



Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba CMT en dos fincas lecheras del departamento de Antioquia (Colombia) [¶]

Revista
Colombiana de
Ciencias
Pecuarias

Relationship between individual and bull tank somatic cell counts with CMT test in two dairy herds in Antioquia (Colombia)

Mario F Cerón-Muñoz^{1*}, Zoot, PhD; Edwin J Agudelo², MV; Juan G Maldonado-Estrada², MVZ, PhD.

¹Grupo de investigación en genética molecular y mejoramiento animal, Facultad de Ciencias Agrarias e Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

²Grupo de investigación en Ciencias Veterinarias CENTAURO, Escuela de Medicina veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
mceronm@agronica.udea.edu.co

(Recibido: 25 agosto, 2006; aceptado: 13 septiembre, 2007)

Resumen

El objetivo del presente proyecto fue establecer relaciones entre la prueba de CMT y los recuentos de células somáticas individuales o en el tanque de la leche, con el objetivo de definir un modelo predictivo del número de células somáticas en el tanque y proponer un modelo para detectar fincas con mastitis subclínica. En dos fincas lecheras del Municipio de San Pedro de los Milagros (Colombia), se tomaron muestras de leche de las vacas en ordeño (n = 95) durante los ordeños de la mañana y de la tarde (una muestra/mes/3 meses). En el ordeño de la tarde se realizó prueba de CMT y en todos los muestreos se hizo recuento de células somáticas en el medidor individual (RCS), y en el tanque de la leche, usando un equipo Fossomatic 90. Para el análisis estadístico se realizó una transformación logarítmica de los datos ($y = \text{Log}_2(\text{RCS}/100) + 3$), para ajustarlos a la normalidad y realizar análisis de varianza. Los resultados mostraron una relación estadística significativa ($p < 0.05$) entre el porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica según la prueba de CMT y el BTSCC del ordeño de la tarde. Además, se definió una fórmula predictiva para el BTSCC de acuerdo con el porcentaje de cuartos afectados para el ordeño de la tarde. Los resultados indicaron un promedio de RCS de 206.630 cel/ml y 145.935 cel/ml para los ordeños de la tarde y la mañana, respectivamente; mientras que el BTSCC presentó un promedio de 186.830 cel/ml y 93.145 cel/ml, para los ordeños de la tarde y la mañana, respectivamente. Asimismo, se halló una relación estadística significativa ($p < 0.05$) entre el RCS del ordeño de la tarde con el BTSCC. Los resultados del BTSCC se encuentran por debajo de los valores límites permitidos en Europa y Estados Unidos, lo cual sugiere que bajo condiciones de manejo estrictas, las fincas lecheras en Antioquia pueden lograr los estándares internacionales de calidad para la exportación de leche. Estudios adicionales se requieren para precisar las variaciones en las relaciones entre los recuentos individuales y del tanque, hallados para los ordeños de la mañana y de la tarde.

Palabras clave: bovinos, calidad de la leche, recuento de células somáticas, vacas BON x holstein, vacas holstein.

[¶] Para citar este artículo: Cerón-Muñoz MF, Agudelo EJ, Maldonado-Estrada JG. Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba CMT en dos hatos lecheros del departamento de Antioquia (Colombia). Rev Col Cienc Pec 2007; 20:472-483.

* Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de separatas: Escuela de producción agropecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226. Medellín, Colombia. E-mail: mceronm@agronica.udea.edu.co

Summary

In order to establish a mathematical model with which to predict the Bulk Tank Somatic Cell Count (BTSCC) of herds with sub clinical mastitis and to search for possible relationships between CMT results and individual somatic cell counts (SCC) or BTSCC, a descriptive study was carried out in two farms located in the dairy region of Antioquia (Colombia), in which lactating dairy cows (n = 95) were sampled during the morning and afternoon milking (once a month/3 months). CMT evaluation was performed at the afternoon milking at each time point of evaluation. In addition, total milk produced by individual cows was recorded and a milk sample was taken to perform SCC. Similarly, three samples of milk were taken from the tank to measure BTSCC. All milk samples were processed by triplicates by using a Fossomatic-90 equipment. Logarithmic transformation of data were done to normalize the SCC and BTSCC results according to the model: logarithmic SCC (SCCL) = $\text{Log}_2(\text{SCC}/100) + 3$, and analysis of variance were performed. A significant relationship ($p < 0.05$) was found between the percent of positive quarters (at least one cross by CMT) and the BTSCC taken at the afternoon milking. Accordingly, a model was established to define the BTSCC value depending on the percentage of CMT positive quarters. The average SCC of 206.630 and 145.935 cel/ml, were found for afternoon and morning milking, respectively; in as much as the average BTSCC found were 186.830 and 93.145 cel/ml, for afternoon and morning milking, respectively. Furthermore, a significant relationship ($p < 0.05$) was found between the SCC of the afternoon milking and the BTSCC. The BTSCC values were lower than the limit values accepted for the United States and European countries, which suggest that under strictly controlled management policies the dairy herds from Antioquia could meet the international standards for milk exportation. Finally, further studies are required in order to precise and define the source of variations found between the SCC and BTSCC for both the morning and afternoon milking.

Key words: bovine, BON x Holstein cows, holstein cows, milk quality, somatic cell counts

Introducción

Las mastitis generan grandes pérdidas económicas representadas en la disminución de la producción, alteración de la calidad de la leche, la fuente de contaminación para otros animales, los costos por tratamiento y los descartes, y por el riesgo potencial que presentan para la salud humana (5, 8, 22-24). En un momento dado, más del 50% de las vacas en producción de un hato pueden sufrir de mastitis, bien sea en forma clínica, subclínica o crónica. Las más frecuente son las mastitis subclínicas (más del 40%) y las pérdidas económicas son atribuibles principalmente a esta forma de mastitis, donde se estima que se pierde en cada hato más del 12% de la producción lechera por año. La mastitis es reconocida como uno de los problemas más costosos de salud en los hatos lecheros, donde se estiman grandes pérdidas en los parámetros productivos; aproximadamente 2 billones de dólares sólo en Estados Unidos (12).

Las pruebas de recuento de células somáticas individual (SCC, del inglés *Somatic Cell Count*), prueba de mastitis de California (CMT, del inglés *California Mastitis Test*) y recuento de células

somáticas en tanque de leche (BTSCC, del inglés *Bulk Tank Somatic Cell Count*), son herramientas prácticas que se pueden aprovechar para realizar el diagnóstico de la mastitis en los hatos lecheros. La combinación de estas tres técnicas permite realizar un diagnóstico más objetivo a la hora de tomar decisiones en nuestros sistemas de producción lecheros: el CMT permite identificar las vacas con mastitis subclínicas y el RCS permite corroborar el grado de alteración de la glándula reflejado en la concentración de células somáticas halladas; por su parte, el BTSCC es una prueba que permite realizar un control de los hatos con mastitis subclínicas y, por lo tanto, su implementación de manera rutinaria sirve como base para hacer un seguimiento de la leche producida en los diferentes hatos lecheros. El grado de mastitis subclínica constituye un índice de calidad de la leche, por lo que se incluye como elemento adicional en los sistemas de pago en todos los países desarrollados e incluso en países en vías de desarrollo (14, 21, 25).

La prueba de SCC es una buena herramienta con la que se cuenta al momento de realizar el diagnóstico de la mastitis y hace referencia al número de células somáticas contenidas en la leche,

las cuales están formadas por células epiteliales de descamación natural del interior de la ubre, consecuencia de la renovación periódica del tejido (2%) y por leucocitos o glóbulos blancos (98%) que proceden de la sangre y linfa y que acuden a la glándula mamaria en casos fisiológicos, como consecuencia del proceso de migración leucocitaria hacia los epitelios, o en casos de infección por el aumento de la migración (respuesta inmune celular inespecífica); es así como el recuento celular aumenta en la leche, en proporción directa con la severidad del cuadro infeccioso, de tal manera que su cuantificación constituye uno de los parámetros de mayor interés para determinar el estado sanitario de la ubre y la calidad de la leche que se produce. Como resultado de lo anterior, el recuento de células guarda una relación directa con la prueba de CMT (14, 16, 17).

Los valores de SCC 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 (18); 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 (3, 8). 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 (16).

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 y se determinó un valor de 300.000 cel/ml como valor límite para definir si un cuarto estaba infectado (4). En otro estudio, los valores de células somáticas en tanque de leche informados para hatos con 16 y 48% de cuartos afectados por mastitis subclínica fueron 500.000 y 1'500.000 cel/ml, respectivamente (8).

La subregión de la mesa Norte del departamento de Antioquia (Colombia), alberga un alto porcentaje de la ganadería especializada de leche en este

departamento. En muchas de las lecherías se ha implementado el monitoreo regular de las vacas para detectar las mastitis subclínicas mediante la prueba de CMT, la cual refleja de manera subjetiva el grado de infección de los cuartos lecheros en un cada vaca, individualmente. A pesar de que el BTSCC, se puede utilizar para evaluar el estado de salud del hato en general y es una prueba de mayor eficiencia que el CMT, su implementación de rutina para diagnosticar el estado de mastitis subclínica en los hatos y permitir realizar un monitoreo continuo de las empresas lecheras, no se ha hecho en nuestro medio. Por consiguiente, el objetivo del presente estudio fue relacionar el recuento de células somáticas individual, el recuento de células somáticas en el tanque de la leche y la prueba de CMT, en dos hatos lecheros del norte de Antioquia, mediante la aplicación de diferentes modelos estadísticos, para determinar si existía dependencia entre estas variables y conocer el estado sanitario de los hatos a evaluar.

Materiales y método

Comité de ética. En el presente estudio no se hizo ninguna manipulación experimental de los animales; el procedimiento de toma de muestra para CMT fue el mismo que se realiza como protocolo de rutina en vacas de leche, para el monitoreo de la mastitis subclínica; la toma de muestras del medidor y del tanque, no implicó ningún riesgo para los animales durante el ordeño. Las vacas de los dos hatos lecheros del estudio se manejaron de conformidad con el procedimiento de rutina para vacas en ordeño y el grupo de investigadores trabajó en concordancia con la normatividad colombiana sobre protección animal (Estatuto nacional de protección animal, Ley 84 de 1989).

Población. El presente trabajo se realizó en dos fincas especializadas en la producción de leche: hacienda la Montaña, propiedad de la Universidad de Antioquia (n = 47 vacas), y hacienda El Balcón (n = 48 vacas), ubicadas en la zona lechera del Norte antioqueño. Los predios seleccionados presentaban un sistema estándar de registros que garantizó la consignación de los datos diarios de producción de leche y los

parámetros estándares de producción. Asimismo, utilizaban ordeño mecánico dos veces al día y un programa de manejo rutinario de la prueba CMT; además, disponían de un tanque individual para el enfriamiento y conservación de la leche, la que era recogida diariamente. En la Hacienda La Montaña, se contó con dos grupos raciales (MH: vacas holstein y MB: vacas Holstein x Bon) y en la Hacienda El Balcón con un grupo racial (BH: vacas holstein). Ambas fincas ubicadas en el Municipio de San Pedro de los Milagros a una altura de 2.500 msnm y una temperatura promedio de 17 °C.

Toma y procesamiento de muestras

Las muestras de leche se tomaron una vez al mes durante tres meses en cada finca. Para minimizar diferencias entre las fincas que pudieran alterar significativamente los resultados, la toma de las muestras se realizó en semanas consecutivas. El procedimiento de la toma, identificación, conservación y transporte de las muestras se realizaron de acuerdo a las consideraciones de la *National Mastitis Council* (13). Las muestras fueron analizadas al laboratorio de la Cooperativa Lechera de Antioquia (Colanta), donde se utilizó el "Fossomatic 90" (15).

Prueba de CMT (California mastitis test). Muestras de leche (2 ml aprox.) de cada cuarto se tomaron en cada uno de los pozos de la paleta para la prueba de CMT; luego se adicionó un volumen similar del reactivo de CMT (detergente alquil aril sulfonato de sodio) y se procedió a homogeneizar durante 10 a 20 seg, para luego interpretar los resultados. El CMT se realizó en el ordeño de la tarde (13, 14).

Recuento de células somáticas en medidor. Una vez terminó el ordeño de cada vaca se procedió a tomar una muestra de leche del medidor (en ambos ordeños, de la tarde y a la mañana siguiente), para realizar el recuento de células somáticas; para ello se hizo una adaptación leve que permitía abrir el medidor sin permitir la pérdida de vacío del sistema. La muestra tomada de esta manera se consideró como representativa de la glándula de cada vaca.

Recuento de células somáticas en tanque: inmediatamente terminado el ordeño de todas las vacas en la tarde, se procedió a tomar dos muestras de leche del tanque de enfriamiento, previa homogenización de la leche, en dos sitios diferentes, antes de iniciar el ordeño de la mañana siguiente; este procedimiento se repitió al finalizar el ordeño de esa mañana, para un total de dos muestreos.

Criterios de exclusión

En el estudio sólo se incluyeron los datos de producción y recuentos celulares de las vacas que fueran ordeñadas y cuya leche fuera vertida en el tanque; las vacas que presentaron mastitis clínicas o que hubieran recibido tratamiento con antibióticos fueron retiradas del estudio.

Análisis estadístico

El porcentaje de cuartos afectados por mes y por finca, se determinó para estimar la incidencia de mastitis subclínica por grado de afección, según la prueba de CMT. La variable RCS (Recuento de Células Somáticas), fue transformada utilizando $\log_2(RCS/100) + 3$, según lo recomendado por Dabdoub y Shook 1984 (6). Los datos fueron analizados utilizando diferentes modelos de análisis de varianza, en donde se verificó el cumplimiento de los supuestos siguientes: 1) normalidad de los datos, 2) homogeneidad de varianzas, y 3) independencia de las observaciones.

Categorización de las variables. Para cumplir el objetivo de relacionar la prueba de CMT, el recuento individual y el recuento en tanque de leche, los resultados del CMT, fueron categorizados en cinco grupos: 0, cuartos negativos; 11, un cuarto afectado con una cruz; 12, un cuarto afectado con dos cruces; 22, dos cuartos afectados con dos cruces; y 42, cuatro cuartos afectados con dos cruces o más). Estos grupos fueron relacionados con el promedio del RCS de ambos ordeños transformado (XRCSL), analizado como variable dependiente, a través del siguiente modelo estadístico que consideró medidas repetidas del mismo animal:

$$Y_{ijklm} = \mu + G_i + M_j + GM_{ij} + V(G)_{ki} + C_l + e_{ijklm}$$

Donde:

Y_{ijklm} = variable dependiente (XRCSL individual).
 μ = media general.
 G_i = efecto del i -ésimo grupo racial, (i : BH, MB y MH)
 M_j = efecto del j -ésimo mes, (j : 1...3)
 GM_{ij} = efecto de la interacción G y M.
 $V(G)_{k:i}$ = efecto de la k -ésima vaca dentro del i -ésimo grupo racial, (k : 1...100 aprox.)
 C_i = efecto del i -ésimo cuarto afectado según la prueba de CMT (n : 1...5 categorías)
 e_{ijklm} = error residual.

También se analizaron las variables dependientes recuento de células somáticas en el ordeño de la mañana transformado (RCSamL) y recuento de células somáticas en el ordeño de la tarde transformado (RCSpmL), utilizando el mismo modelo estadístico.

Para relacionar el promedio del RCS individual del ordeño de la tarde (mRCSpmL) con el RCS del tanque transformado (BTSCCpmL) se utilizó el siguiente modelo estadístico, considerando medidas repetidas de la misma finca.

$$Y_{ijkl} = \text{alfa} + F_i + L_j + b_1(X_k - X_k) + e_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = variable dependiente (BTSCCpmL).
alfa = Intercepto.
 F_i = efecto de la i -ésima finca, (i : 1...2)
 L_j = covariable producción total en litros.
 b_1 = coeficiente de regresión parcial de la relación BTSCCpmL y la producción de leche en el ordeño de la tarde.
 X_k = efecto de la k -ésima leche total producida en la tarde.
 X_k = efecto del k -ésimo promedio individual de leche producida.
 e_{ijkl} = error residual.

Para relacionar el RCS del tanque transformado (BTSCCL) con el promedio del recuento del ordeño de la tarde (RCSpmL) y de la mañana (mRCSamL) se utilizó el siguiente modelo estadístico, considerando medidas repetidas de la misma finca.

$$Y_{ijklm} = \text{alfa} + F_i + L_j + b_1(X_k - X_k) + b_2(X_1 - X_1) + e_{ijklm}$$

Donde:

Y_{ijklm} = variable dependiente (BTSCCamL).
alfa = Intercepto.
 F_i = efecto de la i -ésima finca, (i : 1...2)
 L_j = covariable producción total en litros.
 b_1 = coeficiente de regresión parcial de la relación BTSCCpmL y la producción de leche en el ordeño de la tarde.
 X_k = efecto de la k -ésima leche total producida en la tarde.
 X_k = efecto del k -ésimo promedio individual de leche producida en la tarde.
 e_{ijkl} = error residual.
 B_2 = coeficiente de regresión parcial de la relación BTSCCamL y la producción de leche en el ordeño de la mañana.
 X_1 = efecto de la k -ésima leche total producida en la mañana.
 X_1 = efecto del k -ésimo promedio individual de leche producida en la mañana.
 e_{ijklm} = error residual.

Para relacionar BTSCC con el recuento en el ordeño de la tarde, el de la mañana y el promedio. También se realizó un análisis de regresión (Stepwise) de SAS.

Para determinar la relación del porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica con una cruz, según el CMT y el BTSCCpmL; y para evaluar la relación del porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica con dos o más cruces, según el CMT y el BTSCCpmL se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + M_j + P_k + e_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = variable dependiente (BTSCCpmL).
 μ = media general.
 F_i = efecto de la i -ésima finca, (i : 1...2)
 M_j = efecto del j -ésimo mes, (j : 1...3)
 B_k = efecto de la covariable "porcentaje de cuartos afectados con una cruz"
 e_{ijkl} = error residual.

Estos modelos se basaron en otros estudios similares (9, 10, 16).

Resultados

Determinación del porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica, mediante la prueba de CMT

El porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica según el CMT en los meses de abril, mayo y junio de 2004, fue 15.81, 20.87 y 18.94, respectivamente, en la finca la Montaña; y 18.84,

20.74 y 10.99, respectivamente, en la finca el Balcón (véase Tabla 1).

En los datos de CMT de las dos fincas (y los tres grupos de vacas) se observó que el cuarto más afectado fue el posterior derecho (20.78%) y el menos afectado el anterior izquierdo (14.9%) (véase Tabla 2). Respecto del mes, la mayor frecuencia de cuartos afectados ocurrió en el mes de mayo para ambas fincas. El porcentaje acumulado de cuartos negativos fue 82.35%.

Tabla 1. Resumen de las muestras tomadas y el porcentaje de cuartos con reacción positiva a la prueba de CMT (al menos una cruz) realizada durante el ordeño de la tarde.

| Finca | Mes | n | Cuartos | | | | Cuartos afectados | |
|---------|-------|----|---------|----|----|----|-------------------|-------|
| | | | AD | AI | PD | PI | (número)* | (%) |
| Montaña | Abril | 45 | 7 | 6 | 11 | 4 | 28/177 | 15.81 |
| Montaña | Mayo | 46 | 10 | 6 | 11 | 11 | 38/182 | 20.87 |
| Montaña | Junio | 48 | 12 | 9 | 8 | 7 | 36/190 | 18.94 |
| Balcón | Abril | 48 | 9 | 7 | 12 | 8 | 36/191 | 18.84 |
| Balcón | Mayo | 47 | 8 | 11 | 11 | 9 | 39/188 | 20.74 |
| Balcón | Julio | 48 | 4 | 5 | 4 | 8 | 21/191 | 10.99 |

Nota: en la tabla no se discrimina por el número de cruces en la reacción al CMT.

*Algunas vacas presentaron pérdida de un cuarto.

AD; anterior derecho; AI: anterior izquierdo; PD: posterior derecho; PI: posterior izquierdo.

Tabla 2. Frecuencia de la reacción negativa o positiva a la prueba de CMT por cuartos lecheros.

| Resultado del CMT | Cuartos mamarios | | | | | | | |
|-------------------|------------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
| | AD | | AI | | PD | | PI | |
| | Frecuencia | % | Frecuencia | % | frecuencia | % | Frecuencia | % |
| Negativo | 211 | 82.74 | 217 | 85.10 | 202 | 79.22 | 213 | 83.53 |
| 1 | 23 | 9.02 | 16 | 6.27 | 27 | 10.58 | 19 | 7.45 |
| 2 ó 3 | 21 | 8.24 | 22 | 8.63 | 26 | 10.20 | 23 | 9.02 |
| Total | 255 | 100 | 255 | 100 | 255 | 100 | 255 | 100 |

AD; anterior derecho; AI: anterior izquierdo; PD: posterior derecho; PI: posterior izquierdo.

Relación del recuento de células somáticas individual con la prueba de CMT, a través del análisis de varianza

Para el XRCSL se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas ($p \leq 0.01$) para los efectos “finca” y “grupo racial” y la interacción “grupo racial-mes”. Los efectos “cuartos afectados” y “mes”, presentaron una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), mientras que el efecto “mes”

no presentó diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) (véase Tabla 3). El XRCSL del grupo de cuartos 42 (cuatro cuartos afectados con 2 cruces) fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que el del grupo de cuartos 0 (negativo) (véase Tabla 4). Por otra parte, el XRCSL del grupo racial BH fue significativamente menor ($p < 0.01$) que el del grupo MH; sin embargo, entre los dos grupos de la finca la Montaña (MH y MB) no se encontraron diferencias estadísticas significativas (véase Tabla 5).

Tabla 3. Análisis de varianza para el recuento de células somáticas (valores expresados como medias mínimas cuadráticas).

| Clase | Grados de libertad | Media de cuadrados RCSamL (cel/ml) | Media de cuadrados RCSpmL (cel/ml) | Media de cuadrados XRCSL (cel/ml) |
|---------------|--------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| FG | 2 | 9.61** | 21.91** | 9.04** |
| Mes | 2 | 4.38* | 7.17** | 4.26* |
| FG*Mes | 4 | 4.66** | 1.23 | 3.74** |
| Nombre(F*G) | 112 | 1.85* | 1.60** | 1.33 |
| Grupo cuartos | 4 | 1.14 | 4.15** | 2.32* |

** : factores con efecto estadístico significativo ($p < 0.01$)

* : factores con efecto estadístico significativo ($p < 0.05$)

FG: Interacción finca-raza

RCSamL y RCSpmL: recuento de células somáticas en el ordeño de la mañana y de la tarde, respectivamente, con transformación logarítmica.

XRCSL: promedio de recuento de células somáticas de los dos ordeños con transformación logarítmica.

Al discriminar los recuentos de células somáticas por la hora del ordeño, se halló que el RCSamL presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) para los efectos “finca”, “grupo racial” y la interacción “grupo racial-mes”. El efecto mes presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). El grupo racial MH presentó valores de RCSamL significativamente mayores ($p < 0.01$) que el grupo racial BH, pero no hubo diferencia estadística significativa entre éstos y el grupo racial MB (véase Tabla 5).

Para el RCSpmL se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$) de los efectos “finca” “grupo racial”, “mes” y “cuartos afectados”.

La interacción “grupo racial-mes” no presentó diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$). El grupo de cuartos 12 (un cuarto afectado con 2 cruces) tuvo un valor significativamente mayor ($p < 0.01$) que el grupo de cuartos 0 (negativo) (véase Tabla 4). Así mismo, se halló un RCSpmL significativamente mayor ($p < 0.01$) en el grupo MH respecto de los grupos BH y MB (véase Tabla 5). Los valores de medias mínimas cuadráticas de RCSamL, RCSpmL y XRCSL hallados para el grupo de vacas MH fueron: 2.68, 3.51, y 3.23, respectivamente; seguidos por el grupo MB con: 2.13, 3.45, y 3.02, respectivamente; y por último el grupo BH con: 1.99, 2.50, y 2.55, respectivamente (véase Tabla 5).

Tabla 4. Recuento de células somáticas individual dependiendo de la hora de ordeño y los grupos de cuartos (valores expresados como medias mínimas cuadráticas \pm error estándar).

| Grupo de cuartos | RCSpmL (cel/ml) | RCSpm (cel/ml x 10 ³) | RCSamL (cel/ml) | RCSam (cel/ml x 10 ³) | XRCSL (cel/ml) | XRCS (cel/ml x 10 ³) |
|------------------|------------------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 0 | 2.16 \pm 0.12 ^a | 56 \pm 14 | 1.89 \pm 0.14 | 46 \pm 14 | 2.23 \pm 0.12 ^c | 59 \pm 14 |
| 11 | 2.68 \pm 0.26 | 80 \pm 15 | 1.76 \pm 0.29 | 42 \pm 15 | 2.28 \pm 0.26 | 61 \pm 15 |
| 12 | 3.61 \pm 0.35 ^b | 153 \pm 16 | 2.14 \pm 0.38 | 55 \pm 16 | 2.96 \pm 0.35 | 97 \pm 16 |
| 22 | 3.62 \pm 0.51 | 154 \pm 18 | 2.40 \pm 0.55 | 66 \pm 18 | 3.23 \pm 0.51 | 117 \pm 18 |
| 42 | 3.69 \pm 0.59 | 161 \pm 19 | 3.13 \pm 0.63 | 110 \pm 19 | 3.95 \pm 0.59 ^d | 193 \pm 19 |

0 = cuartos negativos; 22 = dos cuartos afectados con dos cruces; 11 = un cuarto afectado con una cruz; 42 = cuatro cuartos afectados con dos cruces o más; 12 = un cuarto afectado con dos cruces. a,b: diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.01$)

c,d: diferencia estadística significativa ($p < 0.05$)

RCSamL y RCSam: recuento de células somáticas en el ordeño de la mañana con o sin transformación logarítmica, respectivamente.

RCSpmL y RCSpm: recuento de células somáticas en el ordeño de la tarde con o sin transformación logarítmica, respectivamente.

XRCSL y XRCS: promedio de recuento de células somáticas de los dos ordeños con o sin transformación logarítmica, respectivamente.

Tabla 5. Comparativo del recuento de células somáticas entre los ordeños y los tres grupos raciales (valores expresados como medias mínimas cuadráticas \pm error estándar).

| Grupo | RCSamL (cel/ml) | RCSam (cel/ml x 10 ³) | RCSpmL (cel/ml) | RCSpm (cel/ml x 10 ³) | XRCSL (cel/ml) | XRCS (cel/ml x 10 ³) |
|-------|------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| BH | 1.99 \pm 0.19 ^a | 50 \pm 14 | 2,50 \pm 0.18 ^a | 70 \pm 14 | 2,55 \pm 0.18 ^a | 73 \pm 14 |
| MB | 2,13 \pm 0.33 | 55 \pm 16 | 3,45 \pm 0.30 ^{b,c} | 137 \pm 16 | 3,02 \pm 0.30 | 102 \pm 16 |
| MH | 2,68 \pm 0.21 ^b | 80 \pm 15 | 3,51 \pm 0.18 ^c | 142 \pm 14 | 3,23 \pm 0.18 ^b | 117 \pm 14 |

BH: Vacas holstein de la finca el Balcón; MB: Vacas F1 BonxHolstein de la finca la Montaña; MH: Vacas holstein de la finca la Montaña.

Valores con diferente superíndice en cada columna indican diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.01$).

RCSamL y RCSam: recuento de células somáticas en el ordeño de la mañana con o sin transformación logarítmica, respectivamente.

RCSpmL y RCSpm: recuento de células somáticas en el ordeño de la tarde con o sin transformación logarítmica, respectivamente.

XRCSL y XRCS: promedio de recuento de células somáticas de los dos ordeños con o sin transformación logarítmica, respectivamente.

Relación entre el recuento de células somáticas individual con el recuento de células somáticas en tanque (BTSCC)

El promedio de células somáticas en el tanque de la leche se incluyó como variable dependiente en el modelo y el mRCSpmL, la finca y los litros de leche en el tanque, se incluyeron como variables independientes: el recuento individual de la mañana (mRCSamL), no mostró un efecto significativo y por ello no se incluyó en el modelo. El análisis de varianza indicó que el mRCSpmL (promedio del RCS del ordeño de la tarde transformado) fue el único que mostró tendencia ($p = 0.066$) a relacionarse con el BTSCCpm. Ninguno de los otros efectos evaluados (“finca” o “litros de leche en el tanque”) tuvo un efecto estadístico significativo ($p > 0.05$). Cuando el promedio del recuento individual de células somáticas del ordeño de la tarde (mRCSpmL) se incluyó como variable dependiente y el recuento de células somáticas en el tanque BTSCCpm, la finca y los litros de leche en el tanque, como variables independientes, sólo mostraron una tendencia estadística los efectos BTSCCpm ($p = 0.066$) y finca ($p = 0.074$) (véase Tabla 3).

Cuando se individualizaron las variables en el modelo, la mRCSpmL fue la que presentó la mayor relación con el BTSCC ($p < 0.05$). Luego se realizó un análisis de varianza en el cual se incluyó el porcentaje de cuartos afectados con una cruz y el porcentaje de cuartos afectados con dos o más cruces, para relacionarlo con el BTSCC. El recuento de células somáticas en el tanque medido en las horas de la mañana (BTSCCamL), no se relacionó significativamente ($p > 0.05$) con el resultado de

CMT ni con el porcentaje de cuartos afectados. Por el contrario, cuando se analizó el recuento de células somáticas en el tanque medido en las horas de la tarde, los efectos “porcentaje de cuartos afectados con una cruz” ($p < 0.05$) y “porcentaje de cuartos afectados con dos o más cruces” ($p < 0.1$) se relacionaron significativamente con el BTSCCpmL.

Tabla 6. Estimativo del BTSCCL según el porcentaje de cuartos con resultado positivo al CMT igual a una cruz.

| Cuartos afectados (%) | Recuento en tanque transformado BTSCCL (cel/ml) | Recuento en tanque real BTSCC (cel/ml) |
|-----------------------|---|--|
| 5 | 0.78 | 21.000 |
| 10 | 1.74 | 42.000 |
| 15 | 2.69 | 81.000 |
| 20 | 3.65 | 157.000 |

De conformidad con los datos presentados en la tabla 6, si el 20% de los cuartos se encuentran afectados por mastitis subclínica con una cruz, según el CMT, el BTSCCL es de 3.65 cel/ml y así sucesivamente. Por el contrario, si el 20% de los cuartos se encuentran afectados con dos o más cruces por mastitis subclínica, según el CMT, el BTSCCL es de 5.22 cel/ml (véase Tabla 7).

Tabla 7. Estimativo del BTSCCL según el porcentaje de cuartos afectados con prueba de CMT igual a 2 ó más cruces.

| Cuartos afectados (%) | Recuento en tanque transformado BTSCCL (Cel/ml) | Recuento en tanque real BTSCC (Cel/ml) |
|-----------------------|---|--|
| 5 | 2.61 | 76.000 |
| 10 | 3.48 | 139.000 |
| 15 | 4.35 | 254.000 |
| 20 | 5.22 | 467.000 |

Discusión

El objetivo principal del presente trabajo fue relacionar los recuentos de células somáticas individual (RCS) y en el tanque de la leche (BTSCC), teniendo en cuenta varios factores como el resultado del CMT, la producción de leche, la hora del ordeño (y consecuentemente del muestreo), el grupo racial de la vaca, la finca y el mes de la muestra; todo ello con el fin de establecer cuáles de estos factores podrían tener un efecto significativo en un modelo estadístico que permitiera definir una fórmula para utilizar el recuento de células somáticas en el tanque (BTSCC), como una prueba tamiz para el monitoreo de hatos con mastitis subclínica.

El BTSCC permite definir los valores mínimos de células somáticas permitidos en el tanque de la leche, asumiendo que un bajo porcentaje de las vacas presentan cuartos lecheros con prueba positiva al CMT y consecuentemente, bajos valores de RCS. Estos valores tienen una implicación de gran importancia para el control de calidad de la leche y son la base de los estándares internacionales para su comercialización. Por lo tanto, la estimación del BTSCC sirve como herramienta para definir el porcentaje de vacas que pueden tener mastitis subclínica en una finca y, tanto sus valores como los factores que determinan un dato determinado de BTSCC, se han estandarizado en varios países del mundo: el valor límite de BTSCC exigido por la Unión Europea es de 400.000 cel/ml (19), mientras que el valor permitido por la *Nacional Mastitis Council* de los Estados Unidos es de 750.000 cel/ml (1).

La ejecución del presente estudio tuvo que enfrentar una primera limitante que fue la disponibilidad del Fossomatic-90, equipo aportado por la Cooperativa Lechera de Antioquia (Colanta) para realizar en forma automatizada los recuentos individuales y en el tanque. La limitación temporal del uso del equipo debida al volumen de muestras procesado en la planta de lácteos de San Pedro de los milagros y, el número de vacas muestreadas en el estudio (se debía tomar muestra a todas las vacas en producción que estaban aportando volumen de leche en el tanque), obligó a realizar muestreos cada

mes (abril, mayo, y junio de 2004), en cada una de los dos fincas seleccionadas, de tal manera que se realizó un total de tres muestreos para cumplir con los requisitos mínimos para el análisis estadístico.

La primera aproximación para el logro de los objetivos, consistió en estimar el porcentaje de cuartos afectados de acuerdo con el resultado del CMT: el mayor número de cuartos afectados se observó en el mes de mayo de 2004, con valores de 20.87 y 20.74%, para las fincas la Montaña y el Balcón, respectivamente; este hallazgo es posible explicarlo por un efecto ambiental dado que, para esta época de invierno las condiciones del terreno pueden propiciar un aumento en la incidencia de mastitis subclínica. Por otra parte, el cuarto más afectado con resultado de CMT de una cruz fue el PD, mientras que el menos afectado fue el AI (véase Tabla 3), valores superiores al 12.3% de cuartos afectados reportado en otro estudio hecho en la misma zona (18). No obstante, en el presente estudio el número de cuartos afectados con una sola cruz fue cerca del 50 % de los cuartos, y el porcentaje acumulado de cuartos negativos (82.35%) fue menor que el 87.7% reportado por en dicho estudio (18).

Para confirmar si existía la relación entre el resultado del CMT y el recuento de células somáticas, las muestras de leche de cada vaca fueron tomadas del medidor al final de cada ordeño y sus valores se correlacionaron con el resultado de la prueba. Para ello fue necesario realizar reagrupaciones de acuerdo con la frecuencia de cuartos afectados (véase Tabla 1). Para todos los casos de resultado positivo al CMT, se observó un aumento del RCSamL, RCSpmL y XRCSL cuando aumentó el número y el grado de cuartos afectados (véase Tabla 4). Sin embargo, sólo la variable recuento individual promedio (XRCSL) presentó una tendencia estadística para los grupos de cuartos 0 (negativo) y 42 (cuatro cuartos afectados con dos cruces), donde este último grupo fue el que mayor correlación presentó (3.95 cel/ml). Los grupos de cuartos 0 (negativo) y 12 (un cuarto afectado con dos cruces) mostraron una correlación estadística altamente significativa ($p < 0.01$) con el recuento individual de células somáticas (3.61 cel/ml) del ordeño de la tarde (RCSpmL).

Cuando se comparó el RCS del ordeño de la mañana y de la tarde entre las vacas de ambas fincas, se halló que los valores fueron significativamente mayores ($p < 0.01$) en el ordeño de la tarde para ambos grupos de vacas holstein. Asimismo, los valores fueron siempre menores en el ordeño de tarde para el grupo de vacas holstein de la finca el Balcón comparado con los dos grupos de vacas de la finca la Montaña. Estos resultados sugieren que en cada finca pueden existir factores específicos asociados con los recuentos de células somáticas, los cuales afectan también los valores de células somáticas en el tanque de la leche.

El promedio de RCS del ordeño de la tarde (205.020 cel/ml) fue superior al promedio del ordeño de la mañana (145.630 cel/ml), lo que indica que durante el día ocurren más factores que pueden afectar el RCS, entre los que se podrían postular algún grado de estrés de las vacas, su movimiento, la luminosidad, la dilución entre otras. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para explicar este hallazgo.

Los promedios del RCS en el ordeño de la tarde para las fincas la Montaña y el Balcón fueron 195.360 cel/ml y 217.900 cel/ml, respectivamente; mientras que los promedios para el ordeño de la mañana fueron 131.310 cel/ml y 160.560 cel/ml, respectivamente. Estos valores son inferiores a los valores de 383.300 cel/ml reportados para la Sabana de Bogotá y los valles de Ubaté y Chiquinquirá (4) en Colombia. Estas diferencias podrían ser debidas al diseño metodológico, al tamaño poblacional, a los tipos de clima, o a las diferencias en las prácticas de manejo, entre otras, en las fincas evaluadas en cada estudio.

En el presente estudio se encontraron valores promedio de BTSCC inferiores a los citados en la literatura internacional: en la finca la Montaña, se hallaron en promedio 158.000 y 97.130 cel/ml en los ordeños de la tarde y de la mañana, respectivamente; mientras que en la finca el Balcón se hallaron promedios de 215.660 y 89.160 cel/ml, respectivamente. Estos resultados indican que en estas dos fincas se tiene implementada una buena rutina de ordeño y unas prácticas de manejo adecuadas, para mantener valores de BTSCC

inferiores a los exigidos por la Unión Europea (19) y por los norteamericanos (1).

Al comparar los BTSSC del ordeño de la tarde en las fincas la Montaña (158.560 cel/ml) y el Balcón (215.660 cel/ml), con el porcentaje de cuartos afectados de las mismas fincas (18.54% y 16.85%, respectivamente), no se encontró una relación entre los dos parámetros. Harmon (1994), estimó que para un BTSCC de 200.000 cel/ml la relación de cuartos afectados era del 6% (8); sin embargo, se debe considerar que en el presente estudio se incluyó un alto número de cuartos afectados con una sola cruz, los cuales probablemente tenían recuentos de células somáticas muy bajos.

El hecho de hallar una correlación significativa entre el recuento individual de células somáticas del ordeño de la tarde y el recuento de células en el tanque en las horas de la tarde, implica que los resultados que se están entregando a los productores pueden estar errados, porque las tomas para realizar el BTSCC se están realizando a cualquier hora del día; los resultados de estas muestras probablemente no reflejen con precisión lo que está ocurriendo en las vacas. Lo anterior sugiere que en las fincas evaluadas las muestras para el control de BTSCC deben ser tomadas en las horas de la tarde, si se quiere tener una aproximación al diagnóstico del porcentaje de las vacas afectadas por mastitis subclínica.

Por otra parte, varios de los factores incluidos en el modelo presentaron efecto estadístico significativo sobre el resultado del recuento de células somáticas en el tanque, pero estos efectos no fueron consistentes sobre los ordeños de la mañana o de la tarde. Estos resultados sugieren que en cada finca pueden presentarse factores específicos que afectan el recuento de células somáticas. Asimismo, plantean un reto interesante a resolver por el grupo de investigación, en la propuesta de estandarizar un sistema para ofrecer el BTSCC como prueba tamiz para el monitoreo de hatos con mastitis subclínica y del número de vacas o cuartos afectados en cada finca. Los resultados de las tablas 7 y 8 muestran una fórmula que se puede aplicar en el estimativo del porcentaje de cuartos afectados por una cruz o por varias cruces; sin embargo, se sugiere que aún

falta realizar estudios adicionales para precisar otros factores que afectan el BTSCC, los cuales no fueron incluidos en el presente trabajo.

De conformidad con la literatura consultada, en Colombia no se han definido parámetros para el número máximo de BTSCC permitido; unos pocos estudios han hecho una descripción de en el BTSCC; con ello se pretende ofrecer una aproximación inicial para definir los valores de referencia de BTSCC para la lechería especializada en Antioquia y sus posibles fuentes de variación. Los resultados del presente trabajo permiten confirmar que bajo las condiciones de las dos fincas evaluadas, diversos factores inherentes al grupo racial, la finca, el manejo en cada finca, la época, la hora del ordeño, entre otros, afectan el resultado del recuento de células somáticas individuales y en el tanque de la leche. Lo anterior puede tener serias implicaciones en la política de implementar el BTSCC como prueba tamiz para detectar hatos con mastitis subclínica.

Una falla que se detectó en el presente estudio fue no haber realizado las pruebas de CMT en el ordeño de la mañana, lo cual obedeció a la necesidad de interferir lo menos posible en el manejo del ordeño. Este resultado hizo falta para relacionar el recuento individual con el del tanque realizado en el ordeño de la mañana. Otra limitante que se tuvo fue el no poder realizar el recuento de células somáticas de cada cuarto evaluado por el CMT, lo cual obedeció a razones netamente logísticas, ante la imposibilidad de procesar tantas

estos valores, pero sin profundizar en las causas de variación o los factores determinantes de dicho recuento (4, 15, 18). Por lo tanto, el presente trabajo es el primero en Colombia en plantear una estrategia para relacionar los recuentos individuales de cada vaca que aporta la leche para el tanque y los recuentos del tanque, teniendo en cuenta además otros factores que pudieran incidir

muestras en el equipo automático. Este factor también debe ser corregido en otros estudios posteriores. De ahí que, el protocolo de la toma de las muestras deber ser lo más estricto posible para tratar de disminuir al máximo las fuentes de variación que afectan el resultado del BTSCC.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Cooperativa Lechera de Antioquia, por su gran colaboración en la evaluación de las muestras y por la utilización del Fosomatic-90 y las instalaciones del laboratorio de la planta de lácteos del municipio de San Pedro de los Milagros. Asimismo, al Departamento Académico de Haciendas de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia y a la Hacienda El Balcón, por propiciar el muestreo de las vacas en producción. Las actividades de investigación de los grupos GRICA y CENTAURO son financiadas parcialmente por la estrategia de Sostenibilidad 2005-2006 para grupos de excelencia.

Referencias

1. Adkinson RW, Gough RH, Graham R, Yilmaz A. Implications of proposed changes in bulk tank somatic cell count regulations. *J Dairy Sci* 2001; 84:370-374.
2. Bartlett PC, Miller GY, Anderson CR, Kirk JH. Milk production and somatic cell count in michigan dairy herds. *J Dairy Sci* 1990; 73:2794-2800.
3. Blood DC, Radostits OM. *Medicina Veterinaria*. 7ª ed. Madrid: Interamericana-McGraw Hill; 1992. p.378-422.
4. Calderon A, Donado P, García G, García F. Determinación del recuento de células somáticas en sistemas de producción en el trópico alto colombiano. *Rev Orinoquia* 2002; 6:33-39.
5. Cassel BG. Using somatic cell score evaluations for management decisions. *J Dairy Sci* 1994; 77:2130-2136.
6. Dabdoub SM, Shook GE. Phenotypic relations among milk yield, somatic cell count and clinical mastitis. *J Dairy Sci* 1984; 67:163-164.
7. Dosogne H, Vangroenweghe F, Mehrzad J, Massart-Leen AM, Burvenich C. Differential leukocyte count method for bovine low Somatic cell count milk. *J Dairy Sci* 2003; 86:828-834.
8. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell count. *J Dairy Sci* 1994; 77:2103-2112.

9. Jeffrey KR. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *J Dairy Sci* 1986; 69:1708-1716.
10. Kehrl ME, Shuster E. Factors affecting milk somatic cell and their role in health of the bovine mammary gland. *J Dairy Sci* 1994; 77:619-625.
11. Kelly AL, Tiernan D, Sullivan CO, Joyce P. Correlation between bovine milk somatic cell count and polymorphonuclear leukocyte level for samples of bulk milk and milk from individual cows. *J Dairy Sci* 2000; 83:300-308.
12. Lorbacher H. La Mastitis Bovina. Universidad de Antioquia, Departamento de Salud Pública, Folleto, Marzo 1982. p. 5- 62.
13. National Mastitis Council. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder Infection. 3rd ed. NMC Information and resources 1990. [URL: www.nmconline.org/info.htm].
14. Ruegg PL. Investigation of mastitis problems on farms. *Vet Clin North Am* 2003; 19:47-73
15. Pérez DE. Definición de los factores productivos y de higiene que generan aumento de células somáticas en la leche en cuatro hatos lecheros del municipio de San Pedro de los Milagros. Facultad de Ciencias Agrarias. Trabajo de grado. Medellín, 2003.
16. Sears PM, McCarthy KK. Diagnosis of Mastitis for Therapy Decisions. *Vet Clin North Am* 2003; 19:93-108.
17. Sears PM, González RN, Wilson DJ, Han HR. Procedures for mastitis diagnosis and control. *Vet Clin North Am* 1993; 9:445-468.
18. Ramírez N, Gaviria G, Arroyave O, Sierra B, Benjumea J. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Rev Col Ciencias Pec* 2001; 14:76-87.
19. Remy D, Chastant S, Mialot JP. Les mammites chez les bovines. Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Maisons Alfort, 2001. 85p.
20. Rodríguez. G. Mastitis y calidad de la leche. En: Memorias 5° Congreso panamericano de la leche. Medellín, 1994.
21. Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek BJ, Lim GH. Sensitivity and specificity of somatic cell count and california mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. *J Dairy Sci* 2001; 84:2018-2024.
22. Shapiro-Wilk W [URL: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/prc/section2/prc213.htm>].
23. Schepers AJ, Lam TJ, Schukken YH, Wilmink JB, Hanekamp JA. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *J Dairy Sci* 1997; 80:1833-1840.
24. Shook GE Schutz MM. Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States. *J Dairy Sci* 1994; 77:648-658.
25. Suriyasathaporn W, Schukken YH, Nielen M, Brand A. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *J Dairy Sci* 2000; 83:1248-1255.
26. Weller Saran JI, Zeliger AY. Genetic and environmental relationships among somatic cell count, bacterial infection, and clinical mastitis. *J Dairy Sci* 1992; 75:2532-2540.
27. Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Wellenberg GJ, *et al.* Cow and quarter-level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci* 2001; 84:2649-2663.