



UNIVERSIDAD DE CHILE



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**EVALUACION DE LA CONTAMINACION BACTERIANA DE
LA LECHE EN CENTROS DE ACOPIO Y DE ALGUNAS
MEDIDAS DE MEJORAMIENTO**

PATRICIA ALEJANDRA CABEZON PALOMINOS

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

PROFESOR GUIA: DR. HERNAN AGÜERO E

**SANTIAGO, CHILE
2004**

Financiado por CORFO - SERCOTEC (PP-R06-99)



UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

EVALUACION DE LA CONTAMINACION BACTERIANA DE LA LECHE EN CENTROS DE ACOPIO Y DE ALGUNAS MEDIDAS DE MEJORAMIENTO

PATRICIA ALEJANDRA CABEZON PALOMINOS

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

NOTA FINAL.....

PROFESOR GUIA
PROFESOR CONSEJERO
PROFESOR CONSEJERO

: DR. HERNAN AGÜERO E.
: DRA. MARIA SOL MORALES S.
: DRA. PILAR OVIEDO H.

NOTA FIRMA

SANTIAGO, CHILE
2004

Dedicada con mucho cariño, a los seres más maravillosos, mis padres Patricio y Lily; mis hermanas Olguita y Andrea, cuñaitos Teo y Nicolás, mi sobrinito Vicente y, a quien fue mi tutor.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis agradecimientos sinceros a todas aquellas personas que de alguna forma participaron en la realización de mi memoria de título, muy especialmente al:

Doctor Hernán Agüero, quien me apoyó y orientó en todo momento con su experiencia, conocimientos y dedicación.

Personal de la empresa DeLaval®, por otorgarme el respaldo técnico y profesional especialmente al señor Lorenzo Andrés, quien durante la capacitación efectuada en Osorno y el transcurso de la memoria, me brindó su apoyo profesional.

Jorge Badilla y al Personal de UFOCO S.A., quienes me dieron las facilidades para realizar en terreno mi memoria, muy agradecida especialmente de la señorita Olga Pinto y su familia, los tíos Yolanda de Pinto, José Pinto y Emilia Pinto, quienes me dieron acogida en su hogar y me brindaron todo el cariño durante la realización de mi estudio.

Productores de los centros de acopio de Ranchillo, los señores Patricio y Pedro Vera y de Las Mercedes, el señor Sergio Alvarado y señora, quienes me dieron las facilidades de realizar mi estudio en terreno.

A mis profesoras guía, las doctoras Pilar Oviedo y María Sol Morales, quienes me brindaron su apoyo e información.

A las instituciones de Servicio de Cooperación Técnica (SERCOTEC), por su financiamiento en este proyecto y al laboratorio de COOPRINSEM, quienes realizaron los análisis de las muestras.

A mis compañeros de memoria de título Luis Espejo y Joaquín Azocar por su compañerismo.

Doctor Eduardo Blanlot, quien tuvo siempre buena disposición de entregarme sus opiniones, cada vez que fue consultado.

Y finalmente, a todos aquellos que me brindaron su apoyo y me incentivaron en la culminación de mi memoria, entre ellos los doctores Iñigo Díaz y Doug Reinemann; don Octavio González, los tíos de Soprole Alda Zavattaro y Armando Soto, y mis amigos Alejandro Berrios y Rodrigo Llana, y muy especialmente a mi familia, por su paciencia, apoyo incondicional y por la fe puesta en mi en todo momento.



INDICE

	Página
RESUMEN	
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1. CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LECHE	3
2.2. TIPOS DE BACTERIAS DE LA LECHE Y METODOS DE RECUESTO BACTERIANO	6
2.2.1. Bacterias Aerobias Mesófilas	6
2.2.2. Bacterias Psicrótrofas	9
2.2.3. Bacterias Termodúricas	12
2.2.4. Bacterias Coliformes	14
2.3. SITUACION NACIONAL DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LECHE	17
2.4. FUENTES DE CONTAMINACION DE LA LECHE Y FACTORES QUE AFECTAN LA PROLIFERACION BACTERIANA	26
2.4.1. Glándula Mamaria	26
2.4.2. Cuerpo de la Vaca	27
2.4.3. Medio Ambiente	30
2.4.4. Agua	31
2.4.5. Equipos de Ordeña	36
2.4.6. Tarros Lecheros	40
2.4.7. Almacenamiento	41
2.4.8. Transporte	47

2.4.9.	Ordeñadores	52
2.5.	ASPECTOS A CONSIDERAR EN EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LECHE	55
2.5.1.	Consideraciones Generales	55
2.5.2.	Control de las Enfermedades de los Animales	55
2.5.3.	Disponibilidad y Calidad del Agua	56
2.5.4.	Higiene del Ambiente	58
2.5.5.	Ordeñadores	59
2.5.6.	Rutina de ordeña	60
2.5.7.	Equipos de Ordeña	64
2.5.7.1.	Limpieza y desinfección	65
2.5.7.2.	Inspección, revisión y mantención de los equipos de ordeña	79
2.5.8.	Almacenamiento de la Leche	80
2.5.9.	Recolección y Transporte de la Leche	83
3.	OBJETIVOS	86
4.	MATERIALES Y METODOS	87
4.1.	DISEÑO DEL ESTUDIO	87
4.2.	FASE 1	88
4.3.	FASE 2	92
4.4.	MUESTRAS DE LECHE DE TARROS	94
4.4.1.	Esquema de Muestreo	94
4.4.2.	Procedimientos de Obtención y Análisis de las Muestras	96
4.5.	MUESTRAS DE LECHE DE VACAS	98
4.6.	OTRAS DETERMINACIONES	98
4.7.	ANALISIS DE RESULTADOS	100

5.	RESULTADOS Y DISCUSION	104
5.1.	FUENTES DE CONTAMINACION DE LA LECHE (FASE 1)	104
5.1.1.	Recuento Bacteriano Total	104
5.1.1.1.	Productor 1: Ordeña de la tarde	104
5.1.1.2.	Productor 1: Ordeña de la mañana	110
5.1.1.3.	Productor 2: Ordeña de la mañana	118
5.1.2.	Recuentos Bacterianos Complementarios	124
5.1.2.1.	Productor 1: Ordeña de la tarde	124
5.1.2.1.1.	Recuento de bacterias termodúricas (RT)	124
5.1.2.1.2.	Recuento de bacterias psicrotróficas (RP)	126
5.1.2.1.3.	Recuento de bacterias coliformes totales (RC)	128
5.1.2.2.	Productor 1: Ordeña de la mañana	129
5.1.2.2.1.	Recuento de bacterias termodúricas (RT)	129
5.1.2.2.2.	Recuento de bacterias psicrotróficas (RP)	131
5.1.2.2.3.	Recuento de bacterias coliformes totales (RC)	131
5.1.2.3.	Productor 2: Ordeña de la mañana	132
5.1.2.3.1.	Recuento de bacterias termodúricas (RT)	132
5.1.2.3.2.	Recuento de bacterias psicrotróficas (RP)	133
5.1.2.3.3.	Recuento de bacterias coliformes totales (RC)	134
5.2.	EVALUACION DE ALGUNAS MEDIDAS DE MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LECHE (FASE 2)	139
5.2.1.	Recuento Bacteriano Total	139
5.2.1.1.	Productor 1: Ordeña de la tarde	139
5.2.1.2.	Productor 1: Ordeña de la mañana	145
5.2.1.3.	Productor 2: Ordeña de la mañana	149

5.2.2.	Recuentos Bacterianos Complementarios	161
5.2.2.1.	Productor 1: Ordeña de la tarde	161
5.2.2.1.1.	Recuento de bacterias termodúricas (RT)	161
5.2.2.1.2.	Recuento de bacterias psicrótrofas (RP)	162
5.2.2.1.3.	Recuento de bacterias coliformes totales (RC)	163
5.2.2.2.	Productor 1: Ordeña de la mañana	165
5.2.2.2.1.	Recuento de bacterias termodúricas (RT)	165
5.2.2.2.2.	Recuento de bacterias psicrótrofas (RP)	165
5.2.2.2.3.	Recuento de bacterias coliformes totales (RC)	166
5.2.2.3.	Productor 2: Ordeña de la mañana	167
5.2.2.3.1.	Recuento de bacterias termodúricas (RT)	167
5.2.2.3.2.	Recuento de bacterias psicrótrofas (RP)	167
5.2.2.3.3.	Recuento de bacterias coliformes totales (RC)	168
5.2.3.	Recuentos Bacterianos de los Equipos de Ordeña y Tarros Lecheros	177
5.2.3.1.	Productor 1	177
5.2.3.2.	Productor 2	177
6.	CONCLUSIONES	183
7.	BIBLIOGRAFIA	184
	ANEXOS	

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1	108
2. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1	115
3. Recuento bacteriano total en muestras de leche obtenidas individualmente en 22 vacas: productor 1	117
4. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 2	122
5. Recuento bacteriano total en muestras de leche obtenidas individualmente en 5 vacas: productor 2	124
6. Recuento de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1	136
7. Recuento de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1	137
8. Recuento de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 2	138
9.1.Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo: productor 1	142
9.2.Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (\log_{10} ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo: productor 1	143
10.1.Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 1	146

10.2.Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (\log_{10} ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 1	147
11.1.Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total ($\times 1.000$ ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 2	150
11.2.Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (\log_{10} ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 2	151
12. Comparación entre las fases 1 y 2 de los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo: productor 1	174
13. Comparación entre las fases 1 y 2 de los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 1	175
14. Comparación entre las fases 1 y 2 de los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 2	176
15. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total y de bacterias termodúricas (ufc/ml), de los componentes del equipo de ordeña y tarros lecheros: productor 1	180
16. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total y de bacterias termodúricas (ufc/ml), de los componentes del equipo de ordeña y tarros lecheros: productor 2	181

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1	109
2. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1	116
3. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 2	123
4. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo (fase 2): productor 1	144
5. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 2): productor 1	148
6. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 2): productor 2	152

RESUMEN

El objetivo principal fue evaluar la contribución de las fuentes de contaminación y/o proliferación bacteriana al recuento bacteriano total de la leche (RBT), en centros de acopio lechero (CAL), y algunas medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche (fases 1 y 2 del estudio, respectivamente). En éste participaron dos proveedores de los CAL de María Pinto, con períodos cortos de transporte de leche de la ordeña de la mañana (AM). La ordeña de la tarde (PM) del productor 1 representa un tercer estudio de casos (almacenamiento nocturno de la leche a temperatura ambiente). Basado en las deficiencias detectadas en la fase 1, en la fase 2 se reemplazó los elementos sobreutilizados de los equipos de ordeña, y se modificó sus procedimientos de lavado y la rutina de ordeña.

Se realizaron muestreos de leche de tarros, PM y AM (productor 1), y AM (productor 2), al final de: ordeña, almacenamiento predial y recolección, y se simuló el almacenamiento en el estanque de un CAL (2 h a 4°C). Se tomaron muestras de fin de almacenamiento AM y PM (productor 1) y se mantuvieron 2 h a temperatura ambiente (simulación de condiciones habituales de transporte). Además, se obtuvieron muestras de leche al término de la ordeña PM (productor 1) y AM (productor 2), para simular un almacenamiento refrigerado desde fin de ordeña a fin de almacenamiento en el CAL. Durante cada fase se realizaron 4 muestreos de leche de tarros, con el fin de evaluar los niveles de RBT y 1 muestreo para analizar los recuentos de bacterias termodúricas (RT), psicrótrofas (RP) y coliformes (RC). Se muestreó leche de 22 vacas (productor 1) y 5 vacas (productor 2), para estimar su contribución al RBT de fin de ordeña. El RBT, determinado mediante Bactoscan, se analizó descriptivamente, por productor y horario de ordeña, estudiándose en cada fase su evolución desde el fin de ordeña hasta la recepción en el CAL. En la leche mantenida a 4°C, se establecieron las diferencias entre RBT final e inicial para cada período simulado. La evaluación de las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica, se basó en la

comparación de los RBT de la leche de las fases 1 y 2; realizándose complementariamente el mismo tipo de análisis para los RP, RT y RC.

Los promedios aritméticos de RBT ($\times 1.000$ ufc/ml), en las fases 1 y 2 fueron, respectivamente: Productor 1 (PM); 19 y 6 (fin ordeña), 572 y 73 (fin almacenamiento predial, 15 h), 608 y 106 (fin recolección, 2 h), 658 y 114 (fin almacenamiento simulado en CAL), 34 y 4 (4°C hasta fin almacenamiento en CAL, 18 h). Productor 1 (AM); 14 y 5 (fin ordeña y almacenamiento predial, <10 min), 28 y 6 (fin recolección, 2 h), 33 y 4 (fin almacenamiento simulado en CAL). Productor 2 (AM); 260 y 5 (fin ordeña); 242 y 5 (fin almacenamiento predial, <30 min), 254 y 6 (fin recolección, <15 min), 245 y 5 (fin almacenamiento simulado en CAL), 214 y 5 (4°C hasta fin almacenamiento en CAL, 4 h). Los promedios de RBT en la leche de las vacas alcanzaron a 4.180 y 7.600 ufc/ml (productores 1 y 2, respectivamente). En los tres estudios de casos, los RT, RP y RC disminuyeron en la fase 2 a valores <300 ufc/ml (RT), <20.000 ufc/ml (RP) y <200 ufc/ml (RC), en la mayoría de los puntos de muestreo.

Se concluye que el equipo de ordeña es la principal fuente de contaminación en leche con RBT elevados, adquiriendo relevancia el aporte bacteriano de las vacas cuando éstos son bajos. Es factible producir leche de excelente calidad, si los equipos de ordeña se mantienen y lavan adecuadamente, y se emplean procedimientos higiénicos de ordeña. El almacenamiento y transporte no son un punto crítico de la calidad bacteriológica (ordeña AM), pero sí el almacenamiento a temperatura ambiente de la leche hasta la mañana siguiente (ordeña PM).

1. INTRODUCCION

El incremento sostenido de la producción lechera nacional y las expectativas crecientes de exportación de productos lácteos, hacen necesario aumentar la competitividad de los productores, debiendo superar el desafío de mejorar la calidad de la leche cruda, particularmente en lo referente a calidad higiénica. La implementación de sistemas de pago por calidad en años recientes, ha permitido lograr un mejoramiento notable de la calidad higiénica de la leche recepcionada en plantas; vislumbrándose a futuro una tendencia a aumentar el grado de exigencia en estos aspectos. Sin embargo, en los pequeños productores agrupados en centros de acopio lechero (CAL), los niveles de calidad distan mucho de los exigidos por las plantas lecheras, principalmente en lo referente a calidad bacteriológica, situación que tiene una fuerte incidencia en el precio de la leche cuando ésta se comercializa en el mercado de las grandes industrias, debido a los castigos impuestos a la leche de pobre calidad bacteriológica, pudiendo quedar eventualmente éstos fuera de dicho mercado.

En consecuencia, es necesario introducir tecnologías compatibles con este estrato de productores, orientadas a implementar medidas de mejoramiento en las condiciones higiénicas de producción, obtención, almacenamiento y transporte, que hagan posible reducir la carga bacteriana final de la leche a niveles compatibles con las actuales exigencias de calidad. Para ello, es necesario determinar previamente la importancia relativa de las fuentes potenciales de contaminación y proliferación bacteriana de la leche, de modo de identificar claramente los principales puntos críticos o factores limitantes de la calidad bacteriológica. Entre los factores a analizar, pueden mencionarse los siguientes: glándula mamaria, cuerpo de la vaca, medio ambiente, ordeñadores, equipos y utensilios de ordeña, y la contaminación y proliferación bacteriana que ocurre durante el almacenamiento y transporte de la leche. Una vez determinados los principales puntos críticos, para las condiciones de este estrato de productores, es posible proponer medidas que reduzcan efectivamente el recuento bacteriano de

la leche, las cuales deben constituir la base de los programa de aseguramiento de la calidad bacteriológica.

En la comuna de María Pinto, durante 1998 operaban 6 CAL que agrupaban un total de 105 productores lecheros, los que comercializaron en conjunto alrededor de 3,2 millones de litros, a plantas queseras de la zona que no planteaban mayores exigencias en cuanto a calidad higiénica y no consideraban tales aspectos en sus pautas de pago de leche. Los CAL de María Pinto son propiedad de sociedades constituidas por los mismos productores, quienes conforman también una sociedad denominada UFOCO S.A., encargada de entregar a éstos servicios orientados a mejorar su gestión productiva y económica. Debido a la carencia de antecedentes sobre calidad higiénica de leche, entre septiembre de 1999 y agosto de 2000 se desarrolló el Proyecto Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche, UFOCO, María Pinto; demostrándose en uno de los estudios que la calidad higiénica de la leche de los productores y de los estanques, en general, era insatisfactoria, especialmente en lo referente a calidad bacteriológica.

Esta memoria forma parte del Proyecto Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche, UFOCO, María Pinto. Sus objetivos fueron evaluar la influencia de las fuentes de contaminación y/o proliferación bacteriana sobre el recuento de bacterias totales de la leche, desde el fin de la ordeña hasta su llegada al CAL, y la efectividad de algunas medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LECHE

La leche es un alimento primario y de importancia vital para la nutrición humana. Por su composición, representa una fuente de nutrientes de gran valor para la alimentación de los lactantes. Sin embargo, para los adultos constituye igualmente un alimento ideal (Butendieck, 1997).

Dentro de la calidad de la leche se consideran generalmente dos aspectos básicos: calidad de composición y calidad higiénica. La calidad de composición se refiere al contenido de materia grasa y sólidos no grasos de la leche; mientras que la calidad higiénica denota la presencia de microorganismos patógenos, toxinas, residuos químicos, microorganismos saprófitos, células somáticas, materias extrañas, así como las condiciones organolépticas (Von Baer *et al.*, 1976; Kruze, 1999). De acuerdo a la Federación Internacional de Lechería (IDF, 1980, citado por FAO, 1981a), una leche de buena calidad higiénica tiene las siguientes características: libre de toxinas y microorganismos patógenos, así como de residuos químicos y sustancias inhibidoras, un mínimo de microorganismos saprófitos y células somáticas, y adecuadas condiciones organolépticas.

La calidad de la leche que llega a las plantas procesadoras de lácteos está determinada por la calidad de la leche que sale del predio, debido a que el procesamiento industrial no puede mejorar la calidad de la leche cruda, incluso si se pasteuriza apropiadamente y se almacena a temperatura de refrigeración, lo que hace imperativo asegurar que la leche que deja el predio sea de alta calidad (Philpot, 1999). El mejoramiento de la calidad láctea beneficia a los productores, industriales y consumidores. A los productores les permite lograr mayores ganancias económicas, debido al aumento de la producción e incremento del precio por bonificación de la leche de alta calidad. Las plantas lecheras se benefician por la reducción de los costos de transporte y la mayor duración de los

productos lácteos. Por su parte, los consumidores obtienen productos lácteos más seguros, sanos y nutritivos; generándose una mayor demanda de productos lácteos, que beneficia tanto a los productores como los industriales (Von Baer *et al.*, 1976; Philpot, 1995; 1999).

Un aspecto importante dentro de la calidad higiénica de la leche es su calidad bacteriológica, debido a las consecuencias tecnológicas, económicas y para la salud humana del contenido microbiano. Este puede definirse como el total de gérmenes saprófitos y patógenos presentes en la leche cruda al momento de su recepción en las plantas lecheras (Von Baer *et al.*, 1976). El recuento bacteriano refleja el grado de infección mamaria y las condiciones higiénicas de producción, ordeña, almacenamiento y transporte de la leche (Agüero, 1997)

El contenido microbiano de la leche reviste gran importancia para las industrias procesadoras. En primer lugar, un recuento bacteriano elevado de la leche a nivel predial disminuye su capacidad de conservación, por lo que se hace indispensable su rápido traslado a la industria, incrementándose los gastos de transporte y de procesamiento por concepto del mayor costo en tratamientos térmicos. Además, pueden generarse grandes pérdidas económicas debido a la presencia de microorganismos proteolíticos, lipolíticos, fermentadores y acidificantes, que producen alteraciones de las propiedades nutritivas y condiciones organolépticas de los productos lácteos, afectándose su capacidad de almacenamiento (Von Baer *et al.*, 1976; Agüero, 1995).

Por otra parte, el contenido microbiano de la leche puede tener cierta importancia en lo referente a la Salud Pública, puesto que algunos microorganismos patógenos para el hombre, pueden transmitirse a través de la leche de las vacas afectadas, cuando ésta se consume cruda. Entre estas enfermedades se incluyen la tuberculosis, la brucelosis y algunas formas de gastroenteritis (Von Baer *et al.*, 1976; Vasavada, 1988).

Además, debe tenerse presente que el recuento bacteriano de la leche ha influido de manera directa y relevante en el precio percibido por los productores

nacionales a partir de 1997-1998 (Kruze, 1998; 1999; 2000; Agüero, 2002 a; b). En el caso de los pequeños productores lecheros organizados en centros de acopio, el recuento bacteriano es la variable que mayormente limita la calidad láctea (Kruze, 1998), pudiendo provocar una disminución importante del precio percibido por estos productores, cuando comercializan la leche en el mercado de las industrias que han establecido pautas de pago por calidad (Carrillo y Vidal, 1999; Espejo, 2001).

La evaluación de la calidad bacteriológica de la leche tiene por objetivo lograr ciertos estándares higiénicos en su producción y almacenamiento a nivel predial; y determinar si el contenido bacteriano de la leche recibida en la industria, la hace apta para el procesamiento (IDF, 1991).

En general, se acepta que los niveles de recuento bacteriano total que denotan una calidad bacteriológica de leche satisfactoria están bajo el límite de 100.000 ufc/ml (IDF, 1991), lo que concuerda con las exigencias de las regulaciones para la leche cruda en la Unión Europea (Normativa 92/46), que suscribe la Comisión del Código Alimentario (*CODEX*), según la cual no se puede comercializar leche con recuentos bacterianos mayores (Booth, 1998; Philpot, 1999). En Estados Unidos, las regulaciones también exigen que la leche cruda tenga un recuento bacteriano menor al señalado (Fundación Chile, 1997; Philpot, 1999). El límite de 100.000 ufc/ml se ha utilizado tanto a nivel internacional (Cousins y Bramley, 1981; Shearer *et al.*, 1992), como nacional (Pedraza *et al.*, 1987; Agüero, 1995; Espejo, 2001), para evaluar la calidad bacteriológica de la leche, ya que recuentos más elevados generalmente evidencian deficiencias higiénicas en la producción de la leche.

Sin embargo, diversos autores plantean recomendaciones más exigentes para la leche cruda de alta calidad, señalando que los recuentos de bacterias totales en leche de estanques deberían ser ≤ 50.000 ufc/ml (Lück, 1972; Hamann, 1997; Reinemann *et al.*, 1997), ≤ 25.000 ufc/ml (Philpot, 1999), ≤ 20.000 o ≤ 10.000 ufc/ml (Shearer *et al.*, 1992), ≤ 5.000 ufc/ml (Gamroth y Bodyfelt, 1993) e incluso ≤ 1.000 ufc/ml (Shearer *et al.*, 1992). Reinemann *et al.* (1997) señalan que es factible lograr

recuentos <5.000 ufc/ml con un buen procedimiento de lavado y sanitización de los equipos, y una refrigeración adecuada de la leche; en tanto que un recuento <1.000 ufc/ml denotaría un manejo excelente en ambas áreas. De acuerdo a las regulaciones existentes en Estados Unidos para leche pasteurizada (Pasteurised Milk Ordinance, PMO), el recuento bacteriano total debe ser <20.000 ufc/ml, pero la mayoría de las industrias establece requerimientos más exigentes para la leche de mejor calidad (<1.000 ufc/ml), (Philpot, 1999).

Dado que el recuento total de bacterias no indica las posibles fuentes de contaminación de la leche y las causas que podrían explicar los altos recuentos, (Cousins y Bramley, 1981), ni garantiza que no ocurra deterioro de la leche a bajos niveles de recuento, la evaluación de la calidad bacteriológica de la leche cruda debe contemplar además del recuento total, el recuento de algunos grupos bacterianos, entre los que se incluyen las bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes (Thomas y Beckley, 1967; Lück, 1972; Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992; Reinemann *et al.*, 1997; 2000). Así, estos recuentos bacterianos complementarios, pueden ayudar a identificar el tipo de bacterias predominantes en la leche y de acuerdo a ello establecer las posibles deficiencias a nivel predial.

2.2. TIPOS DE BACTERIAS DE LA LECHE Y METODOS DE RECuento BACTERIANO

Según el comportamiento frente a la temperatura, las bacterias se clasifican en aerobias mesófilas, psicrótrofas y termodúricas. Los coliformes constituyen un grupo distinto de bacterias, donde no se considera la temperatura óptima de desarrollo (Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992).

2.2.1. Bacterias Aerobias Mesófilas

Son todas aquellas bacterias cuyo rango óptimo de temperatura fluctúa entre 20 y 42°C (Ellner, 2000) o 45°C (Marriott, 1999). Este grupo incluye una diversidad de

géneros, como *Streptococcus spp.* y *Lactobacillus spp.*, que se caracterizan por producir acidificación de la leche debido a la formación de ácido láctico a partir de la lactosa (Alais, 1985; Tetra Pak, 1995; Kruze, 1997; Marriott, 1999). Otros géneros importantes son *Micrococcus spp.*, que forma parte de la flora inocua que contamina la leche, y *Staphylococcus spp.* Dentro de este último género se encuentran especies de gran trascendencia bajo el punto de vista higiénico y sanitario, como *Staphylococcus aureus*. *Enterococcus spp.* tiene importancia por sus efectos tecnológicos, al fermentar la lactosa con formación de gas y ácidos, causando algunas especies de coliformes y salmonelas graves enfermedades en el hombre (Cousins y Bramley, 1981; Alais, 1985).

De acuerdo al Instituto de Salud Pública de Chile (Chile-ISP, 1998), el número de microorganismos aerobios mesófilos sirve como un indicador microbiológico de calidad de los alimentos, basado en el principio que mientras más alto es su recuento, mayor es la probabilidad de presencia de patógenos y de bacterias que puedan afectar la calidad de los productos, disminuyendo su duración en el mercado, especialmente en el caso de los productos lácteos frescos (Heimlich y Carrillo, 1995).

El control de las bacterias aerobias mesófilas en la leche se ve favorecido por su respuesta a las temperaturas de refrigeración (1 día a 6°C, 2 días a 4°C), debido a que a dichas temperaturas se inhibe su crecimiento (Alais, 1985; Romero, 1995). Comparadas con las bacterias psicrótrofas, las aerobias mesófilas presentan mayores tiempos de generación en la leche refrigerada, lo que explica sus menores tasas de crecimiento (Cousins y Bramley, 1981; Romero, 1995; Kruze, 1997).

Se dispone actualmente de una gran diversidad de técnicas para realizar el recuento de las bacterias aerobias mesófilas, debiendo tenerse presente que no existe un método ideal para la evaluación de la calidad bacteriológica en la leche cruda de estanque. La elección de un método determinado depende de la situación y del objetivo que se persiga. En términos generales, los métodos

utilizados en leche de estanque, comprenden los recuentos de bacterias formadoras de colonias y los recuentos de bacterias (IDF, 1991).

Entre los métodos que permiten estimar sólo la cantidad de bacterias viables o capaces de formar colonias, se encuentran el Recuento Estándar en Placa o Standard Plate Count (SPC), denominado también Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM) y los métodos alternativos al Recuento Estándar en Placa, como Recuento Espiral en Placa o Spiral Plate Count (SPC), Recuento en Placa por Siembra con Asa de Platino Calibrada o Plate Loop Count (PLC) y Recuento de Aeróbicas en Petrifilm^{MR} o PetrifilmTM Aerobic Count (Alais, 1985; IDF, 1991; Houghtby *et al.*, 1992; Shearer *et al.*, 1992; Marriott, 1999).

El Recuento Estándar en Placa es una de las técnicas más difundidas para evaluar la calidad bacteriológica de la leche (Bramley, 1992). En Estados Unidos, este método se ha mantenido como prueba oficial de evaluación del contenido bacteriano y clasificación de la leche según calidad (Shearer *et al.*, 1992). Consiste en la incubación en agar a $32 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 ± 3 horas, de muestras de leche sembradas con diluciones conocidas, para posteriormente contar el número de colonias visibles que se desarrollaron. Este valor se multiplica por la dilución, dando el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml), (Magariños, 1978; Houghtby *et al.*, 1992).

