptococcus dysgalactiae* (2.5%), *E. coli* (1,7%) y 2. Patógenos infecciosos con una prevalencia del 14% representados por: *Staphylococcus aureus* (38.3%) y *Streptococcus agalactiae* (15%) (Quiceno, 2017).

Resistencia de Antibióticos

La resistencia a los antimicrobianos ocurre naturalmente con el tiempo, generalmente a través de cambios genéticos. Sin embargo, el mal uso y el uso excesivo de antimicrobianos en la producción agropecuaria está acelerando este proceso. En muchos lugares, los antibióticos se usan en exceso y mal en animales de producción, y a menudo se administran sin supervisión profesional. La problemática afecta no solo la salud de personas, animales y el ambiente en general, sino que puede generar impactos de índole productiva y comercial (Quiceno, 2017).

Metodología

Línea de Investigación

Enmarcado dentro de la línea de investigación salud pública y medicina veterinaria preventiva.

Tipo de Estudio

El estudio de tipo descriptivo longitudinal se realizó en el municipio de Popayán, (Cauca, Colombia), “localizados entre a una altitud de 1.738 metros sobre el nivel del mar, msnm, con una temperatura media de 19 °C, se localiza a los 2° 27' norte y 76° 37' 18" de longitud oeste del meridiano de Greenwich y una humedad relativa de 82 %” (Alcaldía de Popayán).

Procedimiento

Colecta de Material

Imagen 1.

Recolección y almacenamiento de la leche cruda



Nota. Recolección y almacenamiento de leche que se realizó en todos los muestreos. Fuente: elaboración propia.

Se colectaron muestras de leche de 5 tanques de enfriamiento en 5 fincas productoras. Las fincas seleccionadas para el estudio se encuentran en el municipio de Popayán, Cauca. Para la colecta del material, el tanque de enfriamiento de cada finca productora estaba en constante agitación con el fin de que se mantuviera homogénea la leche, por un período de 5 a 10 minutos, dependiendo de la capacidad del tanque.

El investigador encargado de la colecta de muestras de la investigación primero realizó un lavado y desinfección de sus manos, y posteriormente se colocó guantes de látex con el fin de no contaminar la muestra. Una vez transcurrido el tiempo de 2 a 3 minutos de agitación de la leche en el tanque de enfriamiento, con un cucharón lavado, desinfectado y seco, se colectó el volumen requerido de leche e inmediatamente fue transferido a envases plásticos para su procesamiento. Para cada prueba realizada se colectó un envase plástico individual, ya que, las condiciones de

almacenamiento, conservación, transporte y destino son diferentes para cada análisis. Una vez realizada la colecta, las muestras se sellaron completamente, se rotularon, registraron en la planilla de campo y se dispusieron en neveras isotérmicas a una temperatura de 4 °C. Para cada análisis se colectó muestra y contramuestra por seguridad.

Se realizaron tres repeticiones a intervalos de 30 días durante el período de trabajo de campo con el fin de correlacionar factores climáticos con los patógenos identificados en las respectivas muestras.

Obtención de la Muestra

Para el almacenamiento de las muestras de leche cruda se utilizó recipientes con capacidad de 5 ml y etiquetados con el número del tanque de enfriamiento de la finca participante en el estudio.

Análisis Composicional

El análisis de los principales constituyentes de la leche (proteína total, grasa y sólidos totales) se realizó en el laboratorio de microbiología pecuaria y salud animal, localizado en la granja experimental Obonuco, municipio de Pasto. El análisis de las muestras se realizó por el método citometría de flujo con el equipamiento FOSS7(TM), de acuerdo con el requerimiento de la norma ISO 1336-2/2006.

Este análisis se realiza con el fin de obtener la determinación de grasa, proteína y sólidos totales de la leche, así mismo, definir la calidad de la leche y correlacionarse con la salud, estado nutricional y raza de las vacas productoras.

Recuento de Células Somáticas

Imagen 2.

Marcación y envío de muestras de leche



Nota. Este proceso se realizó respectivamente en cada toma de muestras. Fuente.

Elaboración propia.

Las muestras para RCS se colectaron en los tubos indicados, refrigeradas a 4 °C, adicionando conservante Azidol, donde estas se marcaron con su respectivo código, para después ser enviadas laboratorio de microbiología pecuaria y sanidad animal de AGROSAVIA en Obonuco, en el municipio de Pasto, Nariño. El análisis de los principales constituyentes de la leche (proteína total, grasa y sólidos totales) se realizó en el laboratorio de microbiología pecuaria y salud animal, localizado en la granja experimental Obonuco, municipio de Pasto. El análisis de las muestras se realizó por el método citometría de flujo con el equipamiento FOSS7(™), de acuerdo con el requerimiento de la norma ISO 1336-2/2006.

Perfil de Sensibilidad In-Vitro

Los microorganismos aislados e identificados por métodos microbiológicos fueron sometidos al test de sensibilidad “in vitro” por el método de difusión en discos (CLSI, Instituto de Estándares clínicos de laboratorio), en que se utilizó los principales antibióticos, como lo son: tetraciclina (30µg), penicilina (10µg), amoxicilina (10µg), amoxicilina + ácido clavulánico

(20/10 μg), eritromicina (15 μg), ampicilina + sulbactam (10/10 μg), empleados en la región para tratamiento de enfermedades en bovinos.

Pruebas Bioquímicas

Imagen 3.

Series utilizadas para la identificación bioquímica.



Nota. Elaboración de medios de siembra. Fuente. Elaboración propia.

Prueba de Manitol. “Sirve para detectar si los gérmenes son capaces de fermentar el manitol liberando productos ácidos que serán detectados gracias al indicador rojo de fenol que cambiará a color amarillo.

Bacterias manitol (-) son, dentro de las enterobacterias, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *Shigella dysenteriae*. Entre las bacterias de importancia clínica, la prueba del manitol sirve para diferenciar *Staphylococcus aureus* (+) de *Staphylococcus epidermidis* (-)” (Laboratorio Britania S.A., 2021)

Triple Sugar Iron Agar (TSI). “El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro” (Laboratorio Britania S.A., 2021).

Interpretación de resultados

Superficie Alcalina/Profundidad Ácida (Pico Rojo/Fondo Amarillo). “El microorganismo solamente fermenta la glucosa. Superficie Ácida/Profundidad Ácida (Pico Amarillo/Fondo Amarillo). El microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.

Superficie Alcalina/Profundidad Alcalina (Pico Rojo/Fondo Rojo). El microorganismo no es fermentador de azúcares.

La Presencia de Burbujas o la Ruptura del Medio de Cultivo. Indican que el microorganismo produce gas.

El Ennegrecimiento del Medio. “Indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico” (Laboratorio Britania S.A., 2021).

Lisina Hierro Agar (LIA).

“El ambiente ácido favorece la actividad enzimática decarboxilasa y se metaboliza la lisina a cadaverina elevando el pH del medio de cultivo y tornándolo al color púrpura o violeta. Los microorganismos fermentadores de glucosa que no tienen actividad lisina decarboxilasa producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al color amarillo.

A las 24 horas de incubación se observa el fondo del tubo color amarillo y la superficie de color violeta debido al consumo de las peptonas que producen alcalinidad. La generación de

sulfuro de hidrógeno se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro”.

Interpretación de resultados

Descarboxilación de la Lisina.

Resultado Positivo. superficie alcalina/profundidad alcalina (pico violeta/fondo violeta).

Resultado negativo. superficie alcalina /profundidad ácida (pico violeta/fondo amarillo).

Desaminación de la Lisina.

Resultado positivo, superficie rojiza/profundidad ácida. esto sucede con cepas del género *Proteus*, *Providencia* y algunas de *Morganella spp.*

Producción de SH₂.

Resultado positivo. ennegrecimiento del medio de cultivo (especialmente en el límite entre la superficie y profundidad).

Resultado negativo. el medio de cultivo permanece sin cambio de color.

Citrato.

“El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarboxílico. El desdoblamiento del citrato genera progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que, al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa”.

Análisis de Cambio de Color.

“**Resultado positivo.** Crecimiento bacteriano con un intenso color azul en el pico de flauta” (Laboratorio Britania, 2021).

“**Resultado negativo.** Ausencia de crecimiento y permanencia del color verde del medio de cultivo” (Laboratorio Britania, 2021).

SIM.

“El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas y particularmente de la tripteína y puede ser metabolizado por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa.

El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Ehrlich (Indol Reactivo o de Kovac’s), agregando de 3 a 5 gotas, para originar un compuesto de color rojo. A partir del tiosulfato de sodio los microorganismos pueden generar ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro presente formándose un compuesto de color negro. Medio semisólido, condición necesaria para detectar movilidad, que se evidencia por el enturbiamiento del medio o por crecimiento que difunde más allá de la línea de siembra del microorganismo en estudio” (Laboratorio Britania, 2021).

Interpretación de resultados

Movilidad.

Resultado positivo. presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra.

Resultado negativo. crecimiento solamente en la línea de siembra.

Producción de SH2.

Resultado positivo. ennegrecimiento del medio de cultivo a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.

Resultado negativo. el medio permanece sin cambio de color.

Prueba de Indol.

“Resultado positivo. color rojo” (Laboratorio Britania, 2021).

“Resultado negativo. el color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento” (Laboratorio Britania, 2021).

Mueller Hinton.

“Medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) antiguamente llamado National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a sus múltiples ventajas y a una gran cantidad de evidencia científica que avala el uso de este medio de cultivo” (Laboratorio Britania, 2021).

Caldo de Cultivo.

“Los caldos de cultivo son mezclas nutritivas utilizadas en laboratorios para promover el crecimiento de microorganismos, y así poder realizar la prueba in vitro de los sensidiscos” (MICROGENOLABG&M).

Agar Sangre

Imagen 4.

Preparación de Agar Sangre



Nota. En la imagen 4 se logró observar la adición de sangre bovina sobre la base del agar.

Fuente: elaboración propia.

“Es un medio enriquecido porque lleva como aditivo principal 5 % -10 % de sangre bovina sobre una base de agar. Ambos compuestos contienen muchos nutrientes y esta propiedad permite que en él puedan crecer la mayoría de las bacterias cultivables.

Así mismo, el agar sangre es un medio diferencial, ya que permite distinguir 3 tipos de bacterias: los betahemolíticos, alfa-hemolíticos y gamma-hemolíticos.

Los betahemolíticos son aquellos que tienen la capacidad de lisar o romper completamente los glóbulos rojos, formando un halo claro alrededor de las colonias, por tanto, producen hemólisis β ó β –hemólisis y los microorganismos son llamados β -hemolíticos.

Los alfa-hemolíticos son los que realizan una hemólisis parcial, donde la hemoglobina donde la hemoglobina es oxidada a metahemoglobina, generándose una coloración verdosa alrededor de las colonias. A este fenómeno se le conoce como hemólisis α ó α –hemólisis y a las bacterias se les clasifica como α – hemolíticos.

Por último, están las bacterias denominadas gamma-hemolíticas o no hemolíticas. Estas crecen sobre el agar sin generar cambios sobre el mismo, efecto conocido como γ –hemólisis,

y los microorganismos son γ –hemolíticos. Ejemplo de bacterias γ –hemolíticos: algunas cepas de *Streptococcus bovis* y *Enterococcus faecalis*” (Universidad Arturo Prat, 2021).

Agar MacConkey

Imagen 5.

Preparación de Agar MacConkey



Nota. En la imagen 5 se logró observar la adición del agar sobre una placa de Petri.

Fuente: elaboración propia.

“Es un medio de cultivo selectivo y diferencial ampliamente utilizado en microbiología para el aislamiento y diferenciación de bacterias gramnegativas, especialmente aquellas que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*.

Su función selectiva se debe a la inclusión de sales biliares y cristal violeta en el medio, lo que inhibe el crecimiento de bacterias grampositivas y permite el crecimiento de bacterias gramnegativas. Su función diferencial se basa en la capacidad de distinguir entre bacterias que fermentan lactosa y las que no lo hacen.

Las bacterias que fermentan la lactosa en el agar MacConkey producen ácido y dan lugar a colonias de color rosado o rojo debido a la presencia del indicador de pH neutral rojo de fenol. Las bacterias que no fermentan la lactosa no producen ácido y forman colonias de color incoloro” (Universidad Arturo Prat, 2021).

Inoculación y Siembra en los Diferentes Procesos de Agares

Imagen 6.

Inoculación y siembra de muestras



Nota. En la imagen 6 se evidenció el método que se realizó en las placas de Petri para la inoculación y siembra de las muestras obtenidas en cada muestreo. Fuente: elaboración propia.

La inoculación se refiere a una muestra o cantidad de microorganismos que se introduce intencionadamente en un medio de cultivo con el propósito de iniciar su crecimiento y multiplicación, habitualmente se trabaja al lado de la llama del mechero Bunsen. Para la toma del inóculo a partir de una muestra a examinar se recomienda realizar lo siguiente:

Preparación del Cultivo Bacteriano

Se debe de tener un cultivo bacteriano puro y bien desarrollado. Esto significa que se debe de tener una colonia única en una placa de Petri o en un tubo de agar inclinado.

Esterilización del Asa bacteriológica

Se calienta el extremo del asa bacteriológica en una llama (por ejemplo, un mechero Bunsen) hasta que esté al rojo vivo. Esto esteriliza el asa, eliminando cualquier contaminación que pueda estar presente.

Inoculación en Placa

Se abre ligeramente la tapa de la placa de Petri y se pasa el asa bacteriológica sobre la superficie del agar. Se puede realizar una línea, un zigzag o puntos en la superficie. A parte, se debe de asegurar de no presionar demasiado para evitar dañar el agar.

Inoculación en Tubo

Dado caso que se estén utilizando tubos de ensayo, se debe retirar la tapa del tubo y pasar el asa bacteriológica por el agar inclinado dentro del tubo. Luego, se vuelve a tapar el tubo.

Lazo de Siembra

En lugar de utilizar un asa bacteriológica, también se puede usar un lazo de siembra estéril para tomar una pequeña cantidad de cultivo bacteriano y transferirlo al medio de cultivo.

Siembra de Cuadrantes

En algunas ocasiones, especialmente cuando se quiere obtener colonias aisladas, se realiza una siembra en cuadrantes. Esto implica dividir la Placa de Petri en cuatro partes y sembrar diferentes muestras en cada cuadrante.

Invertir las Placas

Después de la siembra, se cierran las placas de Petri de asegurar de que estén invertidas. Esto evita que las gotas de condensación caigan sobre las colonias, lo que podría afectar los resultados.

Incubación

“Colocar las placas de Petri y los tubos en un incubador a la temperatura y condiciones adecuadas para el crecimiento de las bacterias que se están analizando” (Garcia, 2009-2010, pág. 20).

Técnica de Aislamiento

Técnica de Aislamiento por Estría Escocesa o Agotamiento en Placa

“La siembra por estría escocesa es un método cualitativo de aislamiento de microorganismos por agotamiento en placa de Petri a partir de una muestra natural o de un cultivo de laboratorio. Este método está basado en arrastrar, mediante un asa de siembra, un número cada vez más pequeño de individuos. Es un método rápido y simple de agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre un medio sólido contenido en una placa de Petri. El objetivo es obtener, a partir de un elevado número de bacterias, un número reducido de ellas distribuidas individualmente sobre la superficie de la placa de Petri. Al incubar la placa de Petri, y dejar crecer las bacterias distribuidas sobre ella, cada una de las bacterias originará una colonia” (García, 2009-2010, pág. 21).

Imagen 7.

Siembra por estría escocesa.



Nota. En la imagen 7 se evidenció la siembra por estrías escocesa de microorganismos, es un método utilizado en microbiología para sembrar bacterias u otros microorganismos en placas de Petri de cultivo de agar. Este método se utiliza para obtener colonias aisladas de microorganismos y facilitar su estudio y análisis. Fuente. Elaboración propia.

El proceso de siembra por estrías escocesa de microorganismos, se siembran pequeñas cantidades de una suspensión de microorganismos en los surcos o estrías en el agar. La suspensión de microorganismos se obtiene a partir de una muestra o cultivo previo, y se diluye para obtener una concentración adecuada.

Una vez que se han depositado las suspensiones de microorganismos en los surcos, se utiliza un asa de siembra estéril para extender el microorganismo a lo largo de la estría, cubriendo toda la superficie del agar. Esto se hace de manera cuidadosa para evitar la contaminación cruzada entre las estrías.

Después de la siembra, las placas de cultivo se incuban en condiciones adecuadas para el crecimiento de los microorganismos. Con el tiempo, los microorganismos se multiplican y forman colonias aisladas en las áreas donde se sembraron. Estas colonias pueden ser luego

analizadas y estudiadas para determinar características como la morfología, el crecimiento, la resistencia a antibióticos, entre otros.

La siembra por estrías escocesa de microorganismos es una técnica fundamental en microbiología y se utiliza ampliamente en laboratorios de investigación y diagnóstico. Permite obtener cultivos puros de microorganismos y facilita el estudio de su comportamiento y características.

En la imagen 7 también se observa el método que se realizó en las placas de Preti con un asa bacteriológica de punta redonda para la siembra de microorganismos; esta técnica se realizaba en sentido a las manecillas del reloj, haciendo un cuadrado sobre toda la superficie del agar y después se procedió a ponerla en la incubadora a una temperatura de 37°C para propiciar al crecimiento de las bacterias, y así obtener una lectura a las 24 horas, y después a las 48 horas.

Fuente: elaboración propia.

Cabe resaltar que, para mayor facilidad de manejo y diferenciación de los tres muestreos, debido a que el total de muestras para realizar el antibiograma fueron 8; se optó por realizar la diferenciación de las muestras de la siguiente manera: del muestreo N.º 1 identificarlos con la letra A, muestreo N.º 2 con la letra B y el N.º 3 con la letra C.

Resultados

A continuación, se mencionan los principales resultados obtenidos en los análisis respectivos.

Cuadro 3. Resultados de los microorganismos incubados por 24 y 48 horas en Agar Sangre y Agar MacConkey.

Microorganismos incubados por 24 y 48 horas		
Momento		
	Agar Sangre	Agar MacConkey
Momento 1	Colonia lactosa positiva	Bacilos Gram negativos

	Bacterias lactosa positiva	Colonias B- hemolíticas y no hemolíticas
Momento 2	Colonias diminutas	Lactosa positiva
Momento 3	Bacilos Gramnegativos	Lactosa negativa → Prueba oxidasa
	Colonias puntiformes no hemolíticas → Prueba catalasa	
	B-hemolítica → Prueba catalasa	
	Catalasa positiva	

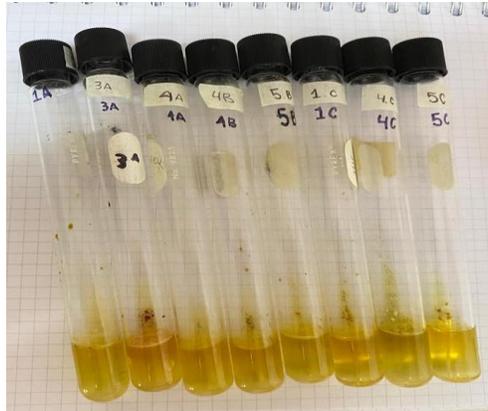
Nota. Dentro de los resultados con los cultivos, se encontró con mayor frecuencia colonias con características redondas, colonias B-hemolíticas y no hemolíticas redondas; y en el Agar MacConkey, se observó colonias de lactosa tanto positiva como negativa, donde la reacción positiva la indica un color azul-violeta intenso antes de 10 segundos, colonias B-Hemolíticas y no hemolíticas.

Clasificación Bacteriana Según Pruebas Bioquímicas

SIM

Imagen 8.

Pruebas bioquímicas de SIM



Nota. Se observó la movilidad y el color del medio de cultivo. Fuente: elaboración propia.

Imagen 9.

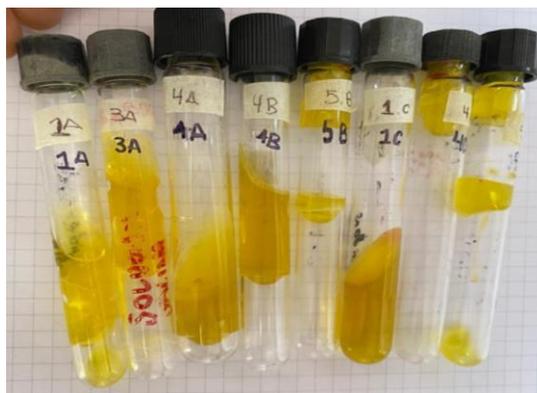
Prueba de indol



Nota. El resultado de la imagen 9 significa que es positivo para la bacteria *Escherichia Coli* pertenece al orden de las Eubacteriales, familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Escherichieae*. género *Escherichia*, y especie coli, es gramnegativa. Fuente. Elaboración propia

Imagen 10.

Prueba bioquímica TSI



Nota. Los microorganismos que se observan en la imagen 10 son cultivos que fermentan glucosa, lactosa y/o sacarosa, además de la producción de gas. Fuente: elaboración propia.

LIA

Imagen 11.

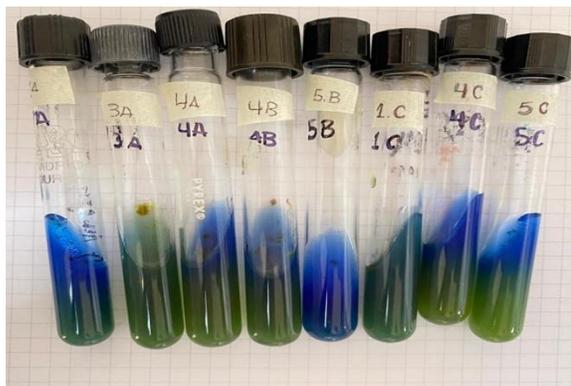
Prueba bioquímica LIA



Nota. La imagen 11 mostró un resultado positivo, ya que hubo cambio del color original y ennegrecimiento del medio de algunos cultivos 4B, 1C y 4C (especialmente en el límite entre la superficie y profundidad), debido a la formación de sulfuro de hierro. Fuente: elaboración propia.

Imagen 12.

Prueba bioquímica citrato



Nota. La imagen 12 representa un resultado positivo, los microorganismos generaron una reacción química debido a que fueron capaces de utilizar el citrato como fuente de carbono y energía. Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 4. Resultados de positividad y negatividad de bacterias provenientes de los medios de cultivo con los diferentes agares: SIM, TSI, LIA y Citrato.

Bacterias	Muestra	SIM		TSI				LIA			Citrat o	
		H2S	Indo l	Mo t	Glu c	Lact -Sac	Gas	H2 S	L- desca r	L- desa m		H2S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Muestra 1A	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+
<i>E. coli</i>	Muestra 3A	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Muestra 4A	-	-	v-	+	+	+	-	+	-	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	Muestra 4B	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Muestra 5B	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	V
<i>Citrobacter diversus</i>	Muestra 1C	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	V

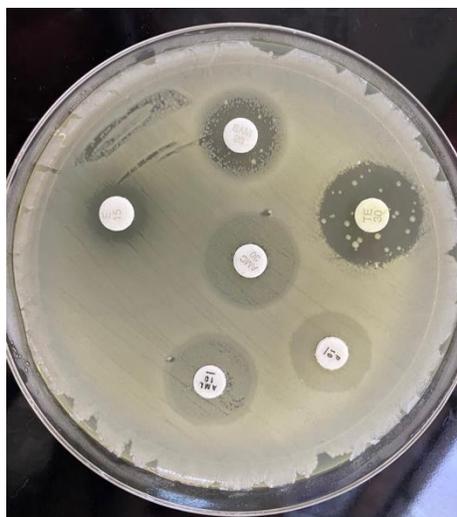
Nota. De las 15 muestras que se recolectaron, sólo hubo crecimiento en 8 cultivos, siendo este el 100 %; de los cuales el 50 % correspondió a *Klebsiella pneumoniae*, el 37,5 % correspondió a *Citrobacter freundii* y el 12,5 % correspondiente a *Escherichia coli*. Fuente.

Elaboración propia

Resultado de Antibiogramas

Imagen 13.

Antibiograma 3A.



Nota. De las 8 muestras analizadas con los 6 grupos de antibióticos, la TE (tetraciclina) el 50 % presentó una pérdida de sensibilidad, mientras que el otro 50 % no presentó resistencia a este antibiótico; SAM (ampicilina + sulbactam) el 100 % no presentó resistencia, en cambio, la E (eritromicina) el 62,5 % de las muestras presentaron resistencia y el 37,5 % una leve pérdida de sensibilidad; AML (amoxicilina) presentó el 75 % en pérdida de sensibilidad, un 12,5 % presentó resistencia y el otro 12,5 % no generó resistencia; AMC (amoxicilina + ácido clavulánico) el 75 % presentaron pérdida de sensibilidad y el 25 % una leve resistencia; por último, la penicilina tuvo un 87,5 % de pérdida de sensibilidad y un 12,5 % no generó resistencia al antibiótico.

Fuente. Elaboración propia

Resultados del Laboratorio Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

(AGROSAVIA)

Tabla 1. Resultados de muestreos 1,2,3 donde se identifican valores de células somáticas grasas, proteínas, sólidos totales en cinco fincas lecheras productoras.

Muestra	Finca	Determinación grasa g/100g	Determinación proteína g/100g	Determinación solidos totales g/100g	Recuento de células somáticas
Muestreo 1	1	3.520	2.9940	12.7500	192872
	2	4.240	3.1570	13.5230	1072415
	3	4.000	3.0790	13.2350	223474
	4	439998	4.440	3.2470	13.8270
	5	48492	1.110	3.2790	10.110
Muestreo 2	1	3.570	2.8860	12.6500	309418
	2	8.950	2.9270	17.9480	1882253
	3	3.970	3.1470	13.3170	223170
	4	4.250	3.1970	13.5580	428680
	5	5.620	3.4480	14.9270	580907

Muestreo 3	1	3.040	2.8610	11.5020	239522
	2	3.770	3.2000	12.6310	222785
	3	3.530	3.1340	12.2080	186479
	4	4.020	3.2370	12.6880	659706
	5	3.940	3.1780	12.6650	558798

Nota. Los valores que se encuentran en la tabla son los determinantes para clasificar la calidad y salubridad de la leche cruda obtenida de los tanques de enfriamiento en el municipio de Popayán, Cauca. Fuente. Elaboración propia

Tabla 2. Promedio de resultados de valores de células somáticas, grasas, proteínas y sólidos totales, en cinco fincas productoras.

Finc	Determinación de	Determinación de	Determinación de	Determinación de
a	Grasa	Proteína	Sólidos Totales	Células
	g/100g	G/100g	g/100g	Somáticas
1	3.37	2.913	12.300	247.270
2	5.65	3.094	14.700	1.059.151

3	3.83	3.12	12.92	211.041
4	4.68	3.312	13.814	509.461
5	3.1	3.218	12.178	396.065

Nota. Un valor para resaltar es que la finca número dos se encontró con el mayor valor de células somáticas, y eso en conjunto con sus altos valores de grasa, sólidos totales y un valor aceptable de proteína, reflejó el cambio en las buenas prácticas ganaderas y plan alimenticio.

Fuente. Elaboración propia.

Discusión

La cadena de producción de la industria láctea es de gran importancia en Popayán, Cauca, Colombia, ya que esta región es reconocida por su producción de leche y productos lácteos de alta calidad.

En una revisión realizada por el sector colombiano sobre el recuento de células somáticas se describe que una leche de buena calidad tiene un RCS menores de 400.000 Cs/ ml. Cabe resaltar que en un estudio epidemiológico realizado en la Sabana de Bogotá y los Valles de Ubaté y Chiquinquirá se encontró un promedio de 383.000 cel/ml en tanques de leche (Mario F Cerón Muñoz, 2007).

Los valores de células somáticas informados en casos de ausencia de infección mamaria oscilan entre 200.000 y 300.000 cel/ml, mientras que recuentos superiores a 500.000 cel/ml indican procesos inflamatorios en la glándula mamaria y los recuentos de células iguales o

mayores a 800.000 cel/ml suelen estar asociados con infecciones persistentes. Conteos en tanque por debajo de 400.000 cel/ml son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no realizan un énfasis en particular en el control de la mastitis (Mario F Cerón Muñoz, 2007).

Comparando este estudio (Mario F Cerón Muñoz, 2007) con la investigación realizada se puede constatar que la finca número 1,3 y 5 se encuentra en ausencia de infección mamaria con el valor promedio de 284.791 cel/ml respectivamente, en la finca número 4 con un valor promedio de 509.461 cel/ml y la finca número 2 con un valor promedio de 1.059.151 cel/ml se pueden asociar a los siguientes factores: malas prácticas de ordeño, higiene, refrigeración y almacenamiento.

En las fincas número 2 y 4 se observa un aumento elevado de células somáticas donde se puede deducir que presentan problemas como los niveles elevados de células somáticas de manera anormal pueden ser resultado de diversos factores: 1. La vaca está infectada con microorganismos causantes de la mastitis 2. Fase de lactación. 3. La ubre ha sufrido alguna lesión. 4. Variaciones diarias y de temporada. 5. Frecuencia de ordeño. 6. Estrés. 7. Variación fisiológica. 8. Cantidad de cuartos o vacas afectadas (Hernández Reyes, 2008).

El recuento de células somáticas aumentadas genera grandes impactos en los productos lácteos de consumo humano, ya que aparte de ser un indicativo indirecto de salud animal que refleja procesos de infecciones bacterianas desencadenando una inflamación como la mastitis, causando así, el aumento de la degradación de proteínas, grasa y caseína de la leche, generando productos de menor calidad y conservación

Un dato de gran importancia que se debe resaltar es que los estudios en tanque producen un resultado general de la finca, siendo este muy diferente a un estudio individualizado de cada animal.

Como los resultados obtenidos no se encuentran correlacionados entre aumento de células somáticas y disminución de la proteína y grasa (ya que se encuentran, por el contrario, aumentadas), es de súbita importancia realizar análisis individuales para determinar el estatus sanitario de cada animal y determinar que animales en específico están alterando el resultado de células somáticas del recuento total en tanque.

Según el autor (Organización mundial de la salud) indica que la resistencia a los antimicrobianos ocurre naturalmente con el tiempo, generalmente a través de cambios genéticos. Sin embargo, el mal uso y el uso excesivo de antimicrobianos en la producción agropecuaria está acelerando este proceso. En muchos lugares, los antibióticos se usan en exceso y mal en animales de producción, y a menudo se administran sin supervisión profesional. La problemática afecta no solo la salud de personas, animales y el ambiente en general, sino que puede generar impactos de índole productiva y comercial. Esto se puede corroborar en la presente investigación, que el total de las 8 muestras analizadas con los 6 grupos de antibióticos, la TE (tetraciclina) el 50 % presentó una pérdida de sensibilidad, mientras que el otro 50 % no presentó resistencia a este antibiótico; SAM (ampicilina + sulbactam) el 100 % no presentó resistencia, en cambio, la E (eritromicina) el 62,5 % de las muestras presentaron resistencia y el 37,5 % una leve pérdida de sensibilidad; AML (amoxicilina) presentó el 75 % en pérdida de sensibilidad, un 12,5 % presentó resistencia y el otro 12,5 % no generó resistencia; AMC (amoxicilina + ácido clavulánico) el 75 % presentaron pérdida de sensibilidad y el 25 % una leve resistencia; por último, la penicilina tuvo un 87,5 % de pérdida de sensibilidad y un 12,5 % no generó resistencia al antibiótico; esto

indica que los patógenos desarrollaron resistencia a los medicamentos afectando la calidad de la leche y sus derivados lácteos, por esta misma razón se debe hacer uso responsable de los antibióticos ya que en Colombia según (Juan Fernando Vásquez) hace referencia al uso indiscriminado de los antibióticos en leche, generando dificultad en los procesos industriales que implican la fermentación con cultivos bacterianos.

Según el autor (Quiceno, 2017) en un estudio en el Valle del Cauca, Colombia determinó la presencia de 14 bacterias aisladas en los cultivos, que fueron agrupadas con una prevalencia del 86% representados por: 1. ambientales. *Streptococcus spp.* (76.7%), *Citrobacter spp.* (50.8%), *Enterobacter spp.* (26.7%), *Streptococcus uberis* (23.3%), bacilos Grampositivos (16.7%), *Proteus spp.* (14.2%), *Pseudomonas spp.* (14.2%), *Klebsiella spp.* (5%), *Streptococcus dysgalactiae* (2.5%), *E. coli* (1.7%) y 2. Patógenos infecciosos con una prevalencia del 14% representados por: *Staphylococcus aureus* (38.3%) y *Streptococcus agalactiae* (15%). Cabe resaltar que, en la presente investigación, las bacterias que se encontraron son pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* como la *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* y *Citrobacter diversus*, lo que indica según (Ericka Vázquez Ojeda, 2014) un manejo deficiente en los procesos de obtención, recolección, recepción y almacenamiento pueden afectar la calidad higiénica de la leche. El contenido de bacterias en la leche depende especialmente del grado de limpieza de las máquinas, utensilios y de la correcta higiene durante la extracción. Las condiciones específicas para cada fase deben ser monitoreadas constantemente, debido a que ponen en riesgo la calidad final de la leche y sus derivados.

La investigación realizada por (Maria Marcela Martinez C. a., 2013) sector colombiano, una leche de buena calidad tiene una composición de grasa mayor de 3.6 g/100g %; para obtener resultados válidos y verídicos, se requiere una agitación adecuada del tanque de almacenamiento

de leche, con el fin de asegurar la adecuada homogeneización de sus componentes antes del muestreo. Existe un acuerdo general entre los diversos países y organismos (DFO, Productores lácteos de Ontario; IDF: Federación Internacional de Productos Lácteos) que recomiendan cinco minutos de agitación para los tanques pequeños y diez minutos para los tanques grandes, con el fin de asegurar la homogeneidad de la muestra.

De igual manera, con la presente investigación realizada la composición de grasa de las fincas productoras 2, 3 y 4 se encontraron por encima del rango sugerido de 3.6 g/100 g por. (Maria Marcela Martinez C. A., 2013), dándonos como resultado un promedio de 5.65 g/100g, 3.83 g/100g y 4.68 g/100g, lo que indica que pueden estar relacionados con factores como la alimentación, suplementación de concentrados y la genética del animal de cada finca, por lo tanto si la grasa es considerablemente menor que el rango normal, podría deberse a cambios bruscos en la alimentación o cambios en la dieta, y por enfermedades en el ganado, donde las fincas 1 y 5 son las que descienden sobre el rango normal, con un promedio de 3.37 g/100g y 3.1 g/100g.

“Tenemos en cuenta que los niveles de proteína y grasa de la leche no son muy altos ya que la mayoría del ganado bovino ordeñado en las fincas es Holstein o cruzado con el mismo, aparte de que los niveles de proteína también se ven directamente relacionados con la calidad de la alimentación brindada” (Coto, Ruiz-Romero, Sánchez-Gómez, & Ávila-Ramírez, 2013).

Según el sector colombiano, indica que una leche de buena calidad tiene una composición de proteínas mayor de 3.07 g/100g %. Del mismo modo, en la presente investigación las proteínas se encontraron en un rango normal en las fincas número 2, 3, 4 y 5 con un promedio de 3.1 g/100g, esto se debe a factores como una dieta adecuada y equilibrada para el ganado, incluyendo la raza; sin embargo, la finca número 1, se encontró con un rango menor al sugerido por el sector colombiano, dando un valor promedio de 2.9 g/100g.

Conclusiones

En el presente trabajo de grado se ha resaltado la importancia crítica de los indicadores de calidad de la leche cruda en tanques de enfriamiento. A través del análisis exhaustivo de estos indicadores, se ha demostrado su rol fundamental en la garantía de la seguridad alimentaria, la producción de derivados lácteos de alta calidad y la protección de la salud pública.

Los resultados de la investigación han revelado que los indicadores de contenido de grasa, proteína, recuento de células somáticas, bacterias y determinación de sólidos totales, son factores clave para determinar la idoneidad de la leche para el consumo humano y su procesamiento. Estos indicadores no solo impactan en la calidad sensorial de los productos lácteos, sino que también tienen implicaciones directas en la salud de los consumidores.

Además, se ha constatado que la vigilancia constante y la aplicación rigurosa de estos indicadores pueden influir positivamente en las prácticas de manejo y producción de los

productores de leche, fomentando la adopción de métodos sostenibles y buenas prácticas ganaderas. Esto, a su vez, beneficia a la industria láctea en términos de eficiencia y rentabilidad.

Consecuentemente, una de las formas para mejorar el sistema de saneamiento en cada finca es capacitar al personal; la importancia del uso de los desinfectantes, ya que se puede constatar que la gran mayoría de las personas no los utilizan, desconocen o no tienen ningún interés en usarlos. Para eliminar los riesgos microbiológicos y mejorar la calidad de la leche, se deben implementar métodos de limpieza y desinfección desde el ordeño hasta la recepción de esta.

Finalmente, este trabajo de grado ha reafirmado la relevancia crucial de los indicadores de calidad de la leche en los tanques de enfriamiento. Su estudio y aplicación adecuada son esenciales para garantizar la calidad y seguridad de los productos lácteos, así como para promover la sostenibilidad en la cadena de suministro. El conocimiento generado en este trabajo puede servir como base para futuras investigaciones y contribuir al mejoramiento continuo de la industria láctea y la seguridad alimentaria.

Recomendaciones

Basándonos en el análisis realizado en este trabajo de grado sobre indicadores de calidad de leche en tanques de enfriamiento, se proponen las siguientes recomendaciones:

Se recomienda que los propietarios de tanques de enfriamiento establezcan sistemas de control de calidad rigurosos para medir y monitorear regularmente los indicadores de calidad de la leche. Esto implica la adquisición de equipos de análisis adecuados y la capacitación del personal para llevar a cabo estas evaluaciones de manera precisa y consistente.

Adicionalmente, se recomienda capacitar al personal y trabajadores encargados de la extracción y recolección de la leche, mejorando el manejo del ordeño, sanitización y salud del ganado lechero en cada finca y así favorecer la calidad de la leche.

Establecer instalaciones adecuadas para el ordeño que faciliten su higiene y limpieza en las diferentes fincas.

Manejar una correcta cadena de frío en la leche, posterior al ordeño.

Realizar un análisis individual de cada ejemplar, para obtener el estado sanitario de cada uno e iniciar un plan de manejo.

Implementar las buenas prácticas ganaderas todo el tiempo, para evitar contaminación tanto de la glándula mamaria de los ejemplares, equipo de ordeño y el tanque de almacenamiento.

Manejar un plan nutricional según las necesidades de los animales productores, para mejorar los valores de proteína, grasa y sólidos totales, aumentando el valor comercial y nutricional de la leche.

No utilizar de forma indiscriminada los antibióticos, ya que se generan resistencias y residuos en leche cuando no se respeta su periodo de retiro.

Bibliografía

Alcaldía de popayan . (s.f.). alcaldía de popayan. obtenido de nuestra geografía:
<https://www.popayan.gov.co/mimunicipio/paginas/nuestra-geografia.aspx#gsc.tab=0>

Calderón, g. (1 de enero de 2006). indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de colombia. revista mvz córdoba , 726.

Calderón, g. (2006). indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de colombia. revista lasallista de investigaci"n , 726.

Cavalcanti, g. r. (2010). the effects of external and internal shocks on total factor productivity. the quarterly review of economics and finance .

Cervantes, c. m. (2013). la calidad estándar de la leche en el estado de. revista mexicana de ciencias pecuarias , 81.

Comision mundial sobre el medio ambiente y desarrollo . (8 de 1987-2013). academia .
 obtenido de colaboradores permanentes permanent partners grupo economía, poder y territorio
 docentes teachers diseño y diagramación design and layout corrección de estilo y traducción
 proofreading and translation:
https://www.academia.edu/87699237/colaboradores_permanentes_permanent_partners_grupo_ec

onom% c3% ada_poder_y_territorio_docentes_teachers_dise% c3% b1o_y_diagramaci% c3% b3n_d
 esign_and_layout_correcci% c3% b3n_de_estilo_y_traducci% c3% b3n_proofreading_and_translat

Contero, r. (2021). calidad de la leche cruda y sistema de pago por. ciencias de la vida ,
 34. coto, g., ruiz-romero, r. a., sánchez-gómez, j. i., & ávila-ramírez, d. n. (2013). análisis
 microbiológico de leche de origen orgánico: atributos deseables. revistas científicas de américa
 latina, el caribe, españa y portugal , 420.

El congreso de la republica de colombia. (9 de enero de 2007). ministerio de salud
 biblioteca digital . obtenido de ley número 1122 de 2007 :

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/lists/bibliotecadigital/ride/de/dij/ley-1122-de-2007.pdf>

Garcia, d. (2009-2010). 2º de biología practicas de microbiologia 2009 2010. cultimed .
 guzman, s. (2021). estudio de factibilidad para un centro de acopio de leche en el. ciencia unisalle
 , 57.

Hongyu wen, c. l. (2010). analysis of gut fungal community of cows with clinical
 mastitis. clinical mastitis, gut fungal community, chinese holstein cows .

Koch, c. (2008). antimicrobial resistance of uropathogens. revista da sociedade brasileira
 de medicina tropical , 280.

Laboratorio britaina s.a. (2021). britaina. obtenido de lisina hierro agar:
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6054e85d48c47.pdf

Laboratorio britania . (2021). britania. obtenido de mueller hinton agar:
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_63ee846f60cfd.pdf

Laboratorio britania s.a. (2021). britania. obtenido de simmons citrato agar:
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_607092758cfa8.pdf

Laboratorio britania s.a. (2021). britania. obtenido de t.s.i. agar:

https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070971eb11bd.pdf

Mayer, a. f. (2021). grasas protegidas en la alimentacion de rumiantes . ruminews latam .

Mejía, a. g. (2005). composiciûn nutricional de la leche de ganado vacuno. revista lasallista de investigación .

Microgenolab&m. (s.f.). microgenolab&m. obtenido de caldos de cultivos para laboratorios: <https://www.microgenltda.com.co/caldos/>

Ministerio de agricultura y desarrollo rural . (20 de enero de 2012). ministerio de agricultura y desarrollo rural . obtenido de resolucion numero 000017:
<https://www.minagricultura.gov.co/ministerio/direcciones/documents/d.angie/res%20%20000017%20de%202012.pdf>

Ministerio de agricultura y desarrollo rural . (20 de enero de 2012). scanned document. obtenido de resolucion numero 000017:
<https://www.minagricultura.gov.co/ministerio/direcciones/documents/d.angie/res%20%20000017%20de%202012.pdf>

Ministerio de la proteccion social . (28 de febrero de 2006). instituto colombiano agropecuario . obtenido de decreto numero 616 de 2006 :
<https://www.ica.gov.co/getattachment/15425e0f-81fb-4111-b215-63e61e9e9130/2006d616.aspx>

Ministerio de proteccion social . (27 de mayo de 2011). ministerio de salud y proteccion social . obtenido de decreto 1880 de 2011:
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/lists/bibliotecadigital/ride/de/dij/decreto-1880-de-2011.pdf>

Ministerio de protección social . (27 de mayo de 2011). ministerio de salud . obtenido de decreto numero 1880 de 2011:

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/lists/bibliotecadigital/ride/de/dij/decreto-1880-de-2011.pdf>

Ministerio de salud y protección social. (22 de julio de 2013). ministerio de salud. obtenido de resolución número 0002674 de 2013:

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/lists/bibliotecadigital/ride/de/dij/resolucion-2674-de-2013.pdf>

Montero, r. a. (2021). riesgos de la resistencia a los antimicrobianos de los principales patógenos de mastitis en los productos lácteos. universidad para la cooperación internacional (uci) , 10.

Nickerson, w. n. (2000). ganando la lucha contra la mastitis . naperville : westfalia. Observatorio regional de planificación para el desarrollo. (2014). obtenido de plan nacional de desarrollo "todos por un nuevo país" de colombia (2014-2018):

<https://observatorioplanificacion.cepal.org/es/planes/plan-nacional-de-desarrollo-todos-por-un-nuevo-pais-de-colombia-2014-2018>

Organizacion de las naciones unidas para la alimentacion y la agricultura. (2022). organizacion de las naciones unidas para la alimentacion y la agricultura. obtenido de peligros para la salud: <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/>

Organizacion de las naciones unidas para la alimentacion y la agricultura. (s.f.). organizacion de las naciones unidas para la alimentacion y la agricultur. obtenido de composición de la leche: <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la-leche/es/>

Pyörälä, s. (31 de junio de 2003). indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. edp sciences , 559.

Sáenz, j. a. (9 de marzo de 2021). veterinario digital . obtenido de razas bovinas especializadas en leche: <https://www.veterinariadigital.com/articulos/razas-bovinas-especializadas-en-leche/>
sustainable milk production systems in humid areas using farm resources. (26 de 08 de 2011).
produccion leiteira .

Universidad arturo prat. (2021). studocu. obtenido de agar en sangre:
<https://www.studocu.com/cl/document/universidad-arturo-prat/microbiologia-e-inmunologia-oral/agar-sangre/40080268>

Wattiaux, m. (1999). sistema digestivo de la vaca. guía técnica lechera .