Con respecto a los métodos de recuento de bacterias, los que han alcanzado mayor difusión se basan en el principio fluoro-opto-electrónico de recuento (Alais, 1985; IDF, 1991). El Bactoscan es un instrumento completamente automático basado en dicho principio, que por su exactitud y capacidad de procesar un gran número de muestras por hora, entregar un resultado inmediato y contar todas las bacterias presentes en la leche, se utiliza actualmente en los laboratorios de calidad de leche de un gran número de países (Suhren *et al.*, 1991; Foss Electric, 1999).

El Bactoscan es un equipo donde se separan la caseína, células somáticas y bacterias; a través de enzimas, centrifugación y filtros, para obtenerse finalmente

una suspensión con las bacterias; las cuales son teñidas con una solución de naranja de acridina y transferidas a un disco rotatorio. Por medio de un microscopio epi- fluorescente de flujo continuo, se registran los pulsos emitidos por las bacterias (Reybroeck, 1996). Cada pulso representa una célula bacteriana individual y la totalidad de pulsos el recuento bacteriano de la muestra. Los resultados pueden ser transformados e informados en Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (ufc/ml), por medio de una ecuación de regresión lineal (Suhren *et al.*, 1991; Foss Electric, 1995). Dado que no todas las bacterias forman colonias, los valores obtenidos mediante recuento en placa son menores que los determinados con el Bactoscan, pudiendo estos últimos ser casi 5 veces mayores en comparación al recuento estándar en placa (Booth, 1998).

2.2.2. Bacterias Psicrótrofas

Son capaces de crecer a la temperatura de refrigeración (7°C o menos). Algunas bacterias psicrótrofas pueden multiplicarse a temperaturas cercana a 0°C, mientras que otras lo pueden hacer a temperaturas de hasta 45°C. En general, su temperatura óptima de crecimiento está entre 20-30°C (Cousin, 1982), 20-35°C (Forsythe y Hayes, 2002) o 30-40°C (Davis, 1987).

La mayoría de los psicrótrofos son bacterias Gram-negativas, siendo *Pseudomonas spp.* el género predominante en la leche cruda. En menor proporción se encuentran los géneros *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* y algunas especies de coliformes. Dentro de los Gram-positivos, los géneros más comunes son *Micrococcus*, *Bacillus* y *Arthrobacter* (Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Marriott, 1999).

Algunas bacterias psicrótrofas Gram-negativas producen enzimas que degradan las proteínas (proteasas) y lípidos (lipasas), cuya acción puede causar defectos organolépticos en diversos productos lácteos (Cousin, 1982). Estas bacterias son destruidas por la pasteurización, pero sus enzimas no son inactivadas (Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982). No obstante, algunas investigaciones han indicado que *Pseudomonas spp.* podría sobrevivir a los procesos de pasteurización de la

leche cuando los recuentos son muy elevados. Se ha descrito que algunos psicrótrofos Gram-positivos forman esporas e incluso pueden sobrevivir los tratamientos térmicos de la leche a nivel industrial (Cousin, 1982). Su importancia desde el punto de vista sanitario radica en que se han encontrado toxinas de *Bacillus cereus*, en leche almacenada a temperatura de refrigeración, causantes de un cuadro de intoxicación alimentaria por enterotoxinas (García y Sutherland, 1997).

Los psicrótrofos son ubicuos en la naturaleza, siendo el agua una de las fuentes más importantes de contaminación de la leche y productos lácteos. Sin embargo, la principal causa de recuentos elevados de psicrótrofos Gram-negativos en la leche cruda, corresponde habitualmente a una inadecuada limpieza e higienización de los equipos de ordeña, siendo también importantes las fallas en los sistemas de refrigeración de los estanques de leche (Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992; Forsythe y Hayes, 2002). Se ha demostrado que después de almacenar muestras de leche recolectadas diariamente, con un recuento inicial de psicrótrofos de 10.000 ufc/ml, aún a 5°C el recuento excedió 1.000.000 ufc/ml a los 3 días de almacenamiento, alcanzando el recuento final de psicrótrofos valores del orden de 10.000.000 y 100.000.000 ufc/ml, cuando la temperatura de almacenamiento fue de 7 y 10°C, respectivamente (Cousins y Bramley, 1981).

De acuerdo a Thomas y Thomas (1973), citados por Cousin (1982), recuentos de psicrótrofos entre 10.000 y 100.000 ufc/ml reflejan condiciones higiénicas de producción insatisfactorias y/o refrigeración inadecuada de la leche. Según Gamroth y Bodyfelt (1993), valores >100.000 ufc/ml indican fallas importantes en la limpieza de los equipos de ordeña. En leche producida bajo condiciones higiénicas aceptables, un 10% de la flora bacteriana total corresponde a psicrótrofos, proporción que puede llegar a más del 75% si la higiene es deficiente (Cousin, 1982). A medida que aumenta el crecimiento bacteriano en la leche refrigerada, después de 2 a 4 días se registra un incremento de la flora psicrótrófica y el recuento de este tipo de bacterias puede llegar a representar el

100% del recuento bacteriano total (Cousins y Bramley, 1981; Gehriger, 1981; Kruze, 1997), razón por la cual un alto recuento de psicrótrofos puede ocurrir también debido a períodos de almacenamiento refrigerado muy prolongados (Shearer *et al.*, 1992).

Existen diferentes criterios respecto de los límites aceptables para el recuento de psicrótrofos. Así, se ha señalado que éste debería ser <20.000 ufc/ml (Tatini *et al.*, 1965) o <10.000 ufc/ml (Thomas y Thomas, 1973, citados por Cousin, 1982; Richard, 1981). Otras recomendaciones más exigentes, indican que el recuento de psicrótrofos en la leche no debería exceder de 5.000 ufc/ml (Lück, 1972). Según Shearer *et al.* (1992), recuentos de psicrótrofos ≤ 20.000 y ≤ 10.000 ufc/ml en muestras de leche de estanque, corresponden a niveles de calidad bueno y excelente, respectivamente.

Desde el punto de vista industrial, se ha estimado en 1.000.000 ufc/ml el valor límite para el recuento de la flora psicrótrofa en leche cruda, por encima del cual existe una alta probabilidad de que ocurran alteraciones organolépticas, tanto en la materia prima como en los productos elaborados a partir de ella, especialmente quesos, mantequilla y leche UHT (Romero, 1989).

El método de enumeración de los psicrótrofos consiste en un recuento en placa, pero con una incubación prolongada (10 días), a una temperatura de 6 o 7°C (Magariños, 1978; Cousin, 1982; Alais, 1985). La desventaja obvia de este método es que requiere un largo tiempo para obtener los resultados, por lo que se han desarrollado otros métodos más rápidos, como la Incubación Preliminar (Preliminary Incubation, PI). Este consiste en un recuento en placa después de incubar la leche durante 18 horas (incubación preliminar), a 13°C, favoreciendo de esta forma el crecimiento de las bacterias psicrótrofas (IDF, 1991; Shearer *et al.*, 1992).

2.2.3. Bacterias Termodúricas

Son bacterias que sobreviven al proceso de pasteurización (72°C por 15 segundos), pero son incapaces de multiplicarse a la temperatura empleada en dicho proceso. Sin embargo, sus enzimas sí son destruidas por la pasteurización. Se caracterizan por ser proteolíticas (Shearer *et al.*, 1992) y tener una temperatura óptima de desarrollo del orden de 30°C (Ellner, 2000). Los géneros más comunes son *Microbacterium spp.*, *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *Micrococcus spp.* y *Alcaligenes spp.* (Cousins y Bramley, 1981), sarcinas (Davis, 1987), *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, coryniformes y ocasionalmente bacilos Gram-negativos (Frank *et al.*, 1992).

El recuento de bacterias termodúricas constituye un indicador de la higiene predial e industrial (Frank *et al.*, 1992; Shearer *et al.*, 1992). En el primer caso, las fuentes principales de bacterias termodúricas son los equipos de ordeña mal lavados e higienizados (ICMSF, 1980; Cousin, 1982; Davis, 1987; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Forsythe y Hayes, 2002). La mayoría de la bacterias termodúricas se encuentran presentes en el medio ambiente de las vacas (Shearer *et al.*, 1992), particularmente en los materiales utilizados en las camas durante su confinamiento (McKinnon *et al.*, 1990; Murphy y Boor, s.f.), pudiendo algunas especies como *Bacillus cereus* contaminar intensamente los pezones (Cousins y Bramley, 1981; McKinnon *et al.*, 1983; Edmonson y Williamson, 1995).

Los tarros lecheros pueden representar un factor de contaminación importante de bacterias termodúricas (Kruze, 1997), habiéndose descrito niveles más altos de recuento para este tipo de bacterias en leche almacenada en tarros, comparado con leche almacenada en estanques refrigerados. Además, los tarros lecheros son una fuente de esporas de *Bacillus cereus*, el cual se encuentra con poca frecuencia en leche refrigerada (Cousins y Bramley, 1981).

En contraposición a las esporas, los micrococos y *Microbacterium spp.* se originan casi exclusivamente de los equipos de ordeña, que al estar intensamente

contaminados por estos microorganismos, pueden hacer que el recuento de bacterias termodúricas de la leche exceda de 50.000 ufc/ml (Cousins y Bramley, 1981). Las bacterias termodúricas se encuentran comúnmente en los depósitos de piedra de leche y elementos de goma gastados, por lo que un control adecuado de las mismas involucra un programa riguroso de limpieza y mantención de los equipos de ordeña (VDIA, 1998; Murphy y Boor, s.f.). Se han asociado altos recuentos de bacterias termodúricas en la leche con fallas en el inyector de aire de los equipos y una concentración incorrecta del detergente (Bray y Shearer, s.f.), así como con una temperatura insuficiente del agua de la solución detergente (Bray y Shearer, s.f.; Bramley, 1992).

La mayoría de las bacterias termodúricas no se multiplica de manera importante en la leche, aún a temperatura ambiente, por lo que un alto recuento de este tipo de bacterias hasta las 24 horas de almacenamiento de la leche, es un indicador confiable de un equipo de ordeña muy contaminado (Cousins y Bramley, 1981). Recuentos >500 ufc/ml (Shearer *et al.*, 1992) o >750 ufc/ml (Edmonson y Williamson, 1995), indicarían fallas en el lavado del equipo de ordeña.

De acuerdo a algunos autores, el recuento de bacterias termodúricas en la leche es satisfactorio si su valor es ≤ 300 ufc/ml (Shearer *et al.*, 1992) o <500 ufc/ml (Gamroth y Bodyfelt, 1993); considerándose la leche como de excelente calidad cuando el recuento de termodúricas es <100 ufc/ml (Shearer *et al.*, 1992; Gamroth y Bodyfelt, 1993). Reinemann *et al.* (1997; 2000) señalan que con una adecuada limpieza y sanitización de los equipos de ordeña, el recuento de bacterias termodúricas en la leche debería ser <100 o <200 ufc/ml; si la higiene de los equipos es excelente, el recuento podría ser <10 ufc/ml.

Para efectuar el recuento de este tipo de bacterias se utiliza el método de recuento después de Pasteurización en el Laboratorio (Laboratory Pasteurization Count, LPC), el que se efectúa pasteurizando una muestra de leche a 63°C por 30 minutos, practicándose posteriormente un recuento estándar en placa (Cousins y Bramley, 1981; Shearer *et al.*, 1992; Reinemann *et al.*, 1997).

2.2.4. Bacterias Coliformes

Este grupo de microorganismos está conformado por bacilos Gram–negativos de la familia *Enterobacteriaceae* e incluye los géneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter* (Alais, 1985; Christen *et al.*, 1992; Chile-ISP, 1998). Fermentan la lactosa hacia ácido láctico u otros ácidos, con producción de gas (Christen *et al.*, 1992; Tetra Pak, 1995; Chile-ISP, 1998; Ellner, 2000). Además, son proteolíticos, ocasionando defectos de sabor y olor de gran importancia en la industria quesera (Tetra Pak, 1995). Algunos coliformes tienen características psicrófilas, pudiendo constituir hasta el 20% (Lück, 1972) o 33% de los microorganismos psicrófilos de la leche almacenada en estanques (Cousin, 1982).

El recuento de coliformes se usa principalmente como indicador de las condiciones higiénicas de producción y obtención de leche (Gamroth y Bodyfelt, 1993; Agüero, 1997). Además, la presencia de coliformes sugiere la posibilidad de patógenos contaminantes en los alimentos, así como contaminación o deficiencias en la sanitización de las fuentes de agua (Vasavada, 1988). *Escherichia coli* es un coliforme que reviste particular importancia, pues se considera el mejor indicador de contaminación fecal (Christen *et al.*, 1992)

Los coliformes provienen del tracto digestivo de los animales, y se encuentran presentes en las fecas, tierra, plantas y aguas contaminadas (Tetra Pak, 1995; Chile-ISP, 1998; Ellner, 2000). Pueden ser transmitidos a la leche a través de las manos, ropas, equipos de ordeña, barro e incluso a partir del aire (Gamroth y Bodyfelt, 1993). En los equipos de ordeña, su crecimiento se ve favorecido por la humedad o los residuos de leche (Cousins y Bramley, 1981; Reinemann *et al.*, 1997; 2000), así como por la presencia de grietas en los componentes de goma (Gamroth y Bodyfelt, 1993).

El recuento de bacterias coliformes en la leche es un indicador de las condiciones higiénicas de producción, que incluyen el ambiente de las vacas, los procedimientos de preparación pre-ordeña y el equipo de ordeña (Gamroth y

Bodyfelt, 1993; Reinemann *et al.*, 1997; 2000). No obstante, algunos autores sostienen que el recuento de coliformes no sería un buen indicador de la higiene predial (Hartley *et al.*, 1968; Lück, 1972), existiendo además discrepancias en cuanto a la importancia relativa de los factores involucrados en recuentos elevados de coliformes en la leche.

Un recuento elevado de coliformes podría ser atribuido a fallas en la preparación de las vacas, debido a que una fuente importante de coliformes en la leche es el transporte de suciedad desde la ubre y los pezones hacia el equipo de ordeña. De esta forma, el recuento de coliformes constituiría un indicador tanto de la efectividad de los procedimientos de preparación de las vacas para la ordeña, como de la limpieza del ambiente (Bradley, 1982; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Bray y Shearer, s.f.). Entre las causas probables de recuentos elevados de bacterias coliformes en la leche, pueden mencionarse: malas condiciones higiénicas del ambiente de confinamiento; camas sucias y húmedas; pasillos mal aseados, con acumulación de barro y fecas; y fallas en la preparación de las vacas: ubres sucias, y deficiencias en el lavado y secado de los pezones (Agüero, 1997). Edmonson y Williamson (1995) señalan que los pezones sucios o mal secados al momento de colocar las pezoneras, pueden ser una causa importante de altos recuentos de coliformes en la leche.

En relación a los factores que inciden en el recuento de coliformes, algunos autores atribuyen mayor importancia relativa a la limpieza e higienización inapropiada de los equipos de ordeña, en comparación a la contaminación proveniente de pezones sucios (McKinnon *et al.*, 1990), y de ubres infectadas, guano, polvo o aguas no tratadas (Cousin, 1982). Al respecto, McKinnon *et al.* (1983) comprobaron que en las vacas con pezones sucios y no lavados antes de la ordeña, su contribución al recuento de coliformes era muy baja. Estos antecedentes son consistentes con los revisados por Cousins y Bramley (1981), en cuanto a que la presencia de coliformes en la leche no constituiría evidencia de contaminación fecal y, por lo tanto, los recuentos no se relacionarían con fallas en los procedimientos de preparación de las vacas. Dado que los coliformes pueden

crecer rápidamente en los equipos de ordeña lavados inadecuadamente, éstos serían la principal fuente de contaminación de la leche por este tipo de bacterias, aunque un recuento de coliformes relativamente bajo no indicaría necesariamente que el equipo de ordeña ha sido lavado y sanitizado adecuadamente.

Probablemente por lo anterior, se observan grandes diferencias en los valores de recuento de coliformes que se consideran aceptables en leche cruda, así como en los criterios de interpretación. Así, se ha señalado que un recuento de coliformes >100 ufc/ml evidenciaría una higiene insatisfactoria en algún nivel del proceso de producción (Cousins y Bramley, 1981). Por su parte, Bramley (1992) sostiene que un recuento >1.000 ufc/ml, rara vez es consecuencia directa de una contaminación excesiva de los pezones, sino que se debería a infecciones mamarias o a una limpieza inadecuada de los equipos. En cambio, Gamroth y Bodyfelt (1993) sostienen que al ordeñar vacas sucias, o con ubres húmedas y realizar una preparación inadecuada, se obtienen valores ≥ 25 ufc/ml.

Considerando la variabilidad de la importancia relativa de los factores que afectan el recuento de coliformes, para evaluar apropiadamente la calidad bacteriológica de la leche e identificar las posibles causas de su deterioro, debería efectuarse una interpretación del conjunto de resultados obtenidos para los distintos tipos de recuento bacteriano. Un aumento tanto del recuento de coliformes como del recuento bacteriano total de la leche, junto a un recuento de bacteria termodúricas cercano a los valores aceptables, sugeriría deficiencias en la higiene de ordeña, particularmente si a la inspección se verifica un buen estado de limpieza del equipo de ordeña. Cuando el equipo de ordeña no se limpia apropiadamente, no sólo aumentaría el recuento de bacterias termodúricas de la leche, sino también el recuento de coliformes, debido a que estas bacterias crecen en los residuos presentes en el equipo (Reinemann *et al.*, 1997; 2000).

Existen diferentes criterios respecto de los límites aceptables para el recuento de coliformes en la leche, recomendándose valores <10 ufc/ml (Gamroth y Bodyfelt, 1993), <100 ufc/ml (Lück, 1972), <150 ufc/ml (Edmonson y Williamson, 1995), <200 ufc/ml (Thomas y Druce, 1971), <500 ufc/ml (Fernández y Prüsing, 2002) y

<1.000 ufc/ml (Tatini *et al.*, 1965). De acuerdo a las regulaciones para leche pasteurizada en Estados Unidos, el recuento de coliformes debería ser <10 ufc/ml (Philpot, 1999). Según Reinemann *et al.* (1997; 2000), un recuento >1.000 ufc/ml de coliformes sugiere fallas en el lavado e higienización del equipo de ordeña, mientras que valores comprendidos entre 100 y 1.000 ufc/ml generalmente indicarían una higiene de ordeña deficiente. Un recuento <10 ufc/ml reflejaría un manejo excelente, tanto en la higiene pre-ordeña como en la sanitización del equipo.

Para la determinación de coliformes totales se utilizan diversos métodos, entre los que destacan el recuento en placa en Agar Bilis Rojo Violeta (ABRV); con una incubación por 24 a 48 horas a 35°C (Chile-ISP, 1998), o a 32 ± 1°C (Magariños, 1978; Christen *et al.*, 1992), donde se evidencian colonias típicas de color rojo oscuro, menores a 0,5 mm de diámetro, y el recuento de colonias asociadas a burbujas de gas en placa Petrifilm^{MR}. Otro método importante corresponde al Número Más Probable de coliformes totales (NMP), el cual se realiza en tubos de fermentación con caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST), evidenciándose formación de gas al incubarse a 35 ± 1°C por 48 ± 3 horas (Chile-INN, 1984a; c). Ambos métodos incluyen pruebas confirmatorias para coliformes totales en caldo bilis verde brillante (BVB) y coliformes fecales en caldo *Escherichia coli* (EC), (Chile-ISP, 1998).

2.3. SITUACION NACIONAL DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LECHE

La situación nacional respecto al contenido microbiano de la leche cruda antes de la promulgación del DS 271, según investigaciones realizadas en el Centro Tecnológico de la Leche (Von Baer *et al.*, 1976), puede resumirse en que el recuento bacteriano de la leche recepcionada en las plantas sobrepasaba largamente los estándares internacionales, superando incluso el límite máximo permitido por el Reglamento Sanitario de los Alimentos vigente en aquella época. Más del 85% de los productores entregaba leche con recuentos superiores a

1.000.000 ufc/ml y, en muchos casos, los recuentos eran >1.000 millones de ufc/ml (Kruze, 1999).

En años recientes las propias industrias lácteas, generaron las condiciones que han permitido lograr un mejoramiento notable de la calidad bacteriológica de la leche recepcionada en las plantas. Entre los aspectos que explican el avance logrado, destacan la determinación de recuentos bacterianos en reemplazo de la prueba de reducción del azul de metileno (TRAM) a partir del año 1993, y la implementación de los primeros esquemas de pago por calidad a partir de 1995, con bonificaciones y/o castigos por calidad bacteriológica (Agüero, 1995; Kruze, 1998; 1999; 2000).

El estudio de parte de los registros de los años 1993 y 1994 de algunas plantas lecheras, demostró que el recuento bacteriano total exhibía una gran variabilidad, ubicándose la mayor parte de los predios o volúmenes de leche en el rango de 100.000 a 1.000.000 ufc/ml, lo que denota una calidad bacteriológica insatisfactoria. Los predios o partidas de leche con recuentos <100.000 ufc/ml generalmente no excedían del 30%. En algunas plantas la situación era algo más favorable, con aproximadamente un 50% de los productores o volúmenes de leche por debajo de dicho límite (Agüero, 1995).

Después que algunas industrias implementaron los primeros esquemas de pago por calidad higiénica, se observó un franco mejoramiento en la condición microbiológica de la leche, que ya se hizo evidente en 1996-1997, incrementándose notoriamente la proporción de productores con recuentos <100.000 ufc/ml, lo que es aún más manifiesto en el período 1998-1999 (Kruze, 1998; 1999). Así, la revisión de los registros de calidad de leche de una planta de la X Región, sugiere que alrededor de un 93% del volumen de leche recibida en el segundo semestre de 1999 y primer semestre de 2000, tenía recuentos <100.000 ufc/ml, correspondiendo a un 82% la proporción de leche con recuentos <30.000 ufc/ml (Agüero, 2002b). Estos antecedentes son compatibles con los resultados obtenidos en un estudio de la calidad higiénica de leche, realizado entre 1998-1999 en 40 predios con estanques enfriadores de la provincia de Llanquihue,

donde se comprobó que un 88% de los casos presentaba recuentos <100.000 ufc/ml, teniendo el 65% de ellos recuentos <50.000 ufc/ml (Menanteau, 2000).

La información recopilada por Kruze (2000) en las principales industrias lecheras nacionales, permite ilustrar el mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche en años recientes. Durante 1997, los promedios de recuento bacteriano ponderados por el volumen de leche entregado por cada productor, fluctuaron entre industrias desde 239.000 a 996.000 ufc/ml; mientras que en el primer semestre de 2000, variaron entre 24.000 y 172.00 ufc/ml. Debe tenerse presente que estos promedios de recuento bacteriano, se ven afectados en algunos casos por los recuentos generalmente elevados de los CAL.

Aún cuando no son comparables con los promedios ponderados de recuento bacteriano, un análisis preliminar de los promedios geométricos de recuento bacteriano, calculados a partir de los resultados de muestras de plantas lecheras analizadas en la Unidad Instrumental del Laboratorio de Calidad de Leche de Cooprinsem, sugiere que la calidad bacteriológica de la leche ha continuado mejorando. Así, entre los años 2000 y 2001, estos promedios habrían disminuido entre aproximadamente un 20 y 50%, dependiendo de la planta (Agüero, 2002b).

La principal razón de la notable reducción del recuento bacteriano de la leche, es el mejoramiento de las condiciones higiénicas de producción y manejo de la leche, como respuesta de los productores a la aplicación de sistemas de pagos que establecen premios y castigos de acuerdo al nivel de contaminación bacteriana de la leche. Durante la primera etapa de aplicación del pago por calidad, las industrias sólo otorgaban bonificaciones a la leche de mejor calidad y no imponían castigos a las leches de calidad inferior. A medida que se redujeron los niveles de recuento bacteriano total, la mayoría de las industrias aumentó las exigencias de calidad y las bonificaciones para las categorías superiores, y entre 1998-1999 se introdujeron fuertes descuentos en el precio para las categorías de menor calidad. Los límites de recuento bacteriano total para la leche de más alta calidad han fluctuado en años recientes entre 10.000-50.000 ufc/ml (Kruze, 1998; 1999; 2000).

Para ilustrar la ponderación de los aspectos de calidad en el precio de la leche, puede utilizarse como ejemplo la pauta de pago de Soprole S.A., Santiago (marzo de 2002), que establece un máximo de 10% de castigo para leches con recuentos bacterianos >300.000 ufc/ml, aplicándose una penalización de igual magnitud cuando los recuentos de células somáticas son >800.000 cél/ml. Así, un productor que entregue leche de mala calidad, puede recibir un castigo equivalente a un 20% del precio base. En cambio, al mejorar la calidad (<30.000 ufc/ml y <350.000 cél/ml), el precio aumentaría en un 24% por concepto de obtención de las bonificaciones máximas: 14 y 10%, respectivamente. Loncoleche S.A. impone castigos de magnitud similar a la leche de mala calidad, pudiendo destacarse además que no recibe leche con recuentos mayores a 1.000.000 ufc/ml, o con un recuento superior a 500.000 ufc/ml en los últimos 5 análisis (Agüero, 2002a).

Los antecedentes expuestos demuestran que los productores nacionales han sido capaces de mejorar notoriamente la calidad bacteriológica de la leche dentro de un período relativamente corto. Sin embargo, la situación es absolutamente distinta en los productores que no disponen de refrigeración predial o que están asociados a CAL, donde las características de calidad higiénica de la leche distan mucho de las exigidas por las plantas, particularmente en lo concerniente a la calidad bacteriológica (Agüero, 1997; Kruze, 1998; 1999). Como consecuencia de ello, el precio de la leche percibido por estos productores en el mercado formal disminuye notoriamente, pudiendo quedar incluso fuera de dicho mercado (Oviedo y Soto, 2000; Agüero, 2002a).

La mala calidad bacteriológica de la leche de los CAL, queda en evidencia al examinar los recuentos bacterianos de 3 plantas de una misma industria en la zona sur durante 1996. Los promedios de recuento de dos de estas plantas fueron menores a 100.000 ufc/ml, mientras que en la tercera, al incorporar la leche de los CAL, el promedio llegó a un valor cercano a 800.000 ufc/ml (Agüero, 1997). Kruze (1999) entrega antecedentes que ponen de manifiesto el distinto nivel de calidad bacteriológica de la leche de los productores con refrigeración predial y los productores de los CAL. Por ejemplo, en 4 plantas de una industria lechera,

durante el período enero-agosto de 1999, los promedios ponderados de recuento bacteriano en la leche de los productores variaron entre 45.000 y 175.000 ufc/ml, mientras que los promedios en la leche de los CAL fluctuaron entre 1.450.000 y 1.945.000 ufc/ml.

Un estudio realizado en 1992, demostró que el promedio de recuento bacteriano en leche de estanque de 25 CAL (Regiones IX y X) fue 317.000.000 ufc/ml, alcanzando un máximo de 3.200.000.000 ufc/ml, presentando más del 90% de las muestras recuentos superiores a 1.000.000 ufc/ml (Hansen, 1994; citado por Kruze, 1998). Los resultados de Vidal *et al.* (1997), obtenidos en un grupo de CAL de la X Región, revelan que los promedios de recuento bacteriano total en leche de estanque fluctuaron entre aproximadamente 6.000.000 y 47.000.000 ufc/ml, dependiendo del mes del año (1996). Pese a que denotan una calidad insatisfactoria, estos valores son inferiores a los determinados en el trabajo citado previamente.

En un diagnóstico de calidad de leche de 3 CAL de la IX Región, se encontró promedios de recuento de 5.130.000, 950.000 y 946.000 ufc/ml. Después de 5 meses de aplicación de un programa de aseguramiento de calidad (junio a octubre de 1997), los recuentos disminuyeron a 650.000, 500.000 y 491.000 ufc/ml, respectivamente (Carrillo *et al.*, 1997, citados por Carrillo y Vidal, 1999). De acuerdo a los resultados obtenidos al aplicar un programa de aseguramiento de la calidad higiénica de leche cruda, en 8 CAL adscritos al proyecto CEGE-Paillaco, tras un año de aplicación del programa (1996), hubo una evolución positiva de los niveles de calidad higiénica, aumentando la leche clase A desde un 39,4% hasta un 63,1%; cifra que se incrementó en 1997 y 1998 a 67,4% y 68,1%; respectivamente. Con respecto al recuento bacteriano total, durante enero 1999-julio 2001, período en que los esquemas de pago se hicieron más restrictivos, un 70% de los recuentos fueron menores a 300.000 ufc/ml, lo que clasificaría la leche dentro de un rango neutral, sin bonificaciones ni descuentos en el precio (Carrillo y Vidal, 2001).

Existen menos antecedentes referentes a calidad bacteriológica de leche en CAL de la zona central, en comparación a la zona sur del país. En un estudio que involucró 5 muestreos de un CAL de Melipilla, entre junio y agosto de 1998, Omeñaca (2000) determinó recuentos en leche de estanque que fluctuaron entre 400.000 y 880.000 ufc/ml. Una evaluación basada en muestreos mensuales, realizada durante un año en 6 CAL de María Pinto (septiembre de 1999-agosto de 2000), cuyo principal poder comprador eran queserías que no contemplan los aspectos de calidad en los esquemas de pago de la leche, permitió comprobar que, con una excepción, en todos los muestreos el recuento bacteriano total de leche de estanque fue >100.000 ufc/ml. Los promedios de recuento para todo el estudio fluctuaron entre aproximadamente 400.000 y 2.000.000 ufc/ml, dependiendo del acopio, lo que denota diferencias importantes entre CAL en los niveles de calidad bacteriológica (Espejo, 2001).

De lo expuesto se deduce que la calidad bacteriológica de la leche de estanque de los CAL es insatisfactoria y aún cuando los recuentos bacterianos han mostrado recientemente una tendencia de disminución, no alcanzarían aún los niveles que denotan una leche de buena calidad bacteriológica, pese a que este estrato de productores ha hechos grandes esfuerzos para disminuir los recuentos bacterianos. Además, debe tenerse presente que la evaluación de la calidad higiénica de leche a nivel individual de los productores de los CAL es más compleja, encontrándose una gran variabilidad entre ellos, especialmente en lo referente a calidad bacteriológica.

Pedraza *et al.* (2000) comprobaron grandes diferencias entre productores en los recuentos bacterianos de la leche, antes y después de implementar actividades de capacitación tendientes a mejorar la calidad de leche, orientadas a 40 pequeños productores de centros de acopio de Melipilla. En el primer muestreo, el promedio de recuento bacteriano total alcanzó a 3.948.805 ufc/ml, con un coeficiente de variación de 139%, siendo los valores mínimo y máximo 11.000 y 20.000.000 ufc/ml, respectivamente. Con posterioridad a las actividades de capacitación (2º muestreo), el promedio disminuyó a 768.828 ufc/ml, pero se

mantuvo la elevada variabilidad del recuento bacteriano, con un coeficiente de variación de 108%, y valores mínimo y máximo de 5.000 y 30.000.000 ufc/ml, respectivamente.

Los resultados de otro trabajo efectuado en un CAL de la misma zona (10 productores), corroboran la elevada variabilidad del recuento bacteriano entre productores. Los recuentos mínimo y máximo de 50 muestras de leche de los productores tomadas en el CAL fueron 30.000 y 8.400.000 ufc/ml, respectivamente. En un 16% de las 50 muestras, el recuento bacteriano total alcanzó valores <100.000 ufc/ml, en tanto que en un 50% de ellas los recuentos fueron >1.000.000 ufc/ml (Omeñaca, 2000).

Una situación similar se observó en un diagnóstico de calidad de leche de 497 productores de 10 CAL de la provincia de Valdivia, efectuado en noviembre de 1997, cuyos resultados sugieren además que una proporción importante de los productores entrega a los acopios leche de calidad bacteriológica aceptable (Patiño, 1998). Al menos en la mitad de los CAL, aproximadamente en un 50% de las muestras de leche de los productores, los recuentos eran <100.000 ufc/ml, lo que indica que los CAL tienen el potencial para producir leche de buena calidad. Sin embargo, en los mismos acopios hubo una proporción de productores, que varió entre 6 y 19%, con valores de recuento bacteriano total muy elevados (>1.000.000 ufc/ml), que aumentaría notoriamente los niveles de recuento bacteriano en la leche de estanque.

Lo anterior se evidenció claramente en una evaluación mensual de la calidad de leche de 12 productores de un CAL de María Pinto. Durante los muestreos realizados durante un año, se observó una gran variabilidad en la calidad bacteriológica de la leche, como lo revelan los valores mínimo y máximo de recuento bacteriano total (3.000 y 2.926.000 ufc/ml, respectivamente). Además, se comprobó que alrededor del 45% de las muestras y volúmenes de leche entregados por los productores, exhibieron niveles de recuento dentro de estándares aceptables (≤ 100.000 ufc/ml). No obstante, la mala calidad bacteriológica de leche de algunos productores, afectó considerablemente la

calidad de la leche del estanque de este acopio, pudiendo aportar entre el 10 y 50% del recuento de las muestras de estanque, lo que explicaría que sólo en un muestreo se hayan determinado recuentos ≤ 100.000 ufc/ml (Espejo, 2001).

Los antecedentes expuestos corroborarían lo señalado por Kruze (1998), en cuanto a que la calidad bacteriológica de leche constituye un punto crítico para los productores de los CAL, observándose una gran diferencia en los niveles de calidad en comparación a los productores que disponen de estanques refrigerados. El problema obedecería a muchas causas, las que han sido identificadas en estudios realizados tanto en la zona sur como en la zona central (Vidal *et al.*, 1997; Carrillo y Vidal, 1999; Omeñaca, 2000; Durandal, 2003). Sin embargo, derivaría principalmente de deficiencias higiénicas en el proceso de obtención de leche, especialmente de fallas en el lavado e higienización de los equipos y utensilios de ordeña, así como de un almacenamiento y transporte inadecuado de la leche, antes de su llegada al CAL. La interrogante que se plantea, es si optimizando estos factores y otros que inciden en la contaminación y proliferación microbiana de la leche, es posible reducir su carga bacteriana a niveles inferiores a 100.000 ufc/ml.

Existen pocos antecedentes nacionales respecto a los niveles que alcanzan en la leche los recuentos de bacterias psicrótróficas (RP), termodúricas (RT) y coliformes (RC). En un estudio efectuado en predios de la zona central se encontró promedios de 84.480 y 1.369 ufc/ml, al cabo de 48 horas de almacenamiento de la leche a 4°C, para RP y RC, respectivamente. Utilizando distintos estándares o recomendaciones, sólo un 10-37% y 23-33% de las muestras exhibieron RP y RC dentro de valores considerados aceptables (Pedraza *et al.*, 1987). En un trabajo realizado con muestras de leche de predios ubicados en la misma zona, los promedios de RP y RC a las 36 horas de almacenamiento refrigerado alcanzaron a 323.524 y 9.708 ufc/ml; detectándose un 16-40% y 12-38% de muestras de leche con recuentos aceptables para RP y RC, respectivamente (Agüero *et al.*, 1989).

En una caracterización de la flora bacteriana de leche de estanque, basada en el análisis de 15 muestras de predios de Osorno, se comprobó un amplio rango de variación para RP, RT y RC: 300 a >250.000, <100 a 28.000 y <10 a 6.800 ufc/ml, respectivamente. En la mayoría de los predios los niveles de RP fueron satisfactorios (<20.000 ufc/ml), lo que ocurrió sólo en aproximadamente la mitad de los casos para el RT y RC, al considerar 500 ufc/ml como límites aceptables para ambos tipos de recuento (Bombal, 2003).

Espejo (2001) entrega antecedentes que permiten ilustrar los elevados niveles que pueden alcanzar los recuentos de estos grupos bacterianos en la leche de estanque de los CAL. En la mayoría de los 4 muestreos realizados trimestralmente en 6 CAL de María Pinto, estos recuentos superaron notoriamente los valores aceptables, fluctuando desde 10.000 a >250.000 ufc/ml (RP), 700 a 25.000 ufc/ml (RT) y 100 a 50.000 ufc/ml (RC). Dado que estos grupos microbianos constituyen indicadores de la higiene, los altos niveles de recuento determinados en el estudio reflejarían graves deficiencias higiénicas en los procesos de obtención, almacenamiento y/o transporte de leche hasta el CAL, así como en la rutina de lavado de sus estanques; pudiendo también influir en los altos niveles de RP, fallas en el sistema de refrigeración de los estanques en los CAL que habitualmente efectúan almacenamiento nocturno de la leche.

La evaluación de estos grupos bacterianos en la leche de 12 productores del CAL con mejor calidad bacteriológica de leche, en general, no fue satisfactoria. Los valores encontrados en 4 muestreos trimestrales variaron entre <100 y >250.000 ufc/ml (RP), <100 y 28.000 ufc/ml (RT), y <10 y 11.000 ufc/ml (RC). Sólo un 33% de las muestras presentó RT aceptables (≤ 300 ufc/ml); proporción que alcanzó valores del orden de 60% en los casos de RP (<20.000 ufc/ml) y RC (≤ 200 ufc/ml), (Espejo, 2001).

Por su parte, en un CAL de Melipilla, Omeñaca (2000) también determinó valores elevados de RC en la leche de estanque (5 muestreos), que fluctuaron entre 5.100 y 110.000 ufc/ml. Los RC para 50 muestras de leche de 10 productores, tomadas al momento de la recepción en este acopio, variaron entre 10 y 220.000 ufc/ml.

2.4. FUENTES DE CONTAMINACION DE LA LECHE Y FACTORES QUE AFECTAN LA PROLIFERACION BACTERIANA

Para producir leche de buena calidad bacteriológica es necesario conocer y entender el origen de la contaminación microbiana y así aplicar las medidas adecuadas que permitan minimizar el riesgo de contaminación de la leche (Kruze, 1997). Las principales fuentes de bacterias presentes en la leche son las bacterias patógenas que provocan infecciones intramamarias, la contaminación proveniente del exterior de la ubre y otras zonas del cuerpo de las vacas, las bacterias que se desarrollan en los equipos de ordeña y de almacenamiento de la leche, y la contaminación procedente del ambiente (Cousins y Bramley, 1981; Bramley, 1992; Urrutia, 1994; Agüero, 1997; Kruze, 1997; Philpot, 1999; Murphy y Boor, s.f.).

Un alto recuento bacteriano en leche de estanque generalmente está relacionado con fallas en los sistemas de refrigeración de la leche, deficiencias en la limpieza de los equipos de ordeña, preparación inadecuada de la ubre o un nivel elevado de contaminación en las camas de las vacas. La preparación pre ordeña y el manejo de las camas influyen no sólo sobre la calidad bacteriológica de la leche, sino también en el riesgo de transmisión de infecciones intramamarias a través de la máquina de ordeña (Galton, 1993).

2.4.1. Glándula Mamaria

El aporte de una glándula mamaria sana a la carga bacteriana de la leche puede calificarse de insignificante (IDF, 1981). El rango de bacterias en leche obtenida asépticamente fluctúa entre 100 a 1.000 ufc/ml (Edmonson y Williamson, 1995; Agüero, 1997; Forsythe y Hayes, 2002), no sobrepasando habitualmente las 150 ufc/ml (Kruze, 1997).

Por otra parte, la contribución de bacterias a la leche de las infecciones intramamarias subclínicas oscilaría habitualmente entre 300-4.000 ufc/ml (Gehriger, 1981); pudiendo llegar hasta 10.000 ufc/ml (IDF, 1981). Sin embargo, si se trata de un cuadro clínico, los recuentos aumentan notablemente y en

ocasiones pueden exceder de 10.000.000 ufc/ml (Hardy y Aceituno, 1995; Murphy y Boor, s.f.), citándose incluso valores del orden de 100.000.000 ufc/ml de leche (IDF, 1981; Bramley, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Philpot, 1995; Kruze, 1997).

La contribución relativa de los patógenos mamarios al recuento bacteriano total de la leche, se hace más notoria a medida que mejora la calidad bacteriológica. En relación a ello, se ha estimado que un 10% del recuento de bacterias en leche de estanque que excede de 20.000 bacterias/ml, correspondería a patógenos mamarios; cifra que disminuye a un 3% para recuentos >100.000 bacterias/ml (Bramley, 1992).

2.4.2. Cuerpo de la Vaca

La higiene de la ubre, flancos y región posterior representan una fuente de contaminación, cuyo efecto sobre la carga bacteriana de la leche depende principalmente del sistema productivo (pastoreo, confinamiento), higiene del ambiente de confinamiento, procedimiento de preparación para la ordeña, y manejos efectuados en la vaca destinados a disminuir la retención o adherencia del barro y material fecal en estas zonas del cuerpo (Agüero, 1997; Murphy y Boor, s.f.).

La contribución de los microorganismos procedentes de esta fuente al recuento total de la leche recién ordeñada, puede variar desde un valor inferior a 100 ufc/ml hasta varios miles de ufc/ml, dependiendo de lo exhaustiva que sea la preparación para la ordeña (ICMSF, 1980). Bajo condiciones corrientes de manejo, se registraría una contaminación bacteriana de la leche proveniente del cuerpo de la vaca, equivalente aproximadamente a 10.000 ufc/ml. Sin embargo, con un ambiente higiénico y una limpieza adecuada de los pezones, dicho aporte podría reducirse a 1.000 ufc/ml (Olson, 1962).

En un estudio efectuado en 27 predios por Morse *et al.* (1968a), orientado a estimar la contribución de las ubres (infecciones intramamarias y contaminación externa) a los recuentos bacterianos de la leche, se observó una gran variabilidad

en su aporte, como lo revelan los valores mínimo y máximo de recuento bacteriano total (690 y 15.500 ufc/ml, respectivamente), alcanzando el promedio a 3.200 ufc/ml. Según los autores, las diferencias en el recuento bacteriano total de la leche, reflejarían las variaciones existentes entre predios en la preparación de la vacas, pudiendo influir también en ello los distintos niveles de calidad higiénica de sus fuentes de agua.

Estos antecedentes destacan la importancia de realizar una preparación adecuada de las vacas, con el fin de disminuir la contribución de las bacterias presentes en la piel de la ubre y los pezones a la contaminación de la leche. Entre los procedimientos utilizados en la preparación, el más efectivo es el secado de los pezones, ya que en su ausencia, el lavado no mejora la calidad bacteriológica de la leche e incluso puede deteriorarla (Bramley, 1992).

En una serie de estudios en que se evaluó diversos procedimientos de preparación, se demostró que el uso de toallas individuales de papel desechables, después del lavado de los pezones con agua o con una solución sanitizante, o con posterioridad al predipping, disminuía significativamente los recuentos bacterianos totales en la leche y en la piel de los pezones, comprobándose paralelamente una reducción en la cantidad de sedimentos de la leche. Además, se demostró que el secado de los pezones disminuía la tasa de neoinfecciones mamarias (Galton *et al.*, 1984; 1986; 1988). Sin embargo, la práctica de secado manual de los pezones, podría no ser necesaria en rebaños con bajos recuentos bacterianos y de células somáticas, donde la incidencia de mastitis es muy baja (Galton, 1993).

Otros trabajos han corroborado la efectividad del secado de los pezones en la reducción del recuento bacteriano de la leche. En vacas confinadas durante el período invernal, el lavado y secado de los pezones previo a la ordeña disminuyó en un 40% el promedio geométrico del recuento total de bacterias, desde 9.290 ufc/ml a 5.560 ufc/ml (McKinnon *et al.*, 1990). En un estudio previo, la reducción del recuento bacteriano en leche fue mayor (80%), pero no se comprobó un efecto claro del secado de los pezones sobre el sedimento de la leche (McKinnon *et al.*, 1983).

Los resultados de algunas investigaciones realizadas en el país, en las cuales se han evaluado los procedimientos de ordeña utilizados en predios lecheros, sugieren la existencia de una relación entre bajos recuentos de bacterias totales en la leche y el lavado exclusivo de los pezones (Donnay, 1996), el lavado de pezones y secado con toallas de papel desechables (Locher, 2001) y el secado de los pezones con paño (Omeñaca, 2000).

Con respecto al efecto del secado de los pezones sobre el recuento de bacterias coliformes en la leche, se dispone de evidencia que esta práctica permitiría disminuir los niveles de contaminación de este tipo de bacterias (Edmonson y Williamson, 1995). Sin embargo, en algunas investigaciones no se ha observado un efecto del secado de los pezones sobre el recuento de coliformes de la leche (McKinnon *et al.*, 1990).

Por otra parte, los resultados de algunos estudios efectuados en predios de pequeños productores proveedores de CAL, demuestran en general deficiencias en la preparación de las vacas en lo referente al lavado y secado de los pezones, lo que podría explicar en parte los altos recuentos bacterianos de la leche. En 47 predios de 3 CAL de la Región Metropolitana, se comprobó que en la mayoría de ellos se evitaba mojar la ubre, circunscribiéndose el uso de agua al lavado de los pezones. Sin embargo, sólo en un 36,2% del total de casos en que se lavaba los pezones se efectuaba su secado posterior (Durandal, 2003). Vidal *et al.* (1997), también verificaron que en la mayoría de los predios de 5 CAL de la zona sur se efectuaba lavado de la ubre y en una proporción menor de los casos se secaban los pezones. En el estudio de Durandal (2003), se observó una realización correcta del secado de los pezones (uso de toalla de papel individual), sólo en un 10,6% de los casos; predominando el secado de pezones con toallas de género de uso colectivo, lo que también ha sido descrito en el 30% de los predios de pequeños productores de CAL de la IX Región (Carrillo *et al.*, 1997, citados por Carrillo y Vidal, 1999).

2.4.3. Medio Ambiente

Dentro del ambiente, el aire es un factor de poca importancia en relación al número de bacterias incorporadas a la leche (Bramley, 1992). Se ha demostrado que la carga bacteriana aportada por el aire a la leche fluctuaría entre 17-40 ufc/ml (Kruze, 1997), pero puede constituir una fuente de gérmenes resistentes, tales como bacterias esporuladas, capaces de deteriorar la calidad de los productos lácteos (Agüero, 1997; Kruze, 1997). De acuerdo a Cousins y Bramley (1981), las bacterias transmitidas por el aire a la leche podrían representar un valor <5 ufc/ml y los bacilos esporulados <1 ufc/ml.

El efecto del ambiente se ejerce principalmente por el contacto de la ubre y región posterior del animal con superficies contaminadas. Por esta razón, las vacas sometidas a confinamiento se encuentran expuestas a una mayor carga bacteriana proveniente del ambiente, en comparación a las vacas manejadas bajo condiciones de pastoreo. El material utilizado en las camas puede influenciar la cantidad y el tipo de microorganismos presentes en la piel de los pezones y la ubre, donde se incluyen las bacterias termodúricas y las psicrótrofas (McKinnon *et al.*, 1990; Kruze, 1997; Murphy y Boor, s.f.). Las diferencias entre sistemas productivos, se reflejan claramente en el recuento bacteriano en leche de estanque, cuando se ha reducido el aporte de los equipos como fuente de contaminación de la leche y optimizado su calidad bacteriológica (McKinnon *et al.*, 1990; Bramley, 1992).

En rebaños confinados, con leche de excelente calidad bacteriológica, el recuento en leche de estanque puede ser aproximadamente el doble (11.400 ufc/ml), con respecto al valor determinado en rebaños sometidos a pastoreo (4.600 ufc/ml); estableciéndose la diferencia fundamentalmente por la mayor contribución relativa de los pezones y la ubre a la carga bacteriana de la leche. A estos niveles de recuento bacteriano total (<20.000 ufc/ml), las bacterias contaminantes de la superficie de los pezones y los patógenos intramamarios, representan en conjunto alrededor del 50-60 % del recuento total, disminuyendo la importancia relativa de

los equipos de ordeña y de almacenamiento como fuente de contaminación de la leche (McKinnon *et al.*, 1990; Bramley, 1992).

2.4.4. Agua

El agua constituye un elemento básico para una ordeña higiénica, así como para los procesos de lavado e higienización de los equipos lecheros (Agüero, 1997). Un contenido elevado de bacterias en las fuentes de agua de las lecherías, contribuye a reducir la eficiencia de los procesos de higienización de los equipos de ordeña y a incrementar el riesgo de altos recuentos bacterianos en la leche (Pedraza, 1999).

El agua utilizada en los procesos de producción de leche, particularmente en el lavado de los pezones y equipos de ordeña, así como en los CAL, debe ser apta para el consumo humano; o sea, debería cumplir los requisitos para el agua potable (Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; Heimlich y Carrillo, 1995; Hamann, 1997). De acuerdo a la Norma Chilena de requisitos para agua potable (Chile-INN, 1984b), ésta debe estar exenta de coliformes fecales. La contaminación fecal del agua implica riesgo de presencia de patógenos para el hombre (Heimlich y Carrillo, 1995). Basado en normas y recomendaciones, Pedraza (1980; 1999) señala que el agua destinada al lavado de equipos mecánicos de ordeña, debería presentar recuentos bacterianos totales <100 ufc/ml y <2 coliformes/100 ml de agua, y estar libre de contaminación por coliformes fecales.

Algunos estudios efectuados en lecherías grandes ubicadas en distintas zonas del país, demuestran que la calidad higiénica del agua es insatisfactoria (Dumont, 1979; Agüero *et al.*, 1987; Peirano, 1991; Donnay, 1996), lo que podría estar asociado al tipo de fuente de agua, puesto que predominan las norias y los pozos profundos mal diseñados (Suazo, 1987; Bezama, 1991). Una situación similar existiría en cuanto al tipo de fuente de agua de los pequeños productores de CAL de la X Región (Vidal *et al.*, 1997).

Los análisis de muestras de agua de predios de la Región Metropolitana, demostraron que la mayoría no reunía las características bacteriológicas necesarias para cumplir apropiadamente las funciones de lavado e higienización de los equipos de ordeña, obteniéndose promedios de 1.145 ufc/ ml y 1.300 ufc/100 ml de agua, para los recuentos bacterianos totales y de coliformes totales, respectivamente; aislándose coliformes fecales en el 25% de las muestras (Dumont, 1979). En otro trabajo realizado en la misma región, se encontró promedios más elevados: 13.834 ufc/ml y 5.239 ufc/100 ml de agua, para el recuento bacteriano total y de coliformes totales, respectivamente (Agüero *et al.*, 1987). En 17 lecherías de nivel tecnológico alto en la provincia de Chillán, abastecidas mayoritariamente por agua de pozos, se determinaron valores aún más elevados para las bacterias mesófilas, cuyo recuento promedio alcanzó a 24.337 ufc/ml, pero el recuento de coliformes totales fue más bajo (160 ufc/100 ml), comparado con los estudios anteriores (Peirano, 1991). Donnay (1996), al analizar muestras de agua de 40 predios lecheros de la VIII Región, encontró un promedio mucho más elevado para el recuento de bacterias totales (6.800.000 ufc/ml), alcanzando a 409/100ml y 124/100ml los promedios de coliformes totales y fecales, respectivamente.

La situación de los productores de los CAL de la Región Metropolitana sería distinta a la recién descrita, dado que en un estudio que incluyó 3 de estos acopios (Durandal, 2003), se comprobó que la principal fuente de agua de los predios era la red potable (70,2%), la cual se asociaría a una buena calidad bacteriológica del agua. Ello se vería corroborado a través de los análisis de agua de 12 predios de los CAL de María Pinto, cuyos resultados indicaron que ésta era plenamente satisfactoria en todos los que contaban con agua potable. En el agua proveniente de norias se detectaron coliformes totales en todos los predios muestreados, en un rango de 33–920 ufc/100ml, evidenciándose coliformes fecales en 4 de 5 casos. Los recuentos de bacterias mesófilas fluctuaron entre 70 y 280 ufc/ml. Según la Norma INN NCh 409 Of 84, Agua Potable, Requisitos (Chile-INN, 1984b), esta agua debería ser clorada si se destina a consumo humano, práctica

que también sería recomendable para ser utilizada en labores de ordeña y lavado de equipos y tarros (Agüero *et al.*, 2000).

Por otra parte, el agua es considerada como una de las principales fuentes de microorganismos psicrótróficos de la leche cruda. De acuerdo a una investigación efectuada en el extranjero, el recuento de psicrótrofos del agua de predios lecheros fluctuó entre <10 y >100.000 ufc/ml, con promedios que variaron desde 10 hasta 560 ufc/ml, según la región incluida en el estudio (Morse *et al.*, 1968b). En predios lecheros de la zona central de Chile se obtuvo un promedio de 1.816 ufc/ml para el recuento de psicrótrofos de las fuentes de agua; calificándose como adecuadas un 36,7 u 80% de las muestras, al presentar recuentos <100 o <1.000 ufc/ml, respectivamente (Agüero *et al.*, 1987).

Un factor de riesgo para la calidad bacteriológica de la leche, es el mal drenaje de las aguas residuales después del lavado del equipo de ordeña y del estanque de almacenamiento, ya que ello podría favorecer el crecimiento de las bacterias presentes en el agua (Cousins y Bramley, 1981; Agüero, 1997; Reinemann *et al.*, 1997). Las aguas residuales pueden tener recuentos del orden de 10.000.000 ufc/ml, conteniendo una gran proporción de bacterias psicrótrofas (IDF, 1981). Al respecto, Von Bockelmann (1981) encontró que el crecimiento de bacterias psicrótrofas, en aguas residuales de los estanques de almacenamiento de leche, contribuye marcadamente a la contaminación cuantitativa de la leche. Por esta razón, en países donde es conocida la calidad bacteriológica insatisfactoria del agua, se recomienda realizar antes de la ordeña la sanitización de los equipos de ordeña y estanques (Cousins y Bramley, 1981). Además, mediante la cloración del agua pueden reducirse los recuentos de psicrótrofos elevados a valores del orden de 100 ufc/ml, pudiendo alcanzar hasta 10.000.000 ufc/ml cuando la frecuencia de cloración es baja (Cousin, 1982).

Aún cuando se reconoce que el agua de mala calidad higiénica puede contribuir a incrementar el recuento bacteriano de la leche, en la mayoría de los estudios que han abordado este tema no se ha podido demostrar claramente dicha relación, dado que la calidad del agua es sólo uno de los muchos factores que pueden

afectar el contenido bacteriano de la leche (Wrigley *et al.*, 2001), lo que probablemente también se vería influenciado por el bajo número de predios incluidos en algunas de estas investigaciones. Salmi y Ojala (1970), citados por Agüero *et al.* (1987), estudiaron 2.484 predios en Finlandia, encontrando una relación negativa entre la calidad bacteriológica de la leche, estimada mediante una prueba de reducción de colorantes, y la calidad de las fuentes de agua, evaluada en base al recuento de coliformes y *Streptococcus faecalis*. Dichos autores comprobaron que las fuentes de agua de los predios que producían leche clase A, tenían proporcionalmente más muestras con bajo número de bacterias indicadoras de la calidad, en comparación a aquellos donde la prueba de reducción indicaba defectos.

Analizando globalmente los resultados de sus investigaciones (27 y 48 predios), Morse *et al.* (1968 a; b) concluyen que ellos no denotarían una relación simple entre el recuento bacteriano total de la leche y el recuento de psicrótrofos del agua, pero sugieren la existencia de cierta relación con el recuento bacteriano total de las fuentes de agua de las lecherías. Los resultados obtenidos en un estudio realizado en la zona central del país (Agüero *et al.*, 1987), basados en 10 lecherías muestreadas en 3 oportunidades, tampoco permiten evidenciar claramente una contribución de la contaminación bacteriana del agua al recuento bacteriano de la leche, observándose sólo una correlación baja entre el recuento de psicrótrofas del agua y el recuento bacteriano total de la leche ($r=0,275$; $p \leq 0,001$). En otro estudio nacional efectuado en 17 predios, se comprobó que la asociación entre recuento de coliformes del agua y recuento bacteriano total en leche no fue significativa, mientras que el recuento de coliformes de la leche tendió a ser afectado por el contenido de coliformes del agua, pero esta tendencia no alcanzó significancia estadística. En cambio, el promedio de recuento bacteriano total en leche de los predios con agua de buena calidad higiénica fue menor, en comparación a los que tenían agua de mala calidad y la disponibilidad de agua potable se relacionó significativamente con un menor recuento de coliformes en leche (Peirano, 1991). Los resultados obtenidos por Donnay (1996) en 40 predios, demuestran una relación significativa entre los recuentos bacterianos totales del

agua y de la leche ($r=0,546$; $p<0,05$), pero no entre los recuentos de coliformes totales ($r=0,127$; $p>0,05$).

Además de la calidad higiénica del agua, deben conocerse sus características químicas, particularmente en lo referente a la concentración de algunas sales minerales que determinan su grado de dureza. La dureza del agua es un factor importante de considerar en la producción de leche de buena calidad, ya que hace disminuir la eficiencia de la limpieza de las máquinas ordeñadoras a detergentes que no incluyen agentes ablandadores en la proporción adecuada, y plantea ciertos requerimientos en cuanto a la frecuencia de uso de detergentes ácidos (Dumont, 1979; Pedraza, 1988; 1999).

El agua contiene normalmente cationes, aniones, sólidos disueltos y suspendidos, que en conjunto determinan la dureza total (MIF, 1957; Houbraquen y Pinto, 1974), la cual puede ser de tipo permanente o temporal, dependiendo del tipo de compuestos químicos. La dureza permanente se debe generalmente a la presencia de sales solubles: cloruros de calcio y magnesio, sulfato de calcio y magnesio, y nitratos. La dureza temporal obedece a la presencia de bicarbonato de calcio y magnesio, principalmente. Estas sales, por acción del calor y de los álcalis, interactúan con los sólidos de la leche y los componentes del detergente, produciendo precipitados y depósitos de piedra de leche (Houbraquen y Pinto, 1974). La composición de la piedra de leche es variable, pero siempre contiene una alta proporción de fosfato de calcio y proteínas (MIF, 1957). Su formación puede prevenirse en gran medida utilizando procedimientos adecuados de limpieza, donde se incluye un enjuague ácido después de cada ordeña y lavados periódicos del equipo con detergente ácido (Pedraza, 1980; 1988; Corbett, 1997; Hardy, 1999).

Existen escalas de dureza del agua según la concentración de sales minerales, aceptándose en general que niveles superiores a 200-300 ppm de carbonato de calcio y magnesio denotan aguas duras (Pedraza, 1988). De acuerdo a estudios efectuados en la zona central del país, las fuentes de agua de las lecherías se caracterizan por presentar elevados índices de dureza (Pedraza, 1999),

informándose un promedio de 748 ppm de CaCO_3 para 24 predios ubicados en dicha zona, lo que corresponde a aguas muy duras (Dumont, 1979). Las fuentes de agua de los predios de los CAL de María Pinto, también se caracterizan por presentar altos índices de dureza, dentro de un rango de valores 122,6 y 1.153 mg/l de CaCO_3 (Agüero *et al.*, 2000).

2.4.5. Equipos de Ordeña

La calidad bacteriológica de los alimentos es frecuentemente afectada por la contaminación microbiológica de la superficie de los equipos durante el almacenaje, transporte y manufactura. Las condiciones higiénicas de estas superficies se controlan por medio de la aplicación rutinaria de sistemas de limpieza, consistentes en un lavado e higienización de las mismas (Dunsmore, 1981). El principal objetivo de cualquier sistema de lavado e higienización de los equipos de ordeña, es reducir la contaminación bacteriana aportada por ellos a la leche (Rippes, 1982c).

La contribución de los equipos de ordeña al contenido bacteriano de la leche, depende de los procesos de limpieza e higienización a que son sometidos, los cuales suelen ser considerados fundamentales para la producción de leche de buena calidad (Morse, *et al.*, 1968b; Cousin, 1982; Butendieck, 1997; Murphy y Boor, s.f.), ya que una inadecuada limpieza y desinfección puede aumentar notablemente los recuentos bacterianos de la leche, e incrementar el riesgo de nuevas infecciones intramamarias provenientes de pezoneras contaminadas (Hamann, 1997). En general, los recuentos bacterianos totales de leche obtenida con utensilios lavados e higienizados adecuadamente, fluctúan entre 5.000 y 20.000 ufc/ml; mientras que descuidando dichas prácticas, alcanzan valores del orden de 100.000 a 300.000 ufc/ml, e incluso superiores a 500.000 ufc/ml (Gehriger, 1981). Recuentos $>1.000.000.000$ ufc/ml, derivan generalmente de la ordeña con equipos intensamente contaminados, constatándose en la mayoría de los casos un gran desarrollo de bacterias psicrotróficas (Cousin, 1982).

Fallas en la limpieza de los equipos de ordeña conducen a la formación de residuos de leche que se adhieren a la superficie de los mismos. Entre éstos se encuentran los residuos o films microbiológicos (biocapas o biofilms), que posibilitan la adhesión de un conjunto de microorganismos por medio de sustancias extracelulares a la superficie, favoreciendo con ello la multiplicación de bacterias contaminantes de la leche (McFeters *et al.*, 1984, citados por Ruiz, 2000; Schmidt, 1997; Ruiz, 2000). Dentro de estas bacterias se encuentran las bacterias termodúricas (Edmonson y Williamson, 1995), pseudomonas (Marriott, 1999; Ruiz, 2000), y patógenos como *Listeria spp.* (Charlon *et al.*, 1990, citados por Ruiz, 2000) y salmonelas (Marriott, 1999). Los biofilms se caracterizan por ser difíciles de remover, y generalmente requieren agentes de limpieza y sanitización con propiedades altamente oxidantes (Schmidt, 1997; FEPALE, 2001b). Las bacterias que parecen ser más difíciles de eliminar, por la protección brindada por la biocapa, son las pseudomonas y *L. monocytogenes* (Marriott, 1999). Los detergentes más efectivos para el desprendimiento de biofilms parecen ser los alcalino-clorados, seguidos de los alcalinos no clorados (Czechowski, 1991, citado por Ruiz, 2000). El ácido peracético es considerado como uno de los sanitizantes más efectivos contra los biofilms (Ecolab, 1996; Schmidt, 1997; Lager, 1998, Marriott, 1999, Ruiz, 2000).

De acuerdo a un estudio realizado por McKinnon *et al.* (1990) en 8 predios durante 1 año, el equipo de ordeña incrementó significativamente el recuento de bacterias totales de la leche, entre 2.000 y 3.000 ufc/ml, y el estanque de leche lo aumentó en 1.500 a 2.000 ufc/ml. Los recuentos de coliformes de la leche después de su paso por el equipo de ordeña también mostraron un aumento (entre 27 y 38 ufc/ml) y en su paso por el estanque de leche el incremento fue más del doble. Una alta proporción de la contaminación por coliformes en las muestras de leche de estanque (90%), provenía de la superficie de los equipos de ordeña y de almacenamiento, siendo el aporte de las vacas poco relevante.

Los resultados de un estudio realizado en 19 predios con equipos de ordeña de baldes, cuyo promedio de recuento bacteriano total en la leche era de

aproximadamente 2.000.000 ufc/ml, probablemente debido a deficiencias en el lavado y/o mal estado de conservación de sus elementos, permiten estimar el aporte de bacterias a la leche proveniente de distintos componentes del equipo. Al ordeñar con un equipo nuevo (equipo control), el recuento bacteriano disminuyó a 16.100 ufc/ml, lo que corrobora la importancia de los equipos de ordeña como fuente de contaminación de la leche. Cuando se utilizó equipo control + pezoneras de los predios, equipo control + colectores de los predios, equipo control + mangueras de leche de los predios y equipo control + baldes de los predios, los promedios de recuento bacteriano total de la leche fueron 922.000, 244.000, 354.000 y 266.000 ufc/ml, respectivamente. Ello demuestra que el mayor aporte de bacterias a la leche corresponde a las pezoneras, contribuyendo también de manera importante la contaminación proveniente de las mangueras de leche (Alfa Laval Agri, s.f.). Estos resultados son consistentes con lo informado por Thomas y Thomas (1977), citados por Cousin (1982), quienes señalan que los elementos de goma de los equipos de ordeña tienen niveles de contaminación 10 a 117 veces mayores, en comparación a los componentes metálicos.

Por otra parte, las condiciones de mantención de los equipos pueden afectar su lavado e higienización. Al respecto, en el país se ha comprobado un problema generalizado de sobreutilización de pezoneras (Santa Cruz, 1983; Bezama, 1991), lo cual puede afectar la eficiencia de ambos procesos, contribuyendo a aumentar la carga bacteriana de la leche (Hardy, 1997). A medida que envejecen, la superficie interna de las pezoneras se hace rugosa, lo que dificulta su limpieza. Se ha demostrado que el número de bacterias que sobreviven al lavado y sanitización de la máquina de ordeña depende de la edad y rugosidad de las pezoneras, comprobándose un aumento notable en el nivel de contaminación de las pezoneras utilizadas durante el doble del período recomendable (Alfa Laval Agri, 1996; Alfa Laval Agri, s.f.). Ello podría traducirse en un incremento de los recuentos bacterianos en la leche, lo que ha sido descrito por Hogan *et al.* (1988), quienes encontraron correlaciones significativas entre el aumento de la vida de servicio de las pezoneras, con el recuento bacteriano total y con el recuento de estafilococos de la leche.

De acuerdo a Hardy (1997), otro factor que en Chile incide negativamente en la limpieza de los equipos de ordeña, es la utilización de soluciones detergentes a temperaturas inferiores a las recomendadas. Esta deficiencia se observó en aproximadamente el 50% de 34 predios con ordeña mecánica de 3 CAL de la zona central, ya sea porque no disponían de agua caliente en el lugar de ordeña o el nivel de temperatura de la solución detergente era insuficiente para lavar adecuadamente los equipos. Además, en muy pocos predios se efectuaba un escobillado de los tarros (17,4%) y las pezoneras (12%), encontrándose aún menos difundido el escobillado de los colectores (4%) y las mangueras de leche (4%); procedimientos fundamentales para remover completamente los residuos lácteos en los sistema de lavado manual de equipos de ordeña. La omisión de la higienización de los equipos y tarros, fue la deficiencia más frecuente de las rutinas de lavado utilizadas por estos productores, puesto que se verificó sólo en el 5,9% de los casos (Durandal, 2003).

En el estudio recién citado, se comprobó que ningún equipo de ordeña era sometido a una rutina de lavado correcta, detectándose fallas en una o más etapas del ciclo de lavado, lo que resulta crítico para la obtención de leche de buena calidad bacteriológica. En un trabajo efectuado en la zona sur del país, también se describen diversas fallas en el lavado e higienización de los equipos de ordeña de los productores de CAL, comprobándose la aplicación de una rutina de lavado apropiada sólo en el 14% de los casos (Carrillo *et al.*, 1997, citados por Carrillo y Vidal, 1999).

Las deficiencias encontradas en ambos estudios en los procedimientos de lavado, sugieren que los equipos de ordeña de los pequeños productores de los CAL constituirían un factor de contaminación de la leche de primera importancia. A estas deficiencias, se agregarían el regular estado de conservación de los componentes de goma de la unidad de ordeña, que refleja la escasa mantención a que son sometidos los equipos, comprobándose también sobreutilización de las pezoneras en una proporción importante de casos (Carrillo *et al.*, 1997, citados por Carrillo y Vidal, 1999; Durandal, 2003).

2.4.6. Tarros Lecheros

En el caso de los pequeños productores, los tarros lecheros constituyen parte de la mayoría de los equipos de ordeña. Ello reviste importancia, si se tiene en cuenta que estos elementos presentan dificultades para lograr una buena higienización. En un estudio efectuado en plantas lecheras de la zona sur, se comprobó que de 221 tarros examinados sólo 60 tenían recuentos ≤ 50.000 ufc/tarro, considerándose dicho valor como máximo aceptable; 31 presentaban recuentos $> 50.000-250.000$ ufc/tarro y 130 más de 250.000 ufc/tarro (Bidegain, 1976). De ello se desprende que sólo el 27,1% del total de tarros presentaba condiciones higiénicas satisfactorias. Además, se pudo determinar que un 13,5% del total de las muestras de enjuague de tarros eran positivas a la prueba presuntiva de coliformes.

Los recuentos bacterianos elevados en los tarros lecheros plantean un riesgo de contaminación para la leche, lo que es particularmente importante en el caso de los pequeños productores de los CAL, cuyos equipos de ordeña corresponden mayoritariamente a equipos con ordeña directa a tarros (Durandal, 2003). Entre los factores que podrían contribuir a un alto nivel de contaminación de los tarros lecheros, pueden mencionarse deficiencias en su lavado e higienización, incluyendo un estilado o drenaje insuficiente del agua residual del enjuague final, y el mal estado de conservación de los tarros.

De la revisión bibliográfica efectuada por Jarpa (1979), se desprende que los factores que contribuirían a disminuir la contaminación de los tarros lecheros, cuando éstos son lavados y sanitizados en las plantas lecheras o CAL, son la higienización adicional de éstos con hipoclorito de sodio en el predio y su mantención en estado libre de humedad. En el caso de efectuarse a nivel predial el lavado de los tarros que forman parte del equipo de ordeña y los empleados para el transporte de la leche, situación que ocurre habitualmente en los CAL de la zona central, se han detectado diversas fallas en los procedimientos utilizados, encontrándose insuficientemente difundidos el lavado de los tarros con agua caliente y detergente alcalino clorado, el escobillado y la sanitización (Durandal,

2003), lo que no permitiría remover adecuadamente los residuos lácteos y prevenir la contaminación bacteriana de la leche aportada por los tarros. Además, de acuerdo a un diagnóstico de los centros de acopio de María Pinto (Agüero *et al.*, 2000), la mayor parte de los productores emplea tarros lecheros de aluminio, encontrándose alrededor del 80% en regular estado, lo cual representa un factor de riesgo de deterioro de la calidad bacteriológica de la leche, puesto que la presencia de grietas en su superficie dificultaría un lavado e higienización eficientes, problema que también parece ser frecuente en los CAL de la zona sur (Carrillo y Vidal, 1999).

2.4.7. Almacenamiento

Las condiciones de almacenamiento de la leche en el predio y su posterior transporte a la planta lechera, son de primordial importancia para la obtención de una materia prima de óptima calidad microbiológica, química y enzimática (Romero,1995). Los principales factores que influyen en la multiplicación bacteriana de la leche almacenada en el predio, antes de su transporte a la planta, son la temperatura, el tiempo, el nivel de contaminación inicial de la leche, el tipo de bacterias predominantes y, en menor grado, los sistemas inhibitorios de la leche que impiden la proliferación bacteriana durante las primeras horas de almacenamiento. Entre éstos, se reconoce en general que el factor que afecta mayormente el crecimiento bacteriano es la temperatura (Cousins y Bramley,1891; Gehriger, 1981; Alais, 1985; Romero, 1995; Kruze, 1997).

La temperatura de almacenamiento de la leche ejerce una influencia fundamental en la proliferación bacteriana, capacidad de conservación de la leche y el tipo de bacteria predominante en la leche (Ramírez, 1980; Agüero, 1997). El efecto de la temperatura antes del procesamiento de la leche, es particularmente importante en lo referente al tiempo en que los productos lácteos mantienen inalteradas su calidad y características organolépticas. Así, se ha demostrado que leche almacenada a 21-27°C presentó una duración de sólo 12 horas, mientras que la leche almacenada a temperaturas apenas sobre el punto de congelación tuvo una

duración de 15 a 24 días. Otros antecedentes indican que la duración de la leche pasteurizada disminuye en un 50%, por cada 2,8°C de aumento en la temperatura de almacenamiento sobre 1,6°C (Philpot,1999).

La leche tibia constituye un verdadero medio de cultivo para las bacterias, las cuales muestran grandes tasas de incremento en leche mantenida por 12 horas a temperatura ambiente. Durante dicho período, el recuento bacteriano total inicial puede llegar a aumentar 5 veces (10°C), 15 veces (17°C), 700 veces (21°C) y 3.000 veces (27°C), (Philpot, 1995). En leche con un recuento total inicial de 9.000 ufc/ml, almacenada a dos niveles de temperatura ambiente elevada, los recuentos alcanzaron al cabo de 3 horas a 18.000 ufc/ml (25°C) y 30.000 ufc/ml (35°C), incrementándose a las 6 horas a 172.000 ufc/ml (25°C) y 12.000.000 ufc/ml (35°C), para llegar a las 24 horas a 57.000.000 ufc/ml (25°C) y 800.000.000 ufc/ml (35°C), (Ramírez, 1980).

Los resultados de otro estudio permiten ilustrar la influencia que ejerce el nivel inicial de contaminación de la leche sobre el crecimiento bacteriano, durante 24 horas de almacenamiento, a temperaturas de 10 y 16°C. En leche con un recuento inicial de 4.300 ufc/ml, los recuentos alcanzaron a 14.000 ufc/ml y 1.600.000 ufc/ml, respectivamente. Al aumentar el recuento inicial (40.000 ufc/ml), el incremento de recuento bacteriano total se hizo más evidente: 180.000 ufc/ml (10°C) y 4.500.000 ufc/ml (16°C); mientras que en leche con un recuento inicial más elevado (140.000 ufc/ml), los valores de recuento a las 24 horas aumentaron a 1.200.000 ufc/ml (10°C) y 14.000.000 ufc/ml (16°C), (FAO, 1981a; b; Romero, 1995).

El almacenamiento refrigerado de la leche permite disminuir las tasas de multiplicación bacteriana, al fijar la temperatura por debajo del óptimo establecido para la proliferación bacteriana, bloqueando la actividad de las bacterias y retrasando la degradación de los componentes propios de los alimentos (Vega, 2003). De esta forma, es posible conservar la calidad de la leche, pero no mejorar la calidad bacteriológica inicial, dado que la refrigeración sólo inhibe el desarrollo bacteriano en la leche y su efecto depende del nivel de contaminación inicial, así

como de la duración del período de almacenamiento. En leche de buena calidad (4.300 ufc/ml), mantenida por 24 y 48 horas a temperatura de refrigeración (4,5°C), se alcanzan valores de recuento total que no denotan crecimiento bacteriano: 4.100 y 4.500 ufc/ml, respectivamente. Sin embargo, con un recuento inicial de 40.000 ufc/ml, se registra crecimiento bacteriano, alcanzando los valores de recuento a 88.000 y 127.000 ufc/ml, respectivamente. Para un recuento inicial de 140.000 ufc/ml, los recuentos finales de ambos períodos aumentan a 280.000 y 540.000 ufc/ml, respectivamente (FAO, 1981a; b; Romero, 1995).

A partir de lo anterior, se desprende que al aumentar la temperatura de almacenamiento de la leche, se registra un incremento notable en las tasas de crecimiento bacteriano, lo que estaría determinado principalmente por la multiplicación de bacterias de tipo mesofílico, causantes habituales de la acidificación de la leche (Kruze, 1997). La multiplicación de las bacterias mesófilas, aumenta rápidamente cuando la temperatura de almacenamiento de la leche es $>15^{\circ}\text{C}$ (Gehriger, 1981) y se hacen francamente predominantes a temperaturas del orden de $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ (Cousins y Bramley, 1981). Ello se relaciona con el tiempo de generación de este tipo de bacterias, estimándose que en leche almacenada a $4,5^{\circ}\text{C}$ éste correspondería a 36 horas; en tanto que a temperaturas de 10, 21 y 35°C , alcanzaría a 18, 15 y 0,5 horas; respectivamente (Kruze, 1997).

Si bien los antecedentes expuestos demuestran que el recuento bacteriano de la leche al término de un período de almacenamiento determinado, depende del nivel de contaminación inicial, éste no puede ser predicho a partir de su recuento bacteriano inicial, ya que en el caso del almacenamiento refrigerado se ha observado un rango amplio de respuestas al almacenamiento, pudiendo algunas muestras exhibir cambios leves después de 4 días y otras incrementos de 4 a 8 veces al cabo de sólo 2 días. En algunas investigaciones realizadas en el extranjero, se han encontrado diferencias acentuadas entre muestras de leche con un nivel de contaminación inicial similar y que incluso denotarían tasas de crecimiento más elevadas, en aquellas con un recuento más bajo al comienzo del período de almacenamiento refrigerado (Cousins y Bramley, 1981). En un estudio

nacional, en el cual se encontró una correlación elevada entre el recuento bacteriano total inicial y final ($r=0,86$; $p\leq 0,001$), después de 36 horas de almacenamiento de la leche en estanques prediales, también se observó diferencias importantes entre muestras en la magnitud de los incrementos de los recuentos durante dicho período (Suazo, 1987).

En relación a lo anterior, debe tenerse presente que la evolución del recuento bacteriano total de la leche durante el almacenamiento puede verse afectada por el tipo de bacterias predominantes, puesto que existen grandes variaciones entre predios en la microflora inicial de la leche de estanque (Cousins y Bramley, 1981). En términos generales, al incrementarse el tiempo de almacenamiento refrigerado de la leche, dependiendo del nivel de recuento inicial y del tipo de flora psicrotrofica predominante, puede ocurrir un aumento importante en las tasas de crecimiento de este grupo bacteriano. Si bien el almacenamiento refrigerado mejora la capacidad de conservación de la leche al reducir la multiplicación y actividad bacteriana, las bacterias psicrótrofas pueden mantenerse activas y proliferar a 7°C o menos, llegando eventualmente a experimentar un alza notable (Cousin, 1982; Romero, 1995). Se acepta que en la medida que aumenta la multiplicación bacteriana en leche refrigerada, después de 2 a 4 días se registra un incremento en la microflora psicrotrofica, y el recuento de psicrótrofos puede llegar a representar el 100% del recuento bacteriano total (Cousins y Bramley, 1981; Gehriger, 1981, Kruze, 1997).

Aún cuando se multiplican a 7°C o menos, el crecimiento de los psicrótrofos es más evidente a temperaturas mayores a las de refrigeración, ya que la temperatura óptima de crecimiento de la mayoría de estos microorganismos es del orden de $20-30^{\circ}\text{C}$ (Cousin, 1982). De acuerdo a otros antecedentes, la temperatura óptima de crecimiento de los psicrótrofos (psicrótrofos psicrófilicos) es $<20^{\circ}\text{C}$, mientras que la temperatura óptima de los psicrótrofos-mesófilicos quedaría comprendida en un rango de $20-40^{\circ}\text{C}$ (Gehriger, 1981). Las variaciones en las tasas de crecimiento de los psicrótrofos, reflejan los cambios que

experimentan los tiempos de generación de estas bacterias a distintos niveles de temperatura de almacenamiento de la leche.

Así, se ha estimado que el tiempo de generación de las bacterias psicrótrofas en leche almacenada a temperaturas de 2,2; 4,5; 10; 21 y 35°C, correspondería a 24; 12; 5; 1,5 y 0,5 horas, respectivamente (Kruze, 1997). Por esta razón, idealmente, la leche debe ser almacenada bajo 3,5°C; puesto que a estas temperaturas las bacteria psicrótrofas tienen el doble de tiempo de generación que a 7°C (Richter, 1992). Esto significa que la población de psicrótrofas se duplica con la mitad de la velocidad a una temperatura de almacenamiento <3,5°C; en comparación a 7°C. Ello explica que los psicrótrofos presenten un crecimiento moderado en leche almacenada a 2-3°C, mientras que a 7°C éste puede ser bastante rápido (Thomas y Druce, 1971). De acuerdo a otros antecedentes, el tiempo de generación de las psicrótrofas alcanzaría en promedio a 14 y 8 horas, en leche refrigerada a 1 y 4°C, respectivamente (Romero, 1995).

Con respecto a los coliformes, éstos representan una baja proporción del recuento bacteriano total (aproximadamente 1%), al comienzo del almacenamiento en leche refrigerada durante 2 o 3 días (Gehriger, 1981), y según estudios nacionales (Godoy, 1985; Suazo, 1987) y extranjeros (Thomas y Druce, 1971), no experimentarían mayor crecimiento durante los primeros 2 días de almacenamiento refrigerado de la leche; aún cuando en uno de estos trabajos se observó altas tasas de crecimiento de los coliformes en un bajo porcentaje de muestras (Suazo, 1987). Algunas especies de coliformes tienen características psicrótróficas y pueden constituir entre el 10 y 30% de la microflora en leche almacenada a 5-7°C (Cousins y Bramley, 1981).

En cambio, los coliformes pueden contribuir de manera importante al recuento bacteriano total de la leche almacenada a temperatura ambiente, ya que se hacen predominantes cuando ésta alcanza a 25-30°C, provocando eventualmente acidificación de la leche (Cousins y Bramley, 1981). En leches no refrigeradas, los coliformes se duplican cada 20 minutos, estimándose que bajo condiciones

favorables, el recuento de coliformes puede llegar a 17.000.000 ufc/ml después de sólo 8 horas de almacenamiento de la leche (Edmoson y Williamson, 1995).

En el caso de los CAL, el almacenamiento predial puede afectar de manera importante la tasa de multiplicación microbiana, dependiendo del tiempo que la leche queda expuesta a la temperatura ambiente, pudiendo también incidir en ello el tipo de envase utilizado para almacenar la leche. La mayoría de los pequeños productores almacena la leche a temperatura ambiente, condición que favorece la proliferación bacteriana, particularmente cuando se hace un manejo inadecuado de los tarros y el tiempo de almacenamiento es excesivo, situaciones comunes de observar en CAL de la zona sur (Carrillo y Vidal, 1999).

La exposición de los tarros a los efectos directos de la radiación solar y la temperatura ambiente constituiría un problema relativamente frecuente en los centros de acopio de la zona sur, que puede incidir negativamente sobre la calidad bacteriológica de la leche. Además, en algunos casos, se utilizan envases de material plástico, que implicarían un mayor riesgo de deterioro de la calidad bacteriológica de la leche en comparación a los tarros de aluminio (Carrillo, 1997).

En los CAL de la Región Metropolitana, el almacenamiento de la leche se realiza principalmente en tarros de aluminio, comprobándose en una baja proporción de casos la utilización de elementos de material plástico de menor capacidad, que constituyen el único medio de almacenamiento y transporte de la leche, o se emplean complementariamente a los tarros lecheros (Durandal, 2003). Cabe señalar que alrededor del 80% de los tarros de los CAL de María Pinto se encuentran en regular estado de conservación (Agüero *et al.*, 2000), representando un factor de riesgo de deterioro en la calidad bacteriológica de la leche, puesto que son difíciles de lavar e higienizar eficientemente; problema que también parece ser frecuente en CAL de la zona sur (Carrillo y Vidal, 1999).

El almacenamiento de la leche en los CAL de la Región Metropolitana se realiza mayoritariamente en la sala de ordeña y en otras áreas techadas, exceptuando un CAL donde predomina el almacenamiento a la intemperie (Durandal, 2003),

resultado que se compara favorablemente con la situación que existiría en otros CAL. Así, Carrillo *et al.* (1997), citados por Carrillos y Vidal (1999), constataron el almacenamiento de la leche en tarros sin sombras y/o retirados a destiempo en un 83% de los productores de 3 CAL de la IX Región, logrando reducir posteriormente dicho valor a un 42%.

Los tiempos determinados en 2 de los 3 CAL estudiados por Durandal (2003), tanto para el almacenamiento de la mañana como de la tarde, resultarían convenientes para la preservación de la calidad bacteriológica de la leche, dado que ambos acopios se caracterizaban por presentar períodos breves de almacenamiento, con promedios del orden de 10 a 20 minutos, comprobándose además que en algunos casos los productores realizaban el transporte de la leche al acopio apenas terminaba la ordeña. En el otro acopio, debido al distinto sistema de recolección de leche utilizado, el período de almacenamiento durante la mañana fue mayor, pero en promedio no superó 1 hora de duración. Considerando que el tiempo promedio de transporte desde los predios hasta este acopio alcanzó aproximadamente a 1 hora, la leche obtenida en la ordeña de la mañana quedaría expuesta a los efectos de la temperatura ambiente durante unas 2 horas, lapso que coincide con el período bacteriostático de la leche. En este mismo acopio, 3 de sus 24 proveedores ordeñaban durante la tarde, almacenándose la leche hasta la mañana siguiente para su recolección, lo que determinaba un tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente del orden de las 15 horas, generando un factor de riesgo de deterioro de la calidad bacteriológica de la leche.

2.4.8. Transporte

El transporte de la leche cruda es un proceso de gran importancia para la industria lechera, por la influencia que puede ejercer en la calidad de la leche entregada a la fábrica, los costos que involucra y la inversión que representan los materiales y equipos de transporte (Dirven y Ortega, 2001). Las fallas que ocurran durante el transporte, no sólo pueden anular los logros obtenidos en el mejoramiento de la

calidad bacteriológica de la leche a nivel predial, sino que incluso pueden contribuir a incrementar notablemente la carga microbiana con que la leche es recepcionada en la planta (Agüero, 1997).

Hasta hace algunos años, esta etapa fue quizás una de las más críticas en el manejo de la leche cruda, al existir una variedad de situaciones potenciales de deterioro de la calidad bacteriológica, derivadas del almacenamiento y transporte de la leche en tarros, donde la temperatura ambiente favorece la proliferación bacteriana, situación en que es necesario considerar la recolección como una carrera contra el tiempo, lo cual significa que la duración de los recorridos debe ser lo más corta posible y durante el verano realizar la recolección temprano en la mañana antes de las horas de mayor calor (Romero, 1995). Ello puede hacer necesario también recolectar la leche 2 veces al día, con lo cual aumentan los costos de transporte (Von Baer *et al.*, 1976).

La leche no refrigerada, transportada en tarros, presenta rápidamente problemas de calidad bacteriológica, dado que es imposible mantener una temperatura que prevenga el crecimiento bacteriano; en tal situación, predominan las bacterias mesófilas que degradan la lactosa y la convierten en ácido láctico, lo cual puede causar acidificación de la leche (Philpot, 1999). A temperaturas superiores a 25°C, la leche puede acidificarse después de 6 horas (Cousins y Bramley, 1981). Además del efecto de la temperatura sobre las tasas de crecimiento de las bacterias, los tarros pueden constituir una fuente de contaminación bacteriana de la leche (Bidegain, 1976).

Aún cuando las industrias lecheras nacionales realizaron un esfuerzo por optimizar los factores involucrados en el transporte de leche en tarros, dichas acciones no permitieron que la leche se ajustara a nuevos estándares de calidad, razón por la cual la estrategia desarrollada para mejorar significativamente la calidad bacteriológica de la leche se orientó hacia la instalación masiva de estanques prediales (Agüero, 1997), alcanzándose cifras mayores al 70% de leche refrigerada respecto al volumen total recepcionado por las grandes industrias durante la década de 1990 (Kruze, 1998).

No obstante, durante una primera etapa, no se prestó la debida atención al transporte de la leche refrigerada, utilizándose preferentemente camiones con estanques de fibra de vidrio, en lugar de estanques de acero inoxidable (Agüero, 1997). La presencia de poros en los estanques de fibra dificulta un lavado adecuado de éstos (Dirven y Ortega, 2001), lo cual probablemente contribuye a explicar los resultados de investigaciones efectuadas en la zona sur y central de Chile, los cuales demuestran un aumento notorio en los valores de recuento bacteriano durante el transporte, particularmente de las bacterias psicrótrofas; lo que además destaca la importancia que reviste un adecuado lavado e higienización de los camiones cisterna (Romero, 1995).

Los recuentos de bacterias mesófilas de las muestras de leche de la X Región, tomadas en los estanques prediales, alcanzaron en promedio a 1.800.000 ufc/ml y el promedio correspondiente a las obtenidas desde el camión cisterna al llegar a la planta fue 8.200.000 ufc/ml. Los recuentos de psicrótrofas fueron 120.000 ufc/ml (estanque predial) y 860.000 ufc/ml (camión cisterna). Los valores de recuento de psicrótrofos para las muestras de la zona central (RM, V y VI Región), fueron 2.900.000 ufc/ml (estanque predial) y 48.000.000 ufc/ml (camión cisterna). Los recuentos de bacterias mesófilas alcanzaron a 510.000.000 ufc/ml (estanque predial) y 950.000.000 ufc/ml (camión cisterna), (Romero, 1995).

En la literatura nacional no se encontró antecedentes referentes a la importancia que tendrían los camiones cisterna de acero inoxidable, como fuente de contaminación y proliferación bacteriana. Sin embargo, su efecto probablemente es poco relevante en comparación a los camiones cisterna de fibra, atendiendo al mejoramiento notable que ha experimentado la calidad bacteriológica de la leche en años recientes (Kruze, 2000), período que coincide con el reemplazo de los camiones cisterna de fibra por camiones cisterna de acero inoxidable.

Los problemas de contaminación y proliferación bacteriana, descritos para el transporte de leche en tarros, estarían aún presentes en los CAL, donde la recolección interna de los proveedores se efectúa en tarros, quedando la leche expuesta a los efectos que ejercen tanto la temperatura ambiente, como un lavado

inadecuado de los tarros, sobre la proliferación y contaminación bacteriana (Agüero, 1997).

Bajo estas condiciones y compatibilizando diversos antecedentes aportados por Romero (1995), la posibilidad de entregar al CAL leche con un recuento aceptable, dependería en gran medida de lograr un bajo nivel de contaminación inicial y un rápido transporte. Con ello no sólo se lograría disminuir la influencia que ejerce la temperatura ambiente, sino que además se aprovecharía el efecto bacteriostático de la leche. Durante dicho período, las bacterias se multiplican lentamente debido a la acción de inhibidores naturales de la leche, como lacteninas y otras sustancias contenidas en la leche (Bidegain, 1972; Agüero, 1997).

La duración del período bacteriostático puede variar ampliamente, dependiendo del nivel de contaminación inicial de la leche y de la temperatura. En leche poco contaminada, la multiplicación bacteriana se ve retardada durante 2 a 3 horas aún a una temperatura de 30°C, aumentando dicho período al disminuir la temperatura de almacenamiento (Cousins y Bramley, 1981). De acuerdo a otros antecedentes, en leche de buena calidad bacteriológica, a una temperatura de 37°C, el poder bacteriostático se mantiene frecuentemente alrededor de 4 a 6 horas (FAO, 1981a; b).

La duración de esta fase de inhibición o de estabilidad bacteriológica es muy variable, desde 10 a 15 horas para leche con recuentos <1.000 ufc/ml conservada a 20°C, a no más de 2 a 3 horas en leche con mayores recuentos de bacterias (Bidegain, 1972). Bajo condiciones de almacenamiento y transporte a temperatura ambiente, su duración depende en último término de la contaminación inicial de la leche; si la contaminación inicial es baja (1.000-10.000 ufc/ml), el período de protección se extiende por aproximadamente 10 horas; en tanto que en leche con altos recuento iniciales (100.000-1.000.000 ufc/ml), el período de inhibición bacteriana disminuye a menos de 3 horas (Ramírez, 1980).

En los CAL de la zona sur, la recolección interna y transporte de la leche generalmente no es responsabilidad de cada productor, sino de los acopios,

efectuándose frecuentemente en camiones que realizan largos recorridos, debido a que los CAL están integrados por un número elevado de proveedores, algunos de los cuales se ubican a grandes distancias del acopio (Vidal *et al.*, 1997; Carrillo y Vidal, 1999).

En el estudio de 3 CAL de la Región Metropolitana, se comprobó que en 2 de ellos se realizaban diariamente dos procesos de recolección interna de la leche, uno para la ordeña de la mañana y otra para la de la tarde, siendo ambos responsabilidad de los mismos productores. En cambio, en el otro CAL la leche se recolectaba sólo durante la mañana, dado que la mayoría de los productores ordeñaba una vez al día (87,5%); efectuándose dicho proceso mediante un camión con un estanque de fibra de propiedad del acopio (Durandal, 2003).

Lo anterior difiere de la situación que existiría en los CAL de la zona sur, atendiendo a los resultados de un estudio efectuado en la X Región, donde se observó que en el período de primavera-verano, la mayoría de los CAL retiraba la leche 2 veces al día (62%). Sin embargo, durante el otoño-invierno la tendencia mayoritaria (68%), era efectuar una recolección diaria (Vidal *et al.*, 1997). Lerdón *et al.* (1996; 1998), citados por Carrillo y Vidal (1999), mencionan entre otros, como factor limitante para mejorar la calidad bacteriológica, la eliminación de los recorridos de la tarde para el transporte de leche predio-CAL; lo que se agrava por el retiro de la leche por parte del camión cisterna de la planta día por medio.

Con respecto a la distancia entre los predios y el acopio, y la duración de la recolección, Durandal (2003) obtuvo promedios de 326 y 1.196 metros para 2 de los 3 CAL estudiados; cercanía que junto a los medios de transporte predominantes (vehículos motorizados y con tracción animal), se reflejó en tiempos de transporte muy breves, alcanzando los promedios a 5 y 11 minutos, respectivamente. Los predios del otro CAL se encuentran a una mayor distancia del acopio (3 km), lo que sumado al sistema de transporte utilizado (camión cisterna del acopio), determina que la duración de la recolección de la leche alcance un promedio cercano a 1 hora.

Los resultados obtenidos para la distancia predios-CAL por Durandal (2003), contrastan con los encontrados en un estudio realizado en 5 CAL de la X Región, donde se estimó el área de influencia de los CAL en base a las distancias máximas de los predios respecto a cada acopio. Estas alcanzaron valores comprendidos en un rango de 6,5 a 22 km, calificándose como áreas dispersas o de grandes recorridos para el camión recolector, aquella con predios ubicados a una distancia máxima ≥ 16 km (Vidal *et al.*, 1997). Con respecto al tiempo de transporte, los resultados de Durandal (2003) reflejan la rapidez con que los productores de los CAL de la Región Metropolitana transportan la leche hasta los acopios, lo que constituiría un factor positivo para prevenir el incremento del recuento bacteriano de la leche, al reducirse la influencia de la temperatura ambiente sobre el crecimiento bacteriano y aprovecharse el período bacteriostático de la leche.

Sin embargo, los resultados de un estudio efectuado en un CAL de Melipilla, que incluyó un total de 10 productores, sugieren que podría registrarse un aumento en el contenido bacteriano de la leche entre el término de la ordeña y la recepción en el acopio, pese a que estos tiempos fueron relativamente cortos, fluctuando entre productores desde aproximadamente 1 minuto hasta 2 horas. Estos aumentos se verificaron en los 4 parámetros microbiológicos evaluados (recuento de aerobios mesófilos, recuento de coliformes totales, recuento de coliforme fecales y recuento de *S. aureus*) y afectaron a todos los productores estudiados (Omeñaca, 2000).

2.4.9. Ordeñadores

Los ordeñadores pueden constituir una fuente de contaminación de la leche con microorganismos patógenos para el hombre (Agüero, 1997; Butendieck, 1997), principalmente a partir de la piel y vías respiratorias. Entre éstos, cabe destacar *Staphylococcus aureus* y algunas especies de salmonelas que provocan enfermedades alimentarias, tales como fiebre tifoidea, salmonelosis y otras infecciones entéricas (ICMSF, 1980; FAO, 1981b; Butendieck, 1997; Marriott, 1999).

Además, los ordeñadores pueden contribuir a aumentar la carga bacteriana de la leche, debido a una preparación incorrecta de las vacas para la ordeña y/o una rutina de ordeña con deficiencias en la higiene, en la que se incluyan prácticas tales como el lavado de las manos con los primeros chorros de leche en el caso de ordeña manual; contacto de las pezoneras con el piso antes del inicio de la ordeña; no lavado de las pezoneras cuando éstas se caen durante la ordeña, contacto de manos sucias con los pezones, o con la superficie del interior de los tarros o componentes del equipo (Agüero, 1997; Kruze, 1997).

En general, esta fuente de contaminación de la leche adquiere mayor relevancia en la ordeña manual, por lo que el lavado y secado de las manos del ordeñador es considerado un punto crítico para mejorar la higiene de la ordeña (Blanlot, 1999). Las manos pueden ser un factor importante no sólo de contaminación de la leche, sino también de contagio de patógenos mamarios (Carrillo, 1997; Blanlot, 1999; Philpot, 1999).

Debido a que la interacción entre los ordeñadores y las vacas tiene gran influencia tanto en la producción como en la calidad de la leche, así como en el bienestar de los animales, es fundamental capacitar e incentivar a los ordeñadores para garantizar una ordeña en condiciones higiénicas satisfactorias (Agüero, 1997; Blanlot, 1997; Hamann, 1997; Blanlot, 1999). En particular, debería prestarse atención a aspectos tales como uso de una indumentaria adecuada, lavado de las manos antes y durante la ordeña, evitar el contacto de las manos con la leche y el uso de maneas.

En un estudio efectuado en CAL de la Región Metropolitana, se comprobó que sólo en un 4,3% del total de casos la indumentaria de los ordeñadores era completa (botas de goma, pechera de plástico y gorro). En ningún predio se cumplían los requisitos que según Carrillo (1997) debe tener una indumentaria adecuada (completa y con todos sus elementos limpios), a los cuales el mismo autor agrega el uso de overoles como parte del uniforme de trabajo, prenda que no era utilizada por los ordeñadores (Durandal, 2003).

Por otra parte, en el mismo estudio se observó que en un 6,4% de los predios los ordeñadores se lavaban las manos antes de la ordeña, utilizando exclusivamente agua. Durante la ordeña, en la mayoría de los casos no se efectuaba el lavado de las manos (70,2%), verificándose en un 25,5% de los predios un lavado ocasional de las manos, por el ensuciamiento de éstas durante la ordeña y sólo en un 4,3% un lavado frecuente de las manos durante dicho proceso (Durandal, 2003). Estos resultados contrastan con las recomendaciones de Carrillo (1997), orientadas a inculcar hábitos de higiene en los ordeñadores, entre las que destacan el lavado de manos y brazos con agua potable y jabón antes de iniciar la ordeña y cada vez que se retiren momentáneamente de ésta. Además, denotarían una situación distinta a la descrita por Vidal *et al.* (1997), cuyos resultados indicarían que el lavado de las manos durante la ordeña es una práctica relativamente común en predios proveedores de CAL de la X Región.

En contraposición a lo anterior, en el estudio de Durandal (2003) pudo comprobarse que en la mayoría de los predios los ordeñadores evitaban las prácticas que involucran contacto de sus manos con la leche (89,4%). Sin embargo, el uso de maneas constituía una práctica común, dado que se observó en un 64% de los casos, alcanzando una mayor difusión en los predios con ordeña manual. Con respecto al tipo de maneas, predominaban las maneas de cáñamo (76,7%), material fácilmente contaminable y de difícil limpieza, al igual que el plástico (13,3%). Las maneas son un foco permanente de contaminación de bacterias que pueden pasar a la leche (Carrillo, 1997), constituyendo también un elemento contaminante de las manos de los ordeñadores, dado que absorben humedad y material fecal con una enorme carga bacteriana (Blanlot, 1999).

2.5. ASPECTOS A CONSIDERAR EN EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LECHE

2.5.1. Consideraciones Generales

Debido a la influencia decisiva que ejercen las actividades involucradas en el proceso de producción de leche sobre la inocuidad e idoneidad de la leche y los productos lácteos, en la fase de producción debe reducirse al mínimo posible la contaminación microbiológica, cualquiera sea la fuente de que proceda (*CODEX Alimentarius*, 1999; 2001). Para optimizar la calidad bacteriológica de la leche es conveniente prestar atención tanto a las diversas fuentes de contaminación, como a los factores que inciden en la proliferación bacteriana (FAO, 1981a; Agüero, 1997).

En general, si se desea obtener leche de buena calidad bacteriológica, se debería considerar los siguientes aspectos:

2.5.2. Control de las Enfermedades de los Animales

De acuerdo a recomendaciones del *CODEX Alimentarius* (1999; 2001), respecto a los animales productores de leche, su estado de salud se debe controlar de manera que no representen ninguna amenaza para la salud humana, por medio del consumo de alimentos que provoquen enfermedades o menoscaben la aptitud de los productos lácteos.

En Chile, según lo establecido en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (Chile-MINSAL, 2000), la leche cruda debe provenir de vacas sanas. Al respecto, utilizando el criterio de la Norma INN NCh 2069 Of 99, Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Lácteos (Chile-INN, 1999), la leche cruda debería proceder de rebaños libres de brucelosis y tuberculosis, cuyas vacas no muestren ningún síntoma de enfermedades infecciosas que pudieran transmitirse a los seres humanos por medio de la leche; y que además no presenten signos visibles de

deterioro del estado de salud general, o que confieran a la leche características organolépticas anómalas.

Entre las enfermedades que afectan a las vacas, la que usualmente más contaminación bacteriológica puede aportar a la leche es la mastitis (Hardy, 2002a). Por ello, es importante reducir las infecciones intramamarias y mantenerlas en un nivel bajo mediante un programa riguroso de control de mastitis, particularmente en rebaños con leche de buena calidad bacteriológica, donde los patógenos mamarios pueden contribuir de manera importante al recuento bacteriano total (Bramley, 1992; Agüero, 1997). Además, en la rutina de ordeña, dentro del procedimiento de preparación, debido al incremento que pueden provocar las mastitis clínicas en el recuento bacteriano de la leche de estanque, especialmente en rebaños pequeños, es necesario examinar físicamente las ubres y los primeros chorros de cada cuarto mamario.

El examen de los primeros chorros de leche permite realizar un diagnóstico temprano de mastitis clínica, a través de la detección de alteraciones macroscópicas de la leche (grumos, coágulos, sangre, alteraciones de color, presencia de pus, leche acuosa), (Hardy y Aceituno, 1995; Philpot, 1995; Agüero, 1997; Blanlot, 1997; 1999; Philpot, 1999), previniéndose de esta forma una vía de contagio de mastitis y el incremento que podría experimentar el recuento bacteriano de la leche del rebaño, por no descartar la leche de las vacas con signos clínicos de mastitis (Alfa Laval Agri, 1996; Kruze, 1997; Hardy, 2002a). Otra ventaja de esta práctica es que permite eliminar la primera fracción de leche de la ubre, caracterizada por una mayor concentración de bacterias (Agüero, 1997).

2.5.3. Disponibilidad y Calidad del Agua

El agua usada en los procesos de producción de leche, particularmente en el lavado de los pezones y equipos de ordeña, así como en los CAL, debe ser apta para el consumo humano, o sea debería cumplir los requisitos del agua potable (Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; Urrutia, 1994; Heimlich y Carrillo, 1995; Hamann, 1997). Se entiende por agua potable aquella que satisface los requisitos

físicos, químicos y bacteriológicos establecidos en la reglamentación vigente (Norma NCh 409/1 Of 1984), que aseguran su inocuidad y aptitud para el consumo humano (Chile-INN, 1984b).

Cuando el suministro de agua proviene de un sistema de distribución propio (agua de pozo profundo, por ejemplo), generalmente los problemas de aguas contaminadas derivan de una ubicación inadecuada de los pozos o una mala construcción de éstos, lo que posibilita el acceso de animales y la filtración de líquidos altamente contaminados. Por ello, las fuentes de agua no deben estar a menos de 15 metros de un área pantanosa o aguas estancadas; y ubicarse entre 30 a 60 metros de lugares donde existan líquidos con alta contaminación bacteriana, como lugares de acumulación de guano y corrales de alimentación del ganado. Los animales no deben tener acceso a las fuentes de agua, por lo que se hace necesario cercarlas a una distancia no menor de 15 metros y el diseño de los pozos o norias debe prevenir su inundación por escurrimiento de aguas superficiales (Rippes, 1982a). Además, deben permanecer cubiertas para su protección de roedores, pájaros y otros animales (FAO, 1981a; Heimlich y Carrillo, 1995).

Por otra parte, la desinfección es una práctica que debería realizarse previa detección de las causas de contaminación del agua, empleándose comúnmente para dicho propósito el hipoclorito de sodio (Rippes, 1982b). La cloración del agua debería llevarse a cabo siempre que exista alguna duda de su pureza sanitaria, con una concentración residual mínima de cloro activo de 0,2 mg por litro de agua o 0,2 ppm (Chile-INN, 1984b).

Finalmente, es recomendable evaluar periódicamente la calidad higiénica del agua, por las consecuencias que puede tener en la calidad bacteriológica de la leche. De acuerdo a Urrutia (1994), deberían realizarse análisis bacteriológicos de las fuentes de agua a lo menos 3 veces al año.

2.5.4. Higiene del Ambiente

La mantención de condiciones higiénicas adecuadas del medio ambiente de las vacas, es esencial para minimizar la contaminación de la leche (Kruze, 1997). Al respecto, debe tenerse presente que una protección, limpieza y mantenimiento inadecuado de las instalaciones de alojamiento y de ordeña de las vacas, son factores que contribuyen a la contaminación de la leche (*CODEX Alimentarius*, 1999; 2001). Las condiciones de humedad excesiva en las áreas de descanso y tránsito de las vacas (barro, aguas estancadas, acumulación de guano), constituyen una fuente potencial de contaminación de la ubre, contribuyendo a elevar el recuento bacteriano de la leche y los niveles de mastitis, principalmente por gérmenes ambientales (Lesser *et al.*, 1979; Hardy y Aceituno, 1995; Agüero, 1997; Hardy, 1997).

Por lo tanto, se debe hacer el máximo esfuerzo para ofrecer a las vacas un ambiente limpio y seco (Alfa Laval Agri, 1996; Philpot, 1999). Dentro de las buenas prácticas de manejo se incluye la limpieza y drenaje adecuado de los alojamientos, así como de las áreas de tránsito y concentración de animales. Ello representa un prerequisite para una buena rutina de ordeña (Hardy y Aceituno, 1995). En el caso del alojamiento de las vacas en cubículos, un manejo adecuado incluye la inspección y el cambio de cama, así como la limpieza de los residuos fecales, prácticas que pueden efectuarse diariamente o preferentemente 2 veces al día, asociadas a la limpieza de los pasillos (Agüero, 1997). El objetivo del manejo ambiental debería ser mantener las vacas limpias y secas, y recuentos bacterianos totales $<1.000.000$ ufc/ml en el material utilizado en las camas (Reneau, 2001a).

También son importantes las instalaciones de ordeña, las cuales deben cumplir ciertos requisitos que favorecen una rutina de ordeña adecuada, previenen la transmisión de olores indeseable a la leche y facilitan su limpieza. Una iluminación adecuada permite apreciar el estado de limpieza de la ubre antes del ordeño y examinar los primeros chorros de leche; en tanto que una ventilación apropiada evita que los malos olores y la suspensión de bacterias presentes en el aire

puedan llegar a la leche. Las superficies de los bretes, paredes y pisos deben ser de fácil limpieza, para lo cual es necesario contar con los elementos que permitan realizar un lavado adecuado de las instalaciones, especialmente del piso ante una caída de las unidades de ordeña, evitando que éstas succionen suciedades que pueden contaminar la leche. Además, una vez terminada la ordeña, debe efectuarse una limpieza de las instalaciones, para eliminar focos de contaminación provenientes de residuos orgánicos (restos de leche, orina y heces), (Lesser *et al.*, 1979; Hardy, 1997; *CODEX Alimentarius*, 2001; Hardy, 2002a).

2.5.5. Ordeñadores

Los ordeñadores tienen una importancia fundamental en el mejoramiento de la calidad de la leche. Desde el punto de vista higiénico, los ordeñadores con una higiene personal deficiente, difícilmente aplicarán procedimientos higiénicos de ordeña y mantendrán los equipos de ordeña en condiciones adecuadas, lo que limita la obtención de leche de buena calidad. Los hábitos higiénicos se refieren principalmente a la indumentaria de trabajo y a la limpieza de sus manos (Lesser *et al.*, 1979). Para minimizar la contaminación de la leche, el ordeñador debe usar ropa de trabajo apropiada y limpia. La indumentaria completa puede estar constituida por overol, pechera de plástico, gorro y botas de goma (Carrillo, 1997), o delantal de goma, traje de goma de mangas cortas y botas de goma (Kruze, 1997). Antes de la ordeña se deben lavar las manos y los brazos con agua y jabón (Kruze, 1997; *CODEX Alimentarius*, 2001), y secarlas posteriormente (Blanlot, 1999). Carrillo (1997) recomienda repetir esta operación cada vez que los ordeñadores se retiren momentáneamente de la ordeña.

Otro aspecto a considerar, es que los ordeñadores no deben poseer malas costumbres o hábitos (fumar durante la ordeña, por ejemplo), (FAO, 1981a) y, fundamentalmente, deben estar capacitados con el fin de reducir al mínimo los riesgos de la contaminación de la leche, en temas tales como ordeño higiénico, almacenamiento y manejo de la leche (Agüero, 1997; Blanlot, 1997; 1999; *CODEX Alimentarius*, 2001).

Por otra parte, las personas portadoras de gérmenes patógenos que puedan ser transmitidos a la leche, así como aquellas con abrasiones o cortes expuestos en las manos o antebrazos, no deben realizar labores de ordeña. Sin embargo, podrían hacerlo si estas lesiones se cubren con un vendaje impermeable (*CODEX Alimentarius*, 2001), o se utilizan guantes (Blanlot, 1999).

2.5.6. Rutina de Ordeña

Se entiende por rutina de ordeña el conjunto de procedimientos sucesivos, cuya finalidad es la extracción de la leche disponible en la ubre, con la mejor calidad bacteriológica posible, libre de residuos químicos o en concentraciones bajo los niveles permisibles, con el menor riesgo de provocar fenómenos de irritación mamaria e incrementar las infecciones de la glándula mamaria, compatibilizando una eficiencia operacional aceptable (Agüero, 1997). Cualquier operación de ordeño, debe considerar la reducción al mínimo y/o la prevención de la contaminación originada en torno a este proceso y el mantenimiento de la buena higiene personal (*CODEX Alimentarius*, 2001), para así obtener leche de la mejor calidad posible, con el menor riesgo de causar a las vacas algún trastorno mamario (Hardy y Aceituno, 1995).

Existen grandes variaciones entre predios en las rutinas de ordeña utilizadas. Sin embargo, a partir de las diversas fuentes bibliográficas consultadas, una rutina de ordeña adecuada, debería incluir los siguientes aspectos (Aceituno, 1995; Hardy y Aceituno, 1995; Philpot, 1995; Alfa Laval Agri, 1996; Agüero, 1997; Harmon, 1997; Wallen *et al.*, 1997; Blanlot, 1999; Philpot, 1999; Reneau, 2001b; Murphy y Boor, s.f.).

Proveer a las vacas un ambiente limpio, seco y libre de estrés: Es necesario prestar atención al diseño de las instalaciones destinadas al alojamiento de las vacas en ordeña, así como a una limpieza adecuada de las mismas, con el fin que las vacas lleguen a la ordeña con las ubres limpias o el mínimo posible de suciedad. Ello no sólo favorece la obtención de leche de buena calidad bacteriológica y reduce el riesgo de neoinfecciones mamarias, especialmente por

patógenos ambientales, sino que además disminuye el esfuerzo y tiempo dedicado al lavado de los pezones antes de la ordeña.

Por otra parte, se deben prevenir los factores estresantes que puedan producir alteraciones en el mecanismo de bajada de la leche, para así evitar ordeñas incompletas, que además pueden ser un factor predisponente de mastitis.

Extraer y examinar los primeros chorros de leche: Permite descartar las primeras fracciones de leche, caracterizadas por una mayor concentración de células somáticas y de bacterias, contribuyendo además a reforzar el reflejo de eyección de la leche. Su objetivo fundamental es que el ordeñador realice un diagnóstico oportuno de mastitis clínica, al detectarse la presencia de grumos, leche acuosa, sangre u otra anormalidades, de modo de instaurar lo más rápidamente posible los tratamientos y manejos correspondientes.

El examen de los primeros chorros de leche no sólo permite disminuir el riesgo de contagio de patógenos mamarios, sino que además resulta fundamental para la obtención de leche de buena calidad bacteriológica, especialmente en rebaños pequeños, donde puede ser muy importante la contribución de las bacterias provenientes de un cuarto clínicamente afectado al recuento bacteriano de todo el rebaño.

Limpiar y secar los pezones: Constituye una práctica de gran importancia para la obtención de leche de buena calidad, puesto que disminuye la contaminación bacteriana de la superficie del pezón. Se recomienda el uso de una cantidad mínima de agua, o de soluciones sanitizantes con cloro (100-300 ppm) o yodo (25-75 ppm), a baja presión, para evitar mojar excesivamente la ubre, circunscribiendo el lavado a los pezones. El uso de agua en exceso favorece la transmisión de patógenos hacia los pezones y dificulta su secado posterior. Como alternativas al agua o a las soluciones desinfectantes, pueden emplearse toallas individuales impregnadas en una solución sanitizante, o sumergir los pezones en un producto de predipping, permitiendo en este último caso un tiempo de contacto de 20 a 30

segundos de la solución desinfectante, procediéndose posteriormente al secado de los pezones para remover los residuos del germicida.

El secado de los pezones es una práctica de gran valor en el mejoramiento de la calidad higiénica, puesto que permite reducir el sedimento y la carga bacteriana de la leche, contribuyendo adicionalmente a prevenir las infecciones por patógenos mamarios. Ejerce un efecto físico de limpieza e impide el arrastre de microorganismos desde la superficie de la ubre y pezones hacia la boca de la pezonera, cuando en el lavado se utiliza agua en forma excesiva. Se recomienda secar los pezones con una toalla individual de papel desechable. En el caso de usar paños individuales para el secado, éstos deberían ser lavados y secados entre las ordeñas.

Colocar oportunamente la unidad de ordeña, evitando la admisión de aire: La colocación oportuna de las unidades permite aprovechar al máximo el efecto de la oxitocina, que desencadena el reflejo de bajada de la leche, cuya acción disminuye progresivamente después del estímulo inicial de la ubre, hasta desaparecer completamente después de aproximadamente 5 minutos. El tiempo óptimo entre el inicio de la preparación y la colocación de la unidad de ordeña es de 1 a 1,5 minutos, ya que permite un aprovechamiento máximo del reflejo de eyección de la leche, minimizándose el tiempo de ordeña, lo cual beneficiaría la condición de los pezones y la salud mamaria.

Por otra parte, la unidad de ordeña debería colocarse admitiendo la menor cantidad posible de aire al sistema, con el fin de mantener la estabilidad del vacío y disminuir el riesgo de transmisión de infecciones mamarias. Este aspecto no sólo es importante desde el punto de vista de la sanidad mamaria, sino que también reduce las posibilidades de formación de ácidos grasos libres en la leche, debido al ingreso abrupto de aire al equipo de ordeña.

Verificar y ajustar la posición de las unidades durante la ordeña: En el transcurso de la ordeña puede ser necesario efectuar ajustes de las pezoneras e incluso de toda la unidad de ordeña, debido a la presentación de fenómenos de

deslizamiento o trepamiento de las pezoneras y, eventualmente, de desprendimientos o caídas de las unidades.

Los deslizamientos de pezoneras ocurren debido a una multiplicidad de causas, entre las que se incluyen algunas relacionadas con el equipo de ordeña (niveles bajos de vacío, tipo de pezonera) y la rutina (ordeña de pezones húmedos), constituyendo uno de los principales factores de riesgo de transmisión de infecciones intramamarias entre cuartos, particularmente cuando se asocian a fluctuaciones de vacío cíclicas e irregulares. El trepamiento de pezoneras se asocia a vacíos de ordeña elevados y puede predisponer a mastitis. Las caídas de las unidades pueden ocurrir por ordeñar con un vacío muy bajo y también debido a un nivel de vacío demasiado elevado, que provoca dolor y molestia en las vacas.

La mantención de la dirección correcta de la unidad de ordeña, siguiendo el eje anatómico de la ubre, mediante una adecuada instalación de la misma o utilizando sistemas de soporte y posicionamiento de la unidad, elimina tensiones excesivas sobre algunos cuartos, contribuyendo a disminuir el recuento celular de la leche y el desprendimiento de pezoneras; favoreciendo además una ordeña más cómoda y tranquila.

Verificar el término del flujo lácteo y cortar el vacío antes de retirar la unidad de ordeña: Una vez que cesa el flujo lácteo debería retirarse prontamente la unidad, con el fin de evitar el sobreordeño y aumentar la eficiencia de ordeña. Antes de retirar la unidad de ordeña, se debe cortar el vacío para evitar tracciones sobre el tejido del pezón y disminuir las entradas de aire al sistema, las cuales generan impactos de gotas de leche a gran velocidad, que pueden provocar el ingreso de bacterias en el conducto del pezón y ocasionar infecciones intramamarias.

Desinfectar los pezones inmediatamente después de retirar la unidad de ordeña: La desinfección post ordeña de los pezones (dipping) permite reducir las neoinfecciones intramamarias en un 50% o más, especialmente las causadas por patógenos contagiosos como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*.

Existe una amplia gama de desinfectantes para pezones, entre los que destacan los compuestos yodados (0,1-1% de yodo disponible), clorados (hipoclorito de sodio; 0,1-4% de cloro disponible) y clorhexidina (gluconato de clorhexidina; 0,35-0,55%). Deben utilizarse productos comerciales cuya eficacia haya sido demostrada científicamente.

Para lograr los resultados esperados, es necesario desinfectar toda la superficie de los pezones en contacto con las pezoneras, recomendándose cubrir con la solución desinfectante al menos 2/3 del pezón. Además, debe tenerse presente que si bien la inmersión de los pezones posibilita una buena cobertura de éstos, es más exigente que los métodos de aspersion en lo referente al manejo higiénico de los desinfectantes y los aplicadores; siendo indispensable eliminar de los aplicadores los restos de desinfectante al final de cada ordeña y efectuar un lavado de los mismos.

2.5.7. Equipos de Ordeña

Diversos autores destacan la importante relación del equipo de ordeña con la calidad bacteriológica de la leche, la producción de leche y la salud mamaria (Hardy y Aceituno, 1995; Alfa Laval Agri, 1996; Hardy, 1997; Andrés, 2001a; Hardy, 2002a). Con respecto a su importancia en la mastitis, algunos antecedentes sugieren que la máquina de ordeña en sí sólo sería responsable de un 5 a 7 % de las neoinfecciones intramamarias (Hardy y Aceituno, 1995; Hardy, 1997; Philpot, 1999; Andrés, 2001a). En cambio, la contribución de esta fuente de microorganismos al contenido bacteriano de la leche puede ser considerable, dependiendo de los procedimientos de limpieza e higienización de los equipos de ordeña, los cuales son fundamentales para la producción de leche de buena calidad (Cousin, 1982; Pedraza, 1988; Bramley, 1992; Hardy y Aceituno, 1995; Agüero, 1997; Hardy, 1997; 2002a).

Un adecuado lavado y desinfección de los equipos de ordeña resulta fundamental para asegurar la obtención de leche de buena calidad bacteriológica, debido a que los residuos lácteos favorecen la proliferación de bacterias que contaminan y

descomponen la leche, alterando sus características organolépticas y valor nutritivo, así como la calidad y potencial de venta de los productos elaborados (Lesser *et al.*, 1979; Alfa Laval Agri, 1998). Además, permite mantener el equipo de ordeña en mejores condiciones, debido a que las pezoneras cubiertas de grasa pierden sus propiedades de ordeña y la acumulación de cualquier tipo de residuos en los elementos de acero inoxidable, provoca una disminución de la inoxidableidad conferida por la capa de óxido de cromo y níquel, favoreciendo los procesos de corrosión (Lesser *et al.*, 1979).

Por otra parte, además de los procedimientos de lavado e higienización de los equipos de ordeña, la mantención a que éstos sean sometidos puede afectar de manera importante la calidad bacteriológica de la leche. El estado de mantención de los equipos también puede reflejarse en los niveles de mastitis de los rebaños y en su recuento de células somáticas (Hardy y Aceituno, 1995; Andrés, 2001a).

La reglamentación alimentaria vigente exige que los equipos y utensilios que entren en contacto con la leche, deben ser fáciles de limpiar y desinfectar, resistentes a la corrosión e incapaces de transferir sustancias extrañas a la leche, en cantidades que signifiquen un riesgo para la salud del consumidor (Chile-INN, 1999; Chile-MINSAL, 2000; *CODEX Alimentarius*, 2001).

2.5.7.1. Limpieza y desinfección

El objetivo del lavado es eliminar todos los residuos e impurezas presentes en la superficie de los equipos después de la ordeña, especialmente los componentes lácteos menos solubles: grasa, proteína y sales minerales (Pedraza, 1988; Gamroth y Bodyfelt, 1993; Philpot, 1999). Un proceso adecuado de limpieza implica eliminar del equipo los residuos removibles mediante agua, utilizar detergentes que permitan desdoblarse en pequeñas partículas los residuos lácteos no removidos por el enjuague y dispersar la suciedad en solución (Philpot, 1999), de modo que las superficies queden perfectamente limpias con el fin de ser higienizadas eficazmente, siendo el propósito de la higienización eliminar los microorganismos que se desarrollan en el equipo entre las ordeñas (Alais, 1985).

Si bien es necesario lavar e higienizar todas las partes del equipo de ordeña que entran en contacto con la leche, algunos componentes del equipo requieren especial atención, ya que son potencialmente más contaminables por las bacterias. En los equipos de ordeña de baldes y directo a tarros, estos componentes incluyen a las pezoneras, colectores, mangueras de leche, baldes, tarros, y sus empaquetaduras y tapas. En el caso de los equipos con conducción de leche por tuberías, los puntos críticos del proceso de lavado corresponden a las pezoneras, colectores, mangueras de leche, empaquetaduras de entrada de leche y uniones, unidad final y sus empaquetaduras y mangueras de conexión, bomba de leche, línea de descarga de leche y preenfriador de leche (Hardy, 2002a). En los estanques enfriadores de leche, un punto susceptible de acumular residuos de leche, cuando no se realiza un proceso adecuado de lavado, es la válvula de descarga (Andrés, 2001c); lo que también ocurre en los CAL en las conexiones entre la bomba de leche y la tina de recepción, así como en la conexión de la bomba con la manguera que descarga la leche en el estanque (Hardy, 1999; 2002b).

Detergentes

La función de los agentes de limpieza (detergentes) es eliminar la suciedad que está retenida en la superficie de los equipos de ordeña, mientras que la de los sanitizantes es reducir los microorganismos a niveles insignificantes (Alfa Laval Agri, 1998). Además de remover los residuos lácteos, los detergentes mantienen los residuos en suspensión, los que son eliminados del equipo durante el enjuague final, y previenen que los cationes de calcio y magnesio formen la piedra de leche. El lavado de los equipos con detergentes constituye una etapa fundamental de la rutina de lavado e higienización, dado que este último proceso no puede ser eficaz si el equipo no se encuentra previamente limpio (Bramley, 1992; Alfa Laval Agri, 1998).

Entre las propiedades que debe reunir un detergente ideal, en la revisión efectuada por Suazo (1987), se incluyen las siguientes: estabilidad durante el almacenamiento, solubilización rápida y completa, acción humectante,

emulsionante de grasas, capacidad peptizante de proteínas y secuestrante de sales minerales. Además, debe ser fácil de enjuagar, no ser corrosivo para las superficies a limpiar, seguro para el manipulador, eficiente en todos los tipos de aguas, especialmente en aguas duras, tener un poder espumante controlado, biodegradable, compatible con la desinfección y económico (Alfa Laval Agri, 1998; FEPALE, 2001b).

Debido a la diversidad de componentes de la leche y por las variaciones existentes en las características físico-químicas del agua, ningún producto químico simple puede remover todos los residuos de un equipo. Por ello, se han desarrollado diversos tipos de detergentes para realizar el lavado de los equipos de ordeña, teniendo cada uno un propósito específico. En general, los detergentes pueden ser clasificados en 2 grandes grupos: alcalinos o ácidos. Los detergentes alcalinos permiten emulsificar la grasa por alcalinidad; mientras que el cloro incluido en los detergentes alcalino-clorados degrada las proteínas en partículas más pequeñas. Los agentes secuestrantes incluidos en algunos detergentes previenen la formación de incrustaciones en los equipos, al formar compuestos con las sales de calcio y magnesio (Alfa Laval Agri, 1998; Philpot, 1999).

Los detergentes alcalino-clorados de tecnología avanzada aportan mayores tenores de cloro y alcalinidad, en comparación a los detergentes formulados con tecnología convencional. En la práctica, ello se traduce en un mayor poder saponificante de la grasa y en un incremento del poder peptizante de los residuos proteicos de la leche. Además, han sido formulados para que sean menos afectados por las aguas duras (Rosales y Andrés, 2002).

Los detergentes ácidos están destinados a eliminar o a prevenir la acumulación de depósitos minerales en las superficies del equipo que contactan con la leche. Los ácidos reaccionan con los depósitos minerales y los convierten en una mezcla química que se puede quitar con agua fácilmente (Pedraza, 1988). Entre estos detergentes se incluyen los ácidos inorgánicos (nítrico, fosfórico y clorhídrico), solos o en mezclas con agentes humectantes e inhibidores de la corrosión. Los ácidos orgánicos (cítrico, tartárico, acético), generalmente no se utilizan solos, sino

en combinación con ácidos inorgánicos, principalmente con ácido fosfórico (Lesser *et al.*, 1979).

En los detergentes ácidos de última generación se combinan 2 o 3 tipos distintos de ácidos (orgánicos e inorgánicos), consiguiéndose así un efecto sinérgico que potencia fuertemente su acción como removedores de piedra de leche e incrustaciones minerales inorgánicas. Además se incorporan surfactantes, los cuales contribuyen a mejorar su capacidad de penetración y humectación de las superficies, e inhibidores de corrosión que permiten que estos detergentes a pesar de su alta concentración ácida, no produzcan daño en los materiales sobre los cuales son aplicados (Rosales y Andrés, 2002).

En algunas rutinas de lavado (alcalino-dominantes), los detergentes ácidos se utilizan para la remover la piedra de leche (Alfa Laval Agri, 1998), una o dos veces por semana (Pedraza, 1988; Andrés, 2001b), principalmente en zonas donde las fuentes de agua se caractericen por una concentración elevada de sales de calcio, magnesio y hierro (Hardy, 1999; 2002b). La tendencia actual es utilizar rutinas de lavado que incorporan un enjuague ácido como última etapa del ciclo de lavado (rutina utilizada en Estados Unidos con enjuague ácido después de cada ordeña, denominada comúnmente “rutina americana”), (Reinemann *et al.*, 1997; Rosales y Andrés, 2002).

Higienizantes

Los desinfectantes, denominados habitualmente higienizantes o sanitizantes en el caso de los equipos de ordeña, se utilizan para minimizar el número de gérmenes de las superficies que entran en contacto con la leche (Rippes, 1982c; Hardy, 1999). Las características de un sanitizante ideal son: acción rápida y con amplio espectro antibacteriano, fácil de preparar, soluble en agua, estable, efectivo en presencia de materia orgánica y suciedad, aguas duras y otros productos químicos, no contaminar el ambiente, no ser tóxico ni corrosivo, seguro de manipular y económico (Ecolab, 1996; Marriott, 1999).

Los más frecuentemente utilizados en las máquinas de ordeña son productos clorados, yodados y en base a amonio cuaternario (Lesser *et al.*, 1979; Suazo, 1987; Pedraza, 1988; Bramley, 1992; Alfa Laval Agri, 1998), empleándose también el ácido peracético (Lagger, 1998), cuya efectividad puede ser igual o mayor a la de los sanitizantes clorados (Grob, 2000). Entre los mencionados, los productos en base a cloro son los mayormente utilizados en la higienización de equipos de ordeña y estanques de almacenamiento de leche (FAO, 1981a, Rippes, 1982c; Philpot, 1995; Hardy, 1999; Philpot, 1999; Andrés, 2001b; Hardy, 2002b).

Los compuestos clorados tienen un amplio espectro antibacteriano y una gran eficiencia higienizante, incluso a baja temperatura, ventajas a las que se agregan su falta de actividad residual y bajo costo; siendo los hipocloritos de sodio y calcio (inorgánicos) e isocianatos de cloro (orgánicos), los más comúnmente usados, ya sea en polvo o líquidos. Los higienizantes clorados son relativamente poco afectados por las aguas duras y no resultan tóxicos para el hombre al usarlos en concentraciones apropiadas. Entre los inconvenientes se incluyen sus propiedades corrosivas e irritantes, la pérdida de su actividad germicida en presencia de materia orgánica y la disminución de su potencia durante el almacenamiento, debido a la acción de la luz solar, temperaturas superiores a 60°C y humedad ambiental elevada (Philpot y Nickerson, 1986; Pedraza, 1988; Marriott, 1999).

Recientemente, en Estados Unidos se ha aprobado para la sanitización de equipos de ordeña y estanques de refrigeración un sanitizante ácido, compuesto por ácidos orgánicos de grado alimenticio, ácidos grasos y surfactantes, que permite obtener un efecto biocida (Rosales y Andrés, 2002).

Factores que afectan la eficiencia del lavado y sanitización

En el proceso de lavado e higienización de los equipos de ordeña, se reconocen múltiples factores que operan de forma simultánea e interdependiente, dando origen a diversas combinaciones que permiten obtener un resultado satisfactorio (Spencer, 1968). Dentro de estos factores se incluyen el tiempo de contacto de las soluciones de lavado e higienizantes con la superficie del equipo, su temperatura,

la concentración de los detergentes e higienizantes, el volumen de agua, la velocidad de circulación y turbulencia, y el drenaje del agua y de las soluciones empleadas en cada etapa del proceso. También se consideran factores importantes las características propias de los detergentes e higienizantes, así como la calidad higiénica y las características físico-químicas del agua, y el estado de mantenimiento de los equipos (Agüero, 1997).

De acuerdo a Andrés (2000a), los problemas de higiene en los equipos de ordeña con tuberías de transporte de leche, obedecen generalmente a fallas en 5 parámetros básicos, los cuales deben ser monitoreados permanentemente con el fin de mantener bajo control el proceso de lavado y asegurar su eficacia. Estos corresponden a la dosificación de los productos utilizados, la temperatura del agua, la turbulencia de las soluciones de lavado, el volumen de agua y el tamaño de la instalación.

Los factores mencionados previamente también afectan la eficiencia del lavado e higienización de los equipos de ordeña directo a tarros, pero en este tipo de equipos la acción mecánica que ejerce la recirculación de la solución detergente para remover los residuos, depende total o parcialmente del escobillado de sus superficies (Hardy, 1999; 2002b). El hecho de que estos equipos requieran de un alto grado de limpieza e higienización manual, explicaría en parte la diversidad de rutinas de lavado utilizadas por los productores de los CAL, siendo frecuente observar deficiencias en los procedimientos de lavado con detergentes alcalino-clorados, en lo referente a la temperatura de la solución detergente y a la omisión del escobillado de los componentes de la unidad de ordeña y tarros lecheros (Durandal, 2003).

Tiempo: Para que una rutina de lavado tenga éxito, es fundamental que los detergentes tengan un tiempo mínimo de contacto con las superficies a limpiar (Andrés, 2001c). En los equipos con sistemas automáticos de limpieza, dentro de ciertos límites, el incremento del tiempo de contacto de la solución detergente con las superficies, mejora la eficiencia del lavado. El tiempo de recirculación de las soluciones alcalino-cloradas no debería ser mayor a 10 minutos, puesto que

permite un tiempo de contacto adecuado del detergente y la circulación de un número suficiente de tapones de agua, evitando el redepósito de la suciedad debido a una disminución de la temperatura (Wilkins, 1996).

El mismo tiempo de recirculación de la solución con detergente alcalino-clorado, se utiliza en los equipos de ordeña directo a tarros con sistemas de lavado de las unidades. En el caso de equipos de ordeña directo a tarros sin sistemas de lavado de las unidades, no se especifica un tiempo de recirculación, pero se recomienda succionar 3 veces la solución detergente desde un balde o tarro, asegurándose que toda la superficie interna de las unidades de ordeña entre en contacto con la solución (Hardy, 1999; 2002b).

El tiempo también es un factor importante de considerar en la higienización de los equipos de ordeña, ya que su efectividad aumenta mientras mayor es el tiempo de contacto (Ecolab, 1996). Sin embargo, en la práctica, la duración de esta etapa es relativamente corta, estimándose que en equipos con tuberías de transporte de leche, 5 minutos permitirían un tiempo suficiente de contacto para destruir la mayor parte de las bacterias (Wilkins, 1996).

Para equipos de ordeña directo a tarros, sanitizados con cloro (100-200 ppm), que cuentan con sistemas de lavado de las unidades, se debe hacer recircular la solución higienizante a través de las unidades por 3 minutos. En los equipos sin sistemas de lavado de las unidades, se recomienda hacer pasar una vez una solución higienizante por las unidades de ordeña y sanitizar los tarros con el mismo tipo de solución (Hardy, 1999; 2002b).

Temperatura: El uso de agua caliente durante el proceso de lavado permite emulsificar y dispersar los residuos de grasa, además de potenciar la energía química aportada por los detergentes (Alfa Laval Agri, 1998; Andrés, 2001c).

Las temperaturas utilizadas para el lavado con detergentes alcalino-clorados fluctúan habitualmente entre 43 y 77° C (Reinemann *et al.*, 2000). En el caso de sistemas automáticos de lavado, la temperatura de inicio del ciclo de lavado

alcalino no debe ser menor a 70°C (Wilkins, 1996) o 75°C (Andrés, 2000a). Al final del ciclo de lavado, la temperatura de la solución detergente no debería descender bajo 38°C (Pedraza, 1988), 40°C (Andrés, 2000a; 2002b; c) o 50°C (Wilkins, 1996), con el fin de prevenir la redeposición de la suciedad y la solidificación de la grasa. Si bien la efectividad del lavado mejora con el incremento de la temperatura de la solución detergente, las temperaturas muy elevadas conllevan otros problemas, tales como caramelización de la lactosa y desnaturalización de proteínas, especialmente cuando el enjuague inicial se efectúa con temperaturas superiores a 65°C o cuando en el ciclo de lavado excede los 90°C (Andrés, 2000a).

Para el lavado manual de equipos de ordeña directo a tarro, sin o con sistemas de lavado de las unidades de ordeña, la temperatura de inicio del ciclo de lavado alcalino-clorado debería ser de 60-70°C, y no debería disminuir a un nivel menor a 40°C (Hardy, 1999; 2002b). Los demás elementos utilizados en la ordeña (tarros lecheros y sus tapas), deben ser lavados con detergente alcalino-clorado y agua a 40°C (Hardy, 1999; 2002b) o 50°C, temperaturas que son toleradas por el manipulador, pero nunca a menos de 37,7°C que corresponde a la temperatura de remoción de la grasa láctea (FEPALE, 2001b).

Dosificación: La dosificación de los detergentes y sanitizantes es otro factor que afecta de manera relevante la eficiencia del lavado e higienización de los equipos de ordeña (Rippes, 1982c; Gamroth y Bodyfelt, 1993; Alfa Laval Agri, 1998; Andrés, 2000a). Al subdosificar un detergente, no se logra la alcalinidad necesaria para la saponificación de la grasa, ni la concentración de cloro requerida para peptizar las proteínas, aumentando con ello los depósitos visibles en el equipo. Por el contrario, una sobredosificación eleva el contenido de cloro y la alcalinidad aportada por la solución de lavado, lo que provoca daño de las pezoneras y partes de goma, disminuyendo su vida útil, al favorecer la migración de grasa a través de las pezoneras y aumentar la porosidad, lo que dificulta el proceso de limpieza (Andrés, 2000a).

Para dosificar los detergentes alcalino-clorados, productos ácidos y sanitizantes, se debe seguir las instrucciones entregadas por el fabricante y que aparecen en la etiqueta del envase (Reinemann *et al.*, 1997; Andrés, 2001c), considerando la dureza del agua, así como el tamaño de la instalación y el volumen de agua utilizado (Wilkins, 1996; Rosales y Andrés, 2002).

Si sólo se considera la dureza del agua para determinar la dosificación de los detergentes alcalino-clorados, puede obtenerse un pH adecuado, pero los niveles de alcalinidad activa y de cloro disponible pueden encontrarse muy por debajo de lo requerido (Andrés, 2000a). Los buffers presentes en el agua, como el bicarbonato de sodio, pueden dificultar la obtención de un balance químico apropiado. Los requerimientos de detergentes alcalinos y ácidos son mayores, si el agua contiene niveles de buffers >400 ppm, dado que los buffers neutralizan tanto la alcalinidad como la acidez (Wilkins, 1996).

Durante el lavado alcalino-clorado, debería lograrse un pH de 10,5 a 12,5 (Andrés, 2000a), o de 10-11,5 (Wilkins, 1996), conjuntamente con niveles de alcalinidad activa de 250-300 ppm y 80 ppm de cloro disponible. En el enjuague ácido, se requiere alcanzar valores de pH de 3-4 (Wilkins, 1996).

Debido a las características de los productos químicos utilizados en el lavado y sanitización de los equipos de ordeña, durante su dosificación se deben tomar las precauciones de seguridad correspondientes (Andrés, 2001c).

Acción mecánica: Además de la energía química ejercida por los detergentes en el proceso de lavado, debe utilizarse algún tipo de acción mecánica para desprender los residuos adheridos en las superficies de los equipos (Alfa Laval Agri, 1998). En los equipos con cañerías de conducción de leche, la energía mecánica está dada por la turbulencia y velocidad de la solución detergente en recirculación (Hardy, 1999; Andrés, 2001c; Hardy, 2002b). El agua a alta velocidad restriega, remueve y arrastra la suciedad presente en la superficie de las tuberías. La turbulencia se genera mediante inyectores que admiten aire a intervalos al

sistema, formándose de esta manera borbollones o tapones que frotan la superficie de las tuberías a medida que van circulando (Wilkins, 1996).

En los equipos de ordeña directo a tarro, así como en los utensilios de ordeña manual (baldes), la acción mecánica de arrastre de los residuos es aportada por el escobillado de las superficies (Hardy, 1999; Andrés, 2001c; Hardy, 2002b). El escobillado contribuye además a la prevención y eliminación de la piedra de leche y otras incrustaciones de difícil remoción por los detergentes alcalinos (Pedraza, 1988; Hardy, 1999; 2002b).

Drenaje: La eliminación rápida del agua y soluciones empleadas en cada ciclo del proceso de lavado, contribuye a disminuir la formación de películas de material lácteo e impurezas del agua. En los equipos con tuberías de transporte de leche, éstas deben tener una pendiente hacia el jarro receptor, el cual debe contar con un sistema de drenado, recomendándose como mínimo un valor de 0,8%. Para la línea de lavado se recomienda como mínimo un 1,7% de pendiente, pero hacia la última unidad (Wilkins, 1996).

En los equipos de ordeña directo a tarros, el estilado y secado de éstos puede lograrse colocándolos boca abajo en una rejilla metálica, instalada sobre el nivel del piso (Carrillo, 1997), o en el piso si éste se encuentra limpio (Andrés, 2001c). Las unidades de ordeña pueden ser colgadas para estilarlas, lo que permitiría un buen drenaje del agua residual de las pezoneras y colectores, pero sólo parcial de las mangueras largas de leche (Durandal, 2003), por lo que se recomienda colocarlas en una posición que favorezca su drenaje.

Etapas del ciclo de lavado e higienización

El proceso de lavado e higienización de los equipos de ordeña, generalmente comprende 4 etapas principales que se efectúan en el siguiente orden (FAO, 1981a; Rippes, 1982c; Pedraza, 1988; Philpot, 1995; Alfa Laval Agri, 1998; Reinemann *et al.*, 1997; Hardy, 1999; Philpot, 1999; Andrés, 2001c; Hardy, 2002b):

Enjuague inicial: Se realiza inmediatamente después de finalizada la ordeña y tiene por función eliminar los restos de leche que puedan ser arrastrados por el agua. Este enjuague debe efectuarse preferentemente con agua tibia (37 a 40°C), ya que una temperatura demasiado elevada produce coagulación de los residuos proteicos de la leche, que se adhieren a la superficie interna del equipo, y caramelización de la lactosa. Las proteínas coaguladas y la lactosa caramelizada son difíciles de remover con los detergentes de uso habitual, mientras que el agua fría hace que la grasa se deposite en la superficie de los equipos.

Lavado con detergentes: Se realiza después del primer enjuague y tiene por objetivo remover todos los residuos de leche que pudieran quedar en el equipo. Estos sólo pueden ser desprendidos de su superficie mediante el proceso de lavado, habitualmente con un detergente alcalino-clorado disuelto en agua caliente. Además de la acción química del detergente, que permite desdoblar los residuos lácteos, la eficiencia del lavado depende del arrastre mecánico aportado por la turbulencia o el escobillado. La temperatura al final del proceso no debe ser inferior a 40°C, para evitar la redeposición de la suciedad y la formación de películas de grasa.

Enjuague final: Se efectúa con posterioridad al lavado del equipo con una solución detergente. Tiene por objetivo eliminar el detergente y todos los residuos liberados por éste, de modo que quede con sus superficies limpias para ser higienizado posteriormente.

Higienización: Se realiza para reducir al máximo posible la contaminación microbiana que quede en el equipo. Puede efectuarse como última etapa del ciclo de lavado, después del enjuague de la solución detergente, pero es más conveniente higienizar el equipo antes de la ordeña siguiente, debido a que permite eliminar las bacterias que pudiesen haber crecido una vez finalizada la operación de limpieza, así como las materias extrañas que hayan caído dentro de los utensilios.

Generalmente se utilizan soluciones cloradas en agua fría (100-200 ppm de cloro), que se hacen recircular en el equipo por 5 minutos.

Rutinas de lavado

Como se señaló, existen dos procedimientos de lavado de los equipos de ordeña, de acuerdo a la forma en que se utilicen los detergentes ácidos: la rutina de lavado alcalino dominante y la rutina de lavado que incluye un enjuague ácido. Ambas rutinas son aplicables a equipos con tuberías de transporte de leche y a equipos de ordeña de baldes o directo a tarros (Andrés, 2001b).

La rutina de lavado alcalino dominante, consiste en efectuar lavados con detergente alcalino-clorado después de cada ordeña, realizándose uno o dos lavados ácidos semanales. Para los equipos directo a tarros con lavado manual, se recomienda utilizar una solución de detergente ácido en agua tibia (40°C), debiendo aumentarse la temperatura a 65°C en aquellos provistos de lavadoras automáticas de las unidades de ordeña, con un tiempo de recirculación de 10 minutos. En los equipos con tuberías de transporte de leche, donde se utilizan métodos de limpieza en el sitio (CIP), se recomienda el lavado ácido con agua caliente (70–75°C) y recircular la solución detergente durante 10 minutos (Andrés, 2001b).

En la rutina caracterizada por un enjuague ácido del equipo como última etapa del lavado efectuado después de cada ordeña, se utilizan detergentes ácidos a una concentración menor que en el lavado ácido periódico y a un nivel de temperatura más bajo (35-45°C), con un tiempo de recirculación de la solución de 5 a 6 minutos. Los residuos de ácido se eliminan del equipo previo a la ordeña siguiente, mediante la recirculación de una solución sanitizante clorada (Andrés, 2001b; Rosales y Andrés, 2002).

El enjuague ácido previene la formación de películas de tipo mineral, permitiendo además neutralizar el cloro y la alcalinidad aportada por los detergentes alcalino-clorados, aumentar la vida útil de las pezoneras y componentes de goma, y

mantener un ambiente ácido en la superficie del equipo (pH 3 a 3,5). Estos niveles de pH ejercen una acción bacteriostática, por lo que el enjuague ácido contribuye también a prevenir la multiplicación bacteriana entre ordeñas (Pedraza, 1988; Reinemann *et al.*, 1997; Andrés, 2001b; Rosales y Andrés, 2002).

Métodos de lavado y sanitización de equipos de ordeña directo a tarro

Dependiendo de la automatización del proceso, los métodos de lavado y sanitización de los equipos de ordeña se clasifican en manuales y mecánicos o automáticos. Estos últimos se designan también como sistemas de limpieza *in situ* (CIP). Los sistemas manuales se utilizan para el lavado de los baldes, tarros lecheros y de los componentes de los equipos de ordeña directo a tarro o a balde (unidades de ordeña, mangueras de leche y tapas de tarros, incluidas las empaquetaduras y uniones), y en algunos modelos de estanques enfriadores. Los sistemas automáticos de lavado se emplean habitualmente en los equipos con tuberías de transporte de leche y estanques refrigerados, permitiendo lavar y sanitizar todas las superficies que entran en contacto con la leche. La superficie externa de los equipos con sistema de limpieza CIP, debe ser lavada manualmente (Reinemann *et al.*, 1997). En los equipos de ordeña directo a tarro, se pueden utilizar también estos sistemas, mediante la incorporación de lavadoras automáticas de las unidades de ordeña, pero el lavado de los tarros debe realizarse manualmente (Hardy, 1999; Andrés, 2001c; Hardy, 2002b).

En los sistemas de lavado manual deben utilizarse detergentes especialmente formulados para dicho propósito (Reinemann *et al.*, 1997). El desprendimiento de la suciedad se logra mediante el uso de cepillos, mientras que el cepillado conjuntamente con la acción química aportada por los detergentes provoca la ruptura de los residuos y los detergentes espumosos contribuyen a dispersarlos. En los equipos con lavado por recirculación, el paso de agua a alta velocidad y la admisión de aire mediante inyectores sustituye la acción mecánica del cepillado, formando borbotones que frotan o restriegan las superficies de las tuberías de leche y pezoneras (Wilkins, 1996).

Los cepillos y otros utensilios empleados en el lavado manual de los equipos, deben tener un diseño que facilite el trabajo manual y permita una completa limpieza y desinfección. En el caso de los cepillos, deberían ser de un material sanitario (no de madera) y con cerdas no desprendibles (FEPALE, 2001b), con puntas redondeadas y sin aristas, de fibra de nylon (no vegetal), y resistentes a las altas temperaturas y agentes químicos (Andrés, 2003)¹. Además de utilizar cepillos apropiados, para lograr una buena limpieza de las superficies de los equipos, éstos deben conservarse en buen estado. Las mangueras de leche deben ser baqueteadas con una piola diseñada especialmente para limpiarlas (Andrés, 2001c). Dado que estos utensilios también pueden ser un foco de contaminación y diseminación de microorganismos, es necesario lavarlos y desinfectarlos, colocando posteriormente los cepillos con las cerdas hacia arriba para que se sequen (FEPALE, 2001b).

Estudios efectuados tanto en la zona central (Durandal, 2003), como en el sur del país (Carrillo *et al.*, 1997, citados por Carrillo y Vidal, 1999), han demostrado que la mayor parte de los productores de los CAL no emplean cepillos para limpiar las unidades de ordeña y tarros lecheros, o usan cepillos gastados. Ello no permite lograr una limpieza apropiada, dado que la remoción mecánica de los residuos lácteos que se obtiene mediante turbulencia en los equipos con lavado automático, sólo puede ser lograda mediante el escobillado en los sistemas de lavado manual de los equipos de ordeña (Wilkins, 1996; Hardy, 1999; Philpot, 1999).

En el caso de las mangueras de vacío, a pesar que no circula leche por ellas, están constantemente expuestas a vapores que generan humedad y condensación del agua en su interior. Debido a ello, es recomendable lavarlas interiormente, al menos 1 vez a la semana (Andrés, 2001c).

¹ Andrés, L. 2003. [Comunicación Personal]. Características de cepillos para lavado manual de equipos de ordeña. De Laval.

2.5.7.2. Inspección, revisión y mantención de los equipos de ordeña

De acuerdo a recomendaciones del *CODEX Alimentarius* (2001), el equipo de ordeña debe mantenerse en buenas condiciones de funcionamiento entre inspecciones, lo que supone la existencia de un proceso de verificación periódica de su estado de funcionamiento. Este chequeo o control periódico debe efectuarse con instrumentos apropiados, preferentemente por personal especializado de la empresa fabricante del equipo, de modo de evaluar el correcto funcionamiento del equipo y de todos sus componentes (Kruze, 1997; Philpot, 1999), a lo menos una vez al año (Lesser *et al.*, 1979; FAO, 1981b). Ello tiene por finalidad prevenir y corregir las deficiencias que podrían afectar la sanidad mamaria del rebaño y la calidad higiénica de la leche; para lo cual es recomendable llevar también un programa de mantención preventiva de los equipos, donde se considere el recambio programado de partes y piezas sujetas a desgaste (Andrés, 2001a).

De los componentes del equipo de ordeña que pueden ser fuentes de contaminación para la leche, el de mayor importancia es la pezonera (Hardy, 2002a). Para disminuir este riesgo, las pezoneras deben cambiarse tan pronto hayan cumplido su vida útil. Dependiendo del país de origen, la vida útil es de 2.500 ordeños o 6 meses (lo que suceda primero), para las pezoneras de origen europeo, de acuerdo a la European Food Legislation, y de 1.200 ordeños para las fabricadas en Estados Unidos, según la US Food Legislation (Alfa Laval Agri, 1996, Hardy, 1999; Andrés, 2000b; 2001a; Hardy, 2002b). Algunos autores sostienen que estos elementos deben ser cambiados cada 6 meses, independiente del número de ordeñas por pezonera (Lesser *et al.*, 1979; FAO, 1981b; Hamann, 1997).

No obstante lo anterior, debe tenerse presente que los valores recomendables sobre sustitución de las pezoneras no corresponden necesariamente al tiempo óptimo de uso, debido a que la vida útil que se puede esperar de una pezonera depende en gran medida de las condiciones de cada predio. Así, por ejemplo, el uso de concentraciones demasiado altas de detergentes o sanitizantes,

temperaturas muy elevadas (Alfa Laval Agri, 1996; s.f.), o el empleo de cepillos en mal estado (Andrés, 2001a), favorecen el deterioro prematuro de las pezoneras.

Los demás componentes que entran en contacto con la leche (mangueras largas de leche), deberían ser reemplazados a lo menos una vez al año (Lesser *et al.*, 1979; Andrés, 2001a); aunque si se cuidan adecuadamente podrían durar entre 2 a 3 años (Corbett, 1997). En el caso de los equipos de ordeña directo a tarro, las mangueras de leche deberían reemplazarse 1 vez al año, recomendándose la misma frecuencia de recambio para las empaquetaduras de la tapa del tarro. Las mangueras de pulsación deberían cambiarse dentro de un plazo máximo de 2 años (Andrés, 2001a).

Finalmente, con el propósito de evaluar la efectividad de los procedimientos de limpieza de los equipos, se recomienda realizar un chequeo al interior de los mismos, incluyendo además los estanques de refrigeración, para detectar eventuales depósitos de suciedad y establecer sus posibles causas, según los tipos de depósitos identificados (Andrés, 2001a).

2.5.8. Almacenamiento de la Leche

La Norma NCh 2069 Of 1999 Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Lácteos, señala que una vez finalizada la ordeña, la leche debe ser almacenada en recipientes o estanques limpios, equipados para protegerla de la contaminación externa y de cualquier efecto adverso a su calidad. Si la leche no es recogida dentro de 2 horas de terminada la ordeña, debería ser almacenada bajo refrigeración (Chile-INN, 1999).

En el caso del almacenamiento refrigerado, las condiciones básicas del proceso de enfriamiento son: disminuir la temperatura de la leche lo más pronto posible después de finalizada la ordeña, utilizar una temperatura de refrigeración adecuada, mantener dicho nivel térmico lo más constante posible, y compatibilizar estos requisitos con la duración del período de almacenamiento y un costo de refrigeración razonable (Agüero, 1997).

Según la Norma NCh 2069 Of 1999 Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Lácteos, la temperatura de la leche debería disminuir a 4°C dentro de 2 horas de terminada la ordeña (Chile-INN, 1999). En Estados Unidos, las regulaciones exigen que la leche cruda sea enfriada a 10°C después de 1 hora de terminada la ordeña y a 5°C dentro de 2 horas (Philpot, 1995). Reinemann *et al.* (1997) recomiendan que la leche sea enfriada a temperaturas de 4,4°C o menos en un plazo de 30 minutos, manteniéndose posteriormente a temperaturas de almacenamiento entre 0 y 4,4°C. Sin embargo, la refrigeración a temperaturas cercanas a 0°C, tiene el riesgo que se produzca congelación de la leche, lo cual puede causar problemas de estabilidad en el producto, además de ser económicamente más caro (Romero, 1995).

Una vez que la leche ha alcanzado la temperatura de almacenamiento apropiada en el estanque (4°C), es importante que ésta se mantenga constante durante todo el período de almacenamiento, excepto al ingresar al estanque la leche proveniente de las ordeñas sucesivas, aunque la temperatura de la leche no debería superar los 10°C, para retornar lo más rápidamente posible a 4°C (Richter, 1992; Romero, 1995).

Entre los aspectos técnicos de los estanques de refrigeración, que es preciso considerar por su relación con la calidad bacteriológica de la leche, se incluyen tener una potencia calculada según la capacidad del depósito y el número de ordeñas a conservar; estar construido de material inerte, generalmente acero inoxidable y provisto de un agitador con un control adecuado de su velocidad de rotación. Además, debe tener un diseño que facilite la limpieza de todas sus partes (Alais, 1985; Romero, 1995).

Con respecto a la capacidad de enfriamiento del estanque, la International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians (IAMFES), el US Public Health Service y el Dairy Industry Committee señalan que un estanque diseñado para recolección diaria, debería enfriar dentro de 1 hora el 50% del volumen calculado de leche a almacenar, desde 32°C a 10°C, después que el estanque se ha llenado al 50% de su capacidad y con el sistema de enfriamiento funcionando

durante dicho período. Durante la hora siguiente, el sistema debería permitir bajar la temperatura de la leche desde 10°C a 4,5°C. Para la recolección de leche en días alternados, el estanque debe cumplir los mismos requerimientos de enfriamiento, excepto que en este caso se considera el 25% del volumen calculado. La capacidad de enfriamiento de los estanques, tanto de los destinados a recolección diaria como día por medio, debe impedir que la temperatura de la leche aumente sobre 10°C, en cualquier momento de la adición de leche de la segunda o subsiguientes ordeñas (Richter, 1992).

Una forma de mejorar la capacidad de enfriamiento de los estanques refrigerados y hacer más rápido el descenso de la temperatura de la leche recién ordeñada, especialmente cuando es imposible aumentar la potencia de las unidades de frío, es mediante la incorporación de preenfriadores de leche (Hardy, 2002a). Al utilizar agua a 15°C, el preenfriador puede disminuir la temperatura de la leche a aproximadamente 18°C, con lo cual se reduce significativamente el tiempo necesario para alcanzar los 4°C en el estanque (Romero, 1995). La mayor velocidad de enfriamiento de la leche lograda con los preenfriadores, permite esperar una reducción de la tasas de proliferación de las bacteria psicrótrofas, en comparación a lo observado en leche de estanques que no cuentan con sistemas de preenfriado (Suazo, 1987). Además, habría un ahorro importante en el costo de energía, ya que se ha estimado que si se emplea agua a 21°C, el proceso de preenfriado reduce la cantidad de calor que debería ser removida por el estanque en aproximadamente un 30% (Richter, 1992).

Cuando la leche no es enfriada después de la ordeña, sino en el centro de acopio, es fundamental que la leche permanezca almacenada en el predio el mínimo de tiempo y a una temperatura lo más baja posible (Heimlich y Carrillo, 1995). De acuerdo a Bidegain (1972), la leche almacenada en tarros debería llegar dentro de las 3 horas siguientes a la ordeña al centro receptor. Si la organización de los recorridos y los medios de transporte de la leche no permiten llevarla prontamente al acopio, ésta debe ser enfriada en el predio de la forma más eficiente posible. El enfriamiento de los tarros lecheros, sumergiéndolos en una corriente de agua,

evitando el ingreso de ésta a los tarros, constituye un método apropiado para disminuir la temperatura de la leche (Bidegain, 1972; Hardy, 2002a). En épocas de alta temperatura (primavera-verano), los tarros lecheros deben ser almacenados bajo techo o en sombreaderos hasta su recogida (Carrillo, 1997; Carrillo y Vidal, 1999; Hardy, 2002a).

En el caso de los CAL, es común encontrar centros equipados con estanques de leche con una capacidad de enfriamiento insuficiente, lo que puede afectar la calidad bacteriológica de la leche. Un centro de acopio, por sus características de recepción de leche, sólo debería tener estanques de frío para almacenar la leche de 2 ordeñas; es decir, con una capacidad de enfriar la mitad de su capacidad volumétrica en un máximo de 3 horas. Debido a problemas de capacidad de potencia instalada, frecuentemente se utilizan estanques para 4 ordeñas (pueden enfriar $\frac{1}{4}$ de su capacidad en 3 horas), lo que los hace claramente insuficientes para enfriar y mantener la leche en buenas condiciones de calidad. Para mejorar la capacidad de enfriamiento, especialmente en acopios sin posibilidad de aumentar la potencia de las unidades de frío, es recomendable la incorporación de preenfriadores de leche (Hardy, 2002a).

Al igual que los estanques prediales, el estanque del CAL y los demás equipos del centro de acopio deben ser lavados y sanitizados prolijamente, tan pronto como se vacía el estanque (Hardy, 2002a). Debe prestarse particular atención al lavado y sanitizado cuidadoso de la tina de recepción, el colador, la bomba de leche y las mangueras de bombeo (Hardy, 1999; 2002b).

2.5.9. Recolección y Transporte de la Leche

Según la Norma NCh 2069 Of 1999 Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Lácteos, los depósitos y recipientes utilizados en la recolección y transporte de la leche deben tener un diseño que evite cualquier tipo de contaminación medio ambiental de la leche, y que asegure un completo drenaje de los mismos (Chile-INN, 1999). Más específicamente, el *CODEX Alimentarius* (2001) señala que las superficies que entran en contacto con la leche (camiones

cisternas, tarros y otros equipos relacionados con el transporte de la leche), deberían ser fáciles de limpiar y desinfectar, resistentes a la corrosión e incapaces de transferir sustancias extrañas a la leche, en cantidades que impliquen un riesgo para la salud del consumidor.

Para el transporte de leche en camiones cisterna, deberían utilizarse estanques de acero inoxidable, puesto que posibilitan un adecuado lavado y sanitizado, en comparación a los estanques de fibra (Dirven y Ortega, 2001). Al respecto, la FEPALE (2001a) señala que las paredes interiores de los vehículos de transporte de leche deben ser de material liso, no poroso y con un diseño que permita descargar mediante una bomba la totalidad de la leche, mencionando además que deben ser utilizados exclusivamente para el transporte de leche

En términos generales, independientemente del sistema de transporte de la leche, se recomienda que la duración del recorrido sea lo más corta posible. Cuando el transporte de la leche se realiza en camiones cisterna, la temperatura de la leche no debería superar los 7° C al llegar a la planta lechera (FEPALE, 2001a).

Los camiones estanque deben ser lavados y desinfectados cada vez que se descarga la materia prima en la planta. Además, debe llevarse un registro de los productos de limpieza, sus concentraciones, la temperatura y el tiempo de pasaje de las soluciones, incluyéndose también quién y cuándo efectuó esta labor. Los registros de recepción y descarga de leche constituyen una prueba inequívoca del desarrollo correcto de la tarea (FEPALE, 2001a).

Por otra parte, es imprescindible que el transportista haya recibido una capacitación, la cual debe ser acreditada con los registros correspondientes y que periódicamente se monitoree cómo desempeña su trabajo. Las condiciones de salud y aptitud física deben poder demostrarse con los certificados sanitarios vigentes. En todo momento el transportista debe aplicar sus propias prácticas de buena manufactura (no estar en contacto con los animales, ni realizar tareas distintas a la recolección de la leche, utilizar ropa de trabajo adecuada y en

buenas condiciones higiénicas, mantener su higiene personal y tener hábitos higiénicos acordes con su tarea), (FEPALE, 2001a).

Si la recolección y transporte a la planta se realizan en tarros lecheros, durante el verano deben extremarse las precauciones, de manera de efectuar la recogida temprano en la mañana antes de las horas de mayor calor (Alais, 1985; Romero, 1995). Estas consideraciones son aplicables también al transporte de la leche desde los predios hasta el centro de acopio, siendo especialmente importante que la duración del proceso no se prolongue demasiado (Heimlich y Carrillo, 1995). Para ello es fundamental programar una adecuada frecuencia de recolección y organización de los recorridos, debiendo idealmente efectuarse dentro de 3 horas de terminada la ordeña. Cuando el transporte al centro de acopio se realiza en tarros, éstos deben ir tapados para evitar la entrada de suciedad a la leche (Hardy, 2002a). Con el fin de mejorar las condiciones de transporte de la leche en los CAL y prevenir un incremento en los recuentos bacterianos de la leche, puede ser conveniente llevar un control del tiempo de transporte y de la temperatura de la leche durante su recepción en el CAL (Omeñaca, 2000).

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estimar la contribución relativa de las fuentes de contaminación y/o proliferación bacteriana al recuento bacteriano total de la leche, desde el fin de la ordeña hasta su llegada al CAL, y evaluar el efecto de algunas medidas higiénicas sobre el mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar la influencia de las principales fuentes de contaminación y/o proliferación bacteriana sobre el recuento bacteriano total de la leche.
2. Aplicar un conjunto de medidas destinadas a mejorar la calidad bacteriológica de la leche y evaluar su efecto sobre el recuento bacteriano total.
3. Describir los cambios que experimentan los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes de la leche, después de implantar las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

La evaluación de los puntos críticos de control o factores limitantes de la calidad bacteriológica de la leche, se basó en un estudio de campo, realizado entre Enero y Agosto de 2000, cuyo diseño comprende 2 etapas interrelacionadas:

- Análisis de las fuentes de contaminación y proliferación bacteriana (Fase 1).
- Evaluación de las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche (Fase 2).

De acuerdo a lo programado inicialmente, el estudio consideraba incluir algunos productores con altos recuentos bacterianos del CAL Ranchillo. Sin embargo, la calidad bacteriológica de leche de este centro resultó comparativamente superior a la de los demás centros de acopio, verificándose adicionalmente un descenso en el recuento bacteriano en las muestras de leche de productores de dicho CAL, durante los primeros meses de un estudio donde se evaluó la calidad higiénica de leche en los centros de acopio lechero de María Pinto (Espejo, 2001).

Debido a lo anterior fue necesario efectuar un muestreo orientado a identificar productores con recuentos más altos en otros centros de acopio. Basado en los resultados obtenidos en dicho muestreo, y compatibilizándolos con las recomendaciones del equipo técnico de UFOCO S.A. y la disposición de los productores a participar en el estudio e incorporar las medidas de mejoramiento durante la fase 2, se seleccionó un productor de los CAL Chorombo y Lo Ovalle, ambos con ordeña mecánica; designados de aquí en adelante como productor 1 y 2, respectivamente. Los dos centros de acopio vendían la leche a queserías cuyas pautas de pago no consideraban los niveles de recuento bacteriano ni de células somáticas.

Se decidió incluir en el estudio sólo productores con ordeña mecánica, dado que éste es el sistema de ordeña predominante en los predios proveedores de los CAL de María Pinto (Agüero *et al.*, 2000). Además, comparado con la ordeña manual, este sistema plantea mayores dificultades para lavar y sanitizar apropiadamente los equipos y generalmente se asocia a mayores recuentos bacterianos en la leche, como se desprende de la revisión bibliográfica realizada por Jarpa (1979). Con posterioridad a la ordeña de la mañana, ambos productores efectuaban el transporte de la leche hacia el CAL dentro de períodos relativamente cortos, que son representativos de la gran mayoría de los productores de los CAL de María Pinto (Agüero *et al.*, 2000). El productor 1 representa además una tercera situación de estudio de casos, dada por la condición de almacenamiento no refrigerado de la leche obtenida en la ordeña de la tarde hasta la mañana siguiente, momento en que se efectuaba su recolección y transporte al CAL.

4.2. FASE 1

Productor 1

El sistema de producción de leche se basaba en el pastoreo y no se realizaba confinamiento de las vacas. La ordeña se efectuaba en una sala tipo espina de pescado doble 3, con un equipo de 3 unidades directo a tarro. La sala está completamente techada y corresponde a una instalación parcialmente abierta (un muro), con buena ventilación. Su estructura es principalmente de madera, y cuenta con piso de concreto y agua suministrada por la red potable.

El acceso de las vacas a la sala se realiza a través de un patio de espera con piso de tierra, con buenas condiciones de drenaje e higiene. En general, el estado de limpieza de las vacas al ingresar a la sala de ordeña era adecuado, observándose con muy baja frecuencia suciedad en la ubre (barro o fecas). Las vacas son sometidas periódicamente al corte del mechón de la cola.

El total de vacas en ordeña durante todo el período de estudio fluctuó entre 40 y 47. Las ordeñas de la mañana y de la tarde, habitualmente se iniciaban y terminaban a las 05:30 y 07:15 horas, y 15:20 y 17:00 horas, respectivamente. En la sala trabajaban 2 ordeñadores, equipados sólo con botas de agua y pechera de plástico, careciendo de otros elementos (gorro y overol), que conforman la indumentaria adecuada de un ordeñador (Heimlich y Carrillo, 1995; Carrillo, 1997). Los ordeñadores lavaban frecuentemente sus manos en el transcurso del ordeño y se preocupaban de mantener limpio el piso de la sala utilizando agua a presión.

La rutina de ordeña puede resumirse de la siguiente forma: examen de los primeros chorros en el piso de la sala, lavado manual de pezones con chorro de agua, sin secarlos y colocación de la unidad de ordeña. Además, se efectuaba repaso a máquina, dipping de pezones y lavado de la unidad de ordeña entre vacas, mediante inmersión en baldes con agua, cambiada frecuentemente durante la ordeña. Se utilizaban maneas sólo en las vacas intranquilas.

El procedimiento de lavado del equipo después de la ordeña de la mañana, consistía en un lavado de las unidades de ordeña con un detergente alcalino-clorado y agua caliente, realizándose posteriormente un enjuague de las unidades. El lavado de las unidades se realizaba mediante recirculación, sin escobillar las pezoneras, los colectores y las mangueras largas de leche. Los tarros lecheros sólo se sometían a un enjuague con agua fría, procediéndose a su lavado previo al inicio de la ordeña de la tarde, en el cual se utilizaba agua fría y un detergente de uso doméstico, efectuándose además un cepillado prolijo y enjuague de los mismos. Una vez terminada la ordeña de la tarde, las unidades sólo se sometían a un enjuague con agua fría. La rutina de lavado de ambas ordeñas no contemplaba el uso de higienizantes. Quincenalmente, se realizaba un lavado ácido con agua fría de las unidades de ordeña y tarros.

El equipo de ordeña se encontraba en regular estado de mantenimiento, habiéndose realizado el último cambio de mangueras de leche hace 6 años, lo que representa 5 años de sobreutilización. Las pezoneras tenían 7 meses de uso; lo que excede en 1 mes el período máximo de servicio, independientemente del

número de vacas ordeñadas Considerando este último factor, las pezoneras deberían haberse cambiado hace 4 meses (Alfa Laval Agri, 1996; Hardy, 1999).

El almacenamiento de la leche se hacía en tarros, mantenidos a temperatura ambiente en la sala de ordeña (ordeña de la mañana) y sumergidos en un pozo de agua a la intemperie (ordeña de la tarde). La duración del período de almacenamiento (fin de ordeña hasta el momento de la recolección), era de aproximadamente 15 minutos y 15 horas, para las ordeñas de la mañana y la tarde, respectivamente.

La recolección de la leche obtenida en ambas ordeñas se efectuaba durante la mañana, mediante un camión con un estanque de fibra, el cual no contaba con un sistema de bombeo de leche, por lo que ésta era vaciada manualmente desde los tarros al estanque, efectuándose el filtrado de la leche mediante un colador metálico. El lapso comprendido entre la recolección y la recepción de la leche en el acopio, fluctuaba entre 2 y 2,5 horas.

Productor 2

El sistema de producción de leche también se basaba en el pastoreo y no se utilizaba ningún tipo de confinamiento para las vacas. La sala de ordeña estaba ubicada dentro de un galpón de madera, con piso de concreto, que además se empleaba para alojar los terneros. El agua utilizada en la preparación de las vacas y lavado de los equipos provenía de la red potable. El diseño de la sala corresponde a una espina de pescado de una hilera, con capacidad para 6 vacas, efectuándose la ordeña mediante un equipo de 2 unidades, directo a tarro. El exceso de puestos de ordeña, en relación al número de unidades, constituye un defecto común de las instalaciones de ordeña mecánica de los productores de los CAL de la Región Metropolitana (Durandal, 2003). Debido a que no es posible alinear adecuadamente las unidades para ordeñar algunas vacas, se ven favorecidos los deslizamientos de pezoneras (Alfa Laval Agri, 1996), fenómeno que al igual que las caídas de las unidades de ordeña, fue observado con cierta frecuencia en el transcurso del estudio.

No existe un área delimitada donde se concentren las vacas antes de su ingreso a la sala de ordeña. El estado de limpieza de las vacas previo a la ordeña presentó variaciones durante el transcurso del estudio, pero habitualmente sólo se observó suciedad en la ubre y tren posterior de algunas vacas. Las vacas no eran sometidas al corte del mechón de la cola.

El total de vacas en ordeña durante todo el período de estudio fue 8. La ordeña comenzaba a las 07:00 horas y terminaba entre 08:00 y 08:30 horas. El mismo productor efectuaba la ordeña, sin utilizar ninguno de los elementos que según Heimlich y Carrillo (1995) y Carrillo (1997) conforman una indumentaria apropiada (gorro, overol, pechera y botas de goma). El piso de la sala no se mantenía en buenas condiciones higiénicas durante la ordeña, debido a que no se efectuaba ningún tipo de limpieza de la orina y las fecas. Frente a la caídas de las unidades de ordeña, éstas se volvían a colocar sin realizar un lavado previo.

La preparación para la ordeña consistía sólo en un lavado de la ubre que no se circunscribía a los pezones (manguera o balde con agua). Se maneaba a todas las vacas y se ordeñaba con presencia de un ternero para favorecer la bajada de la leche.

El lavado de las unidades de ordeña y del tarro que conformaba el equipo, se realizaba después de entregar la leche en el acopio, utilizando agua fría y un detergente alcalino-clorado, sin cepillado. No se efectuaba higienización de las unidades de ordeña ni de los tarros. Quincenalmente se realizaba un lavado ácido con agua fría de las unidades y tarros.

Las mangueras de vacío y de leche se encontraban en el límite de su vida útil (1 año) y las pezoneras se debieron haber cambiado hace 6 meses (Alfa Laval Agri, 1996; Hardy, 1999). Las mangueras de leche y las pezoneras presentaban un estado de deterioro evidente a la inspección, observándose abundante presencia de residuos, porosidad excesiva y agrietamiento.

La leche se almacenaba en tarros, después de ser filtrada mediante un paño. La duración de este período era variable, pero en general el productor intentaba reducirlo al mínimo posible y en ningún caso excedía de 30 minutos.

El mismo productor transportaba la leche al acopio, en un vehículo motorizado de su propiedad, empleando un tiempo no mayor a 15 minutos.

4.3. FASE 2

Basado en las deficiencias detectadas en la rutina de ordeña, sistema de lavado de los equipos y tarros, estado de mantención de los equipos y en una evaluación técnica de los mismos efectuada por especialistas de De Laval, se establecieron los cambios que se describen a continuación, los cuales constituyen las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica a evaluar en la fase 2.

Productor 1

Rutina de ordeña: Se mantuvo la rutina habitual, pero se incorporó el uso del jarro de fondo oscuro para el examen de los primeros chorros de leche y el secado de los pezones mediante toallas de papel desechables en la preparación de las vacas.

Lavado del equipo (unidades de ordeña y tarros): Se cambió la rutina habitual por el siguiente esquema de lavado e higienización:

- Enjuague inicial con agua tibia (40°C), sin recircular, hasta que ésta salga limpia.
- Lavado con detergente alcalino-clorado, con una temperatura inicial de 70°C (mínimo 2 recirculaciones). Cepillado de pezoneras, colectores y mangueras de leche.
- Enjuague final con agua fría.
- Higienización con 200 ppm de cloro disponible en agua fría por 3 minutos, 30 minutos antes de la siguiente ordeña.

- Semanalmente, lavado con detergente ácido con agua a 70°C (mínimo 2 recirculaciones, después de enjuagar la solución de detergente alcalino-clorado). Cepillado de pezoneras, colectores, mangueras de leche y tarros, y enjuague posterior con agua fría.

Lavado de tarros: Se cambió la rutina habitual por el siguiente esquema de lavado:

- Enjuague inicial con agua fría hasta que salga limpia.
- Lavado manual con la misma solución de detergente alcalino-clorado utilizada en el lavado del equipo, complementado con el cepillado de toda la superficie interna de los tarros y tapas.
- Enjuague final con agua fría y dejar estilar hasta la siguiente ordeña.

Para calentar el agua se utilizó una cocina a gas licuado y un recipiente metálico de 30 litros de capacidad. Parte del agua caliente se mezcló con agua fría en un balde de 20 litros de capacidad, controlándose la temperatura del enjuague inicial (40°C), mediante un termómetro. El resto del agua caliente se empleó en el lavado de los equipos y tarros, controlándose también su temperatura mediante un termómetro.

Cambios de componentes del equipo: Se retiraron los elementos sobreutilizados y aquellos que se encontraron en mal estado durante la inspección técnica, reemplazándose la totalidad de las pezoneras, mangueras de leche, mangueras de pulsación y los componentes de goma de los colectores, por elementos nuevos. Además, se instaló un colector nuevo y una empaquetadura para tapa de tarro.

Productor 2

Rutina de ordeña: El primer cambio fue ordeñar sin ternero, estableciéndose una rutina que incluyó el examen de los primeros chorros de leche en un jarro de fondo oscuro, y el lavado y secado de los pezones con toallas de papel desechables. Además, se incorporó el dipping de pezones como medida de prevención de mastitis.

En el anexo 1 se resume la rutina de ordeña completa recomendada a los productores 1 y 2, la cual se dejó por escrito en ambos predios.

Lavado del equipo y tarros: Se instauró la misma rutina descrita para el productor 1. El procedimiento para obtener agua caliente y tibia, así como el control de su temperatura, fue similar al descrito para el productor 1, excepto que en este caso se utilizó leña como fuente de calor.

En el anexo 2 se entrega información adicional sobre la rutina de lavado, y los productos utilizados para limpiar y sanitizar los equipos y tarros lecheros de los productores 1 y 2.

Cambios de componentes del equipo: Se colocaron pezoneras y mangueras de leche nuevas en las 2 unidades de ordeña, y se reemplazó la manguera de vacío que conecta el tarro del equipo con la cañería de vacío.

4.4. MUESTRAS DE LECHE DE TARROS

4.4.1. Esquema de Muestreo

Durante ambas fases del estudio se realizaron muestreos de leche de los tarros, en las ordeñas de la tarde y de la mañana (productor 1), y en la ordeña de la mañana (productor 2). Los puntos de muestreo fueron fin de ordeña, fin de almacenamiento predial y fin de recolección en el CAL.

Productor 1

Fin de ordeña: Ordeñas de la tarde y de la mañana

Fin de almacenamiento predial: Sólo se obtuvo una muestra para la ordeña de la tarde; para la ordeña de la mañana se utilizó la misma muestra obtenida al final de la ordeña, debido al corto período de almacenamiento predial (<10 minutos).

Fin de recolección en el CAL: Ordeñas de la tarde y de la mañana. Debido a que la recolección de la leche de ambas ordeñas era efectuada por un camión del acopio que hacía un solo recorrido diario en la mañana, mezclándose la leche de distintos predios en el estanque del camión, se tomaron muestras de los tarros de cada ordeña, justo antes de su vaciado al camión, las cuales se mantuvieron durante 2 horas a temperatura ambiente para simular las condiciones habituales de recolección y transporte de leche.

Fin de almacenamiento a temperatura ideal en el CAL: Ordeñas de la tarde y de la mañana. Con el fin de simular condiciones ideales de almacenamiento refrigerado en el estanque de un acopio, las muestras utilizadas para estimar el recuento bacteriano de la leche al término de la recolección, se almacenaron durante 2 horas en un refrigerador a 4°C, controlándose la temperatura con un termómetro.

Mantención a temperatura ideal desde el fin de la ordeña hasta el término del almacenamiento en el estanque del CAL: Se tomó una muestra de leche al término de la ordeña de la tarde, la cual fue mantenida en un frasco a 4°C durante 18 horas, con el fin de simular condiciones ideales de temperatura durante el almacenamiento predial, el transporte al CAL y el almacenamiento en el estanque del acopio. Dado que la mayor parte de este tiempo correspondió al almacenamiento, esta medición permite estimar el efecto de la refrigeración sobre el recuento bacteriano durante un período de almacenamiento predial prolongado.

Productor 2

Fin de ordeña, almacenamiento predial y recolección en el CAL: Se obtuvieron muestras de leche de tarro al finalizar la ordeña de la mañana y al término del almacenamiento predial (<30 minutos) y de la recolección en el CAL (<15 minutos).

Fin de almacenamiento a temperatura ideal en el CAL: Antes que la leche fuera recibida por el acopiador, se obtuvo una muestra que fue mantenida a 4°C durante

2 horas, para simular condiciones ideales de refrigeración en el estanque de un acopio.

Mantención a temperatura ideal desde el fin de la ordeña hasta el término del almacenamiento en el estanque del CAL: Se tomó una muestra de leche al término de la ordeña, la cual fue mantenida en un frasco a 4°C durante 4 horas, con el fin de simular condiciones ideales de temperatura durante el almacenamiento predial, el transporte al CAL y el almacenamiento en el estanque en el acopio. Dadas las breves duraciones del almacenamiento y del transporte, esta medición permite estimar el efecto de la refrigeración sobre el recuento bacteriano durante un período de almacenamiento predial corto.

Se realizaron 4 muestreos consecutivos con intervalos de una semana durante cada fase del estudio, con el fin de evaluar en los puntos descritos los niveles de recuento bacteriano total en la leche (RBT). Estos muestreos se hicieron a partir del 6 de marzo (fase 1) y 5 de junio de 2000 (fase 2). Además, durante la tercera semana de muestreo de leche para análisis de RBT, en cada fase del estudio se efectuó un solo muestreo para determinar en los mismos puntos los recuentos de bacterias termodúricas (RT), psicrótrofas (RP) y coliformes totales (RC).

4.4.2. Procedimientos de Obtención y Análisis de las Muestras

Para la toma y envío de las muestras al laboratorio con fines de análisis de RBT, se siguieron las instrucciones de los protocolos de la Unidad Instrumental del Laboratorio de Calidad de Leche de Cooprinsem, Osorno. En primer lugar, se empleó un agitador limpio para homogeneizar la leche de cada tarro durante 5 minutos. A continuación, mediante un cucharón limpio, previamente flameado con alcohol 95° por 5 minutos, se obtuvieron alícuotas desde el fondo de cada tarro, representativas del volumen de leche contenido en los mismos y en cantidad suficiente como para realizar los análisis, las cuales se depositaron en un frasco limpio e higienizado, identificado por productor, fecha y punto de muestreo (Duran Shott, 500 ml).

Posteriormente, se extrajo de cada frasco aproximadamente 50 ml de leche, los cuales se depositaron en un envase estéril proporcionado por el laboratorio para la determinación del RBT, agregándose inmediatamente 5 gotas de azidol (0,12% azida de sodio + 0,005% cloranfenicol), bacteriostático que detiene la proliferación bacteriana por más de 3 días (Suhren *et al.*, 1991). Una vez cerrado e identificado el envase, éste se mantuvo a temperatura de refrigeración hasta su análisis, dentro del plazo de acción del bacteriostático.

En el caso de los recuentos bacterianos complementarios (RT, RP y RC), se siguió un procedimiento similar para los mismos puntos de muestreo, exceptuando la adición de azidol a la leche y que las muestras se mantuvieron congeladas por un máximo de 30 días hasta su análisis.

Las muestras mantenidas en refrigeración y las sometidas a congelación, se enviaron al Laboratorio de Calidad de Leche de Cooprinsem (Osorno), acompañadas de una planilla de recepción de muestras proporcionada por el laboratorio, en cajas térmicamente aisladas provistas de una fuente de frío (hielo gel), recepcionándose en el laboratorio a una temperatura no mayor de 7°C. Las cajas se enviaron vía terrestre (bus interprovincial), llegando como máximo a las 40 horas de iniciado el muestreo.

El RBT se realizó en la Unidad Instrumental del Laboratorio de Calidad de Leche de Cooprinsem, mediante el Bactoscan 8000. Las pruebas bacteriológicas complementarias (RT, RP y RC), se hicieron en la Unidad Bacteriológica del mismo laboratorio. Para el RP se sembró 0,01 ml de leche en placas de agar sangre ovino 7%, las que se incubaron a 6°C por 7 días. En el caso del RT, las muestras fueron previamente pasteurizadas a 60°C durante 30 minutos, para luego sembrar 0,01 ml de leche en placas de agar sangre ovino 7% e incubarlas a 37°C por 48 horas. El RC se realizó sembrando leche diluida con suero fisiológico (1:10), en placas de Petrifilm®, las cuales se incubaron a 37°C durante 48 horas.

4.5. MUESTRAS DE LECHE DE VACAS

Se obtuvo muestras individuales de leche de algunas vacas en ordeña de los productores 1 (22 vacas) y 2 (5 vacas), con la finalidad de estimar la contribución de éstas a la carga bacteriana de la leche medida al término de la ordeña. Este muestreo se efectuó en una sola oportunidad, utilizando medidores proporcionales de leche rigurosamente lavados y sanitizados, inmediatamente después de realizados los cambios de los componentes de los equipos e implementado el procedimiento para su lavado e higienización durante la fase 2 del estudio, cuyo detalle aparece en el anexo 2.

Las muestras individuales, identificadas con el número de las vacas y del productor, fueron preservadas con azidol y enviadas a la Unidad Instrumental del Laboratorio de Calidad de Leche de Cooprinsem, utilizando los procedimientos descritos para las muestras de leche de tarros. En estas muestras se realizaron sólo determinaciones de RBT, utilizando también el Bactoscan.

4.6. OTRAS DETERMINACIONES

Se efectuó un análisis químico y bacteriológico de las fuentes de agua de ambos predios, en el Laboratorio Químico y Sanitario Carlos Latorre S.A., Santiago. La obtención y transporte de las muestras se realizó de acuerdo al protocolo de muestreo de dicho laboratorio, cuyas indicaciones para la toma de muestras destinadas a análisis bacteriológico en general coinciden con el procedimiento recomendado por Magariños (1978).

Las muestras para análisis bacteriológicos se depositaron en frascos esterilizados, después de dejar correr el agua de la llave de la sala de ordeña durante 3 minutos. A continuación, se utilizó otro envase para obtener las muestras destinada a análisis químico. Después de ser identificadas, las muestras fueron transportadas al laboratorio en neveras con hielo gel dentro del mismo día de su recolección. Los análisis bacteriológicos del agua incluyeron la determinación del recuento

bacteriano total, mediante recuento estándar en placa (incubación a 35°C por 48 horas), el recuento de coliformes totales (NMP) y de coliformes fecales (NMP), de acuerdo a la NCh 1620/1 Of 1984 Agua Potable-Determinación de Bacterias Coliformes Totales-Parte 1: Método de los Tubos Múltiples (NMP), (Chile-INN, 1984a). En las muestras destinadas a análisis químico, se determinó el pH (potenciómetro) y la dureza total (CaCO₃).

Los resultados que se presentan en el anexo 3 indican que los productores 1 y 2 disponían de agua con una calidad higiénica satisfactoria para las labores de ordeña y el lavado de los equipos y tarros, puesto que tanto el recuento de bacterias mesófilas como los recuentos de coliformes totales y coliformes fecales, presentaron valores que denotan una buena calidad higiénica (<100 ufc/ml para el recuento de bacterias mesófilas y <2 ufc/100ml para el recuento de coliformes) y que cumplen con lo establecido en diferentes normas y recomendaciones (Agüero *et al.*, 1987; OMS, 1966, citado por Pedraza, 1999; Pedraza, 1999), por lo que se descartó las fuentes de agua como un factor de contaminación de la leche. Estos niveles de calidad higiénica del agua son consistentes con los encontrados en un muestreo que abarcó 12 productores de los CAL de María Pinto (Agüero *et al.*, 2000) y se comparan favorablemente con lo descrito en varios estudios efectuados en predios lecheros de mayor tamaño, en los cuales se ha comprobado en general recuentos muy elevados de bacterias mesófilas y coliformes en las fuentes de agua (Dumont, 1979; Agüero *et al.*, 1987; Peirano, 1991; Donnay, 1996; Pedraza, 1999).

Con respecto a las características químicas del agua, el principal aspecto a considerar es la dureza, medida en este estudio en términos de dureza total. Los niveles de carbonato de calcio (CaCO₃) alcanzaron a 162,9 y 122,6 mg/l; para las fuentes de agua de los productores 1 y 2, respectivamente (Anexo 3). Ello corresponde a aguas duras (150-300 mg/l) y medianamente blandas (70–150 mg/l). Los valores se encuentran dentro del rango informado en algunos estudios para fuentes de agua de lecherías ubicadas en la Región Metropolitana (Dumont, 1979; Pedraza, 1999), así como de algunos predios proveedores de los

CAL de María Pinto (Agüero *et al.*, 2000). Este es un factor importante de considerar en la producción de leche de buena calidad, ya que las aguas duras disminuyen la eficiencia del lavado de las máquinas de ordeña, al favorecer la formación de residuos de difícil remoción mediante los detergentes alcalino-clorados (piedra de leche), razón por la cual se incorporó el uso periódico de un detergente ácido en la rutina de lavado recomendada a ambos productores, enfatizándose el escobillado de los componentes de las unidades de ordeña y tarros para prevenir y eliminar estas incrustaciones (Pedraza, 1988; Hardy, 1999).

Finalmente, se evaluó el estado higiénico de las unidades de ordeña y los tarros lecheros a través de los recuentos de bacterias totales y termodúricas. Para los tarros se empleó el método de enjuague con solución Ringer estéril, recomendado por el Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (1968), citado por Bidegain (1976), descrito en detalle por Bidegain (1976) y Magariños (1978). En la evaluación del estado higiénico de las unidades de ordeña, se utilizó una técnica de arrastre basada en el método anterior, obteniéndose muestras de enjuagues con suero Ringer de las unidades de ordeña y mangueras de leche, después de agitarlas durante 10 minutos.

Las muestras fueron almacenadas en neveras con hielo gel y analizadas dentro del día de su obtención en el Laboratorio de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Para determinar el recuento bacteriano total, se utilizó el recuento estándar en placa, o recuento de aerobias mesófilas, con incubación a 32°C por 48 horas. El recuento de bacterias termodúricas, se efectuó pasteurizando (60°C) las muestras durante 30 minutos y luego se sembró 0,01 ml en placas de agar sangre ovino 7% e incubó a 37°C por 48 horas.

4.7. ANALISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos para el RBT en leche durante ambas fases del estudio, se tabularon por productor y horario de ordeña, calculándose los promedios

aritméticos para los distintos puntos de muestreo (PA). Además, se calcularon los promedios de RBT a partir de los \log_{10} de los valores de RBT determinados en los 4 muestreos (PL).

Considerando el diseño del estudio (estudio de casos), los resultados se analizaron descriptivamente, determinándose los cambios experimentados por el RBT de la leche desde el fin de la ordeña hasta la recepción en el CAL. Mediante los RBT obtenidos en las muestras de leche individuales (vacas), se estimó la contribución relativa de esta fuente de contaminación al RBT del fin de ordeña. En el caso de la leche mantenida bajo condiciones óptimas de refrigeración (simulación en frascos), se establecieron las diferencias entre el RBT final e inicial para cada uno de los períodos simulados, efectuándose además, cuando correspondiera, comparaciones con la evolución observada del RBT bajo condiciones de almacenamiento de la leche a temperatura ambiente durante los mismos períodos.

La evaluación de las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica se efectuó por estudio de casos (productor 1, ordeña de tarde; productor 1, ordeña de la mañana y productor 2, ordeña de la mañana) y se basó en la comparación de los RBT de la leche determinados durante las fases 1 y 2. Esta evaluación se complementó con un análisis de los cambios experimentados por los niveles de la calidad bacteriológica de la leche, después de instauradas las medidas de mejoramiento, para lo cual se consideraron diversos estándares de calidad (Cousins y Bramley, 1981; Pedraza *et al.*, 1987; Shearer *et al.*, 1992; Agüero, 1995; Fundación Chile, 1997; Booth, 1998; Philpot, 1999), estableciéndose como calidad bacteriológica aceptable un RBT <100.000 ufc/ml.

Además, se estimó el efecto que podría tener para ambos productores el mejoramiento de la calidad bacteriológica, si comercializaran la leche en mercados más exigentes en cuanto a calidad. Para ello, se simuló la aplicación de la pauta de pago de Soprole S.A., Santiago, de marzo de 2002², utilizando los PA y PL de

² Rippes, M. 2002. [Comunicación Personal]. Pauta de pago. Soprole.

RBT determinados al final de la recolección en las 2 fases del estudio. Se consideró ambos tipos de promedio, porque para efectos del establecimiento de las bonificaciones y castigos por calidad bacteriológica, esta pauta de pago contempla el cálculo del PA de RBT ponderado por el volumen de leche entregado quincenalmente. Dado que el recuento bacteriano total no se distribuye normalmente, la aplicación de la pauta de pago utilizando los PL de RBT, permitiría disminuir la influencia eventual de valores extremos de recuento sobre el promedio aritmético; lográndose con ello un efecto similar al conseguido con el cálculo del promedio geométrico de RBT, como ha sido establecido por las normativas de la Unión Europea con fines de pago de leche según calidad, tanto para el recuento bacteriano como el recuento de células somáticas (Agüero, 1995; Booth, 1998).

Los resultados obtenidos por productor y horario de ordeña para las pruebas bacteriológicas complementarias en leche se analizaron en términos descriptivos, por punto de muestreo, antes y después de implantar las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica, y se utilizaron fundamentalmente como indicadores de las condiciones higiénicas de obtención, almacenamiento y transporte de la leche. Compatibilizando recomendaciones de diversas fuentes (Tatini *et al.*, 1965; Thomas y Druce, 1971; Lück, 1972; Thomas y Thomas, 1973; citados por Cousin, 1982; Pedraza *et al.*, 1987; Shearer *et al.*, 1992; Gamroth y Bodyfelt, 1993; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Fernández y Prüsing, 2002), se consideró como límites de clasificación de una leche de buena calidad los siguientes valores; RT <300 ufc/ml, RP <20.000 ufc/ml, RC <200 ufc/ml.

Finalmente, en forma complementaria a las evaluaciones de los recuentos bacterianos de la leche, se estimó el efecto del reemplazo de los componentes del equipo de ordeña y del cambio en la rutina de lavado del equipo y tarros lecheros sobre su estado higiénico, comparando descriptivamente los niveles de recuento bacteriano total y de bacterias termodúricas de las muestras de enjuagues determinados durante las fases 1 y 2 del estudio. Además, se evaluó el recuento bacteriano total de los tarros lecheros de acuerdo a la siguiente clasificación

(Ministry of Agriculture and Fisheries, 1944, citado por Bidegain, 1976):
satisfactorio (≤ 50.000 ufc/tarro), regular (> 50.000 y < 250.000 ufc/tarro) e
insatisfactorio (> 250.000 ufc/tarro).

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. FUENTES DE CONTAMINACION DE LA LECHE (FASE 1)

5.2.1. Recuento Bacteriano Total

5.2.1.1. Productor 1: Ordeña de la tarde

Como observa en el cuadro 1 y en la Fig. 1, el RBT de la leche al finalizar esta ordeña fluctuó entre 11.000 y 22.000 ufc/ml, con un PA de 19.000 ufc/ml y un PL de 18.000 ufc/ml, valores que se encuentran claramente bajo el límite de 100.000 ufc/ml (Cousins y Bramley, 1981; Pedraza *et al.*, 1987; IDF, 1991; Shearer *et al.*, 1992; Agüero, 1995), y que de acuerdo a diferentes criterios o recomendaciones corresponden a una leche de buena calidad bacteriológica: ≤ 50.000 ufc/ml (Lück, 1972; Hamann, 1997; Reinemann *et al.*, 1997; 2000) y ≤ 25.000 ufc/ml (Philpot, 1999).

No obstante, después de 15 horas de almacenamiento en el predio a temperatura ambiente, los recuentos bacterianos de la leche aumentaron notoriamente, a niveles del orden de 200.000-900.000 ufc/ml, con un PA de 572.000 ufc/ml y un PL de 513.000 ufc/ml (Cuadro 1, Fig. 1). Ello representa un incremento de aproximadamente 30 veces en el recuento bacteriano inicial determinado al finalizar la ordeña y denota una leche de mala calidad bacteriológica (Cousins y Bramley, 1981; Pedraza *et al.*, 1987; IDF, 1991; Shearer *et al.*, 1992; Agüero, 1995). Este resultado es compatible con lo informado por diversos autores, en cuanto a que el RBT puede exhibir un aumento considerable cuando la leche se almacena a temperatura ambiente, incluso a temperaturas del orden de 15,5°C (Gehrig, 1981; Philpot, 1995; Romero, 1995; Kruze, 1997). Al respecto, Philpot (1995) señala que en un período de 12 horas, el recuento bacteriano inicial puede aumentar 5, 15 y 700 veces, para temperaturas de almacenamiento de 10, 16 y 21°C, respectivamente; registrándose incrementos mucho más elevados, cuando la temperatura ambiente supera los 20°C.

Los niveles de RBT determinados en todos los muestreos de leche de tarros al término de la ordeña de la tarde, se ubican en el rango inferior de los límites fijados por las plantas lecheras nacionales para la leche de más alta calidad bacteriológica, los cuales han fluctuado en años recientes entre 10.000 y 50.000 ufc/ml (Kruze, 1998; 1999; 2000). Por lo tanto, el almacenamiento no refrigerado de la leche de la ordeña de la tarde hasta la mañana siguiente, constituiría un factor importante de deterioro del buen nivel inicial de calidad bacteriológica de leche de este productor, con las consecuencias económicas que ello implicaría, si la leche se comercializara en el mercado de las industrias lecheras con pautas de pago según calidad, en vez de una planta quesera que no contempla estos aspectos en el pago de la leche. Así, por ejemplo, la pauta de pago de Soprole S.A., Santiago, de marzo de 2002, establecía un máximo de 10% de castigo para leches con recuentos bacterianos >300.000 ufc/ml, mientras que con recuentos <30.000 ufc/ml, como los determinados al finalizar la ordeña de la tarde, el precio aumentaría un 14% por obtención de la bonificación máxima (Agüero, 2002a; b).

Los resultados corroborarían que el almacenamiento en tarros a temperatura ambiente durante un tiempo excesivo, causa un aumento importante en el RBT de la leche de los proveedores de los CAL (Carrillo y Vidal, 1999). Este incremento correspondería a la fase logarítmica de crecimiento bacteriano, durante la cual las bacterias crecen de acuerdo a un índice exponencial, hasta que algún factor del medio limita su multiplicación. La fase logarítmica de crecimiento bacteriano puede desencadenarse rápidamente, después de una corta fase de latencia, de nulo o bajo crecimiento, incluso para niveles de contaminación inicial de la leche relativamente bajos, como se evidenció en los muestreos de fin de ordeña de la tarde de este productor, si la temperatura de almacenamiento es inadecuada (Marriott, 1999).

Por otra parte, los resultados denotarían una situación análoga a la descrita en CAL de la X Región, donde se registra una tendencia mayoritaria a retirar la leche sólo un vez al día durante el período otoño-invierno (Vidal *et al.*, 1997). Lerdón *et al.* (1996; 1998), citados por Carrillo y Vidal (1999), identifican como factor

limitante para mejorar la calidad bacteriológica, la eliminación de los recorridos de la tarde para el transporte de la leche desde los predios al CAL. Ello refleja la gran influencia que ejerce la temperatura ambiente sobre el crecimiento bacteriano, en leche de la ordeña de la tarde almacenada hasta la mañana siguiente

Si la leche se transportara separadamente de la entregada al CAL por los demás productores (simulación de la recolección en frascos mantenidos durante 2 horas a temperatura ambiente), probablemente no habría un incremento adicional importante de la elevada carga bacteriana existente al término del período de almacenamiento predial. Los resultados de la evaluación del RBT de la leche almacenada en estos frascos, indican que los recuentos aumentaron levemente entre el fin del almacenamiento predial y el fin del período de recolección simulado. Los PA correspondientes a dichos puntos de muestreo alcanzaron a 572.000 y 608.000 ufc/ml, lo que representaría un incremento de un 6% en el RBT al término del proceso de recolección; mientras que los PL fueron 513.000 y 562.000 ufc/ml, denotando un incremento del 10% (Cuadro 1, Fig. 1).

La simulación del almacenamiento de la leche en el estanque del CAL, mediante frascos mantenidos bajo refrigeración durante 2 horas a partir de su recepción en el acopio, también indicó que no se registran grandes incrementos en el RBT. En promedio, el aumento del RBT de la leche alcanzó sólo a un 8% (PA) y 7% (PL). Por su parte, la leche obtenida al final de la ordeña, mantenida en frascos a una temperatura de 4°C durante 18 horas, exhibió incrementos relativamente moderados en los recuentos bacterianos al término de dicho período, los cuales en promedio equivalen aproximadamente a la duplicación de la carga bacteriana inicial (34.000 vs. 19.000 ufc/ml y 31.000 vs. 18.000 ufc/ml), (Cuadro 1, Fig. 1).

Este resultado, en primer lugar, corrobora la importancia que reviste la refrigeración para prevenir el crecimiento bacteriano y, por ende, mantener niveles satisfactorios de calidad bacteriológica (Edmonson y Williamson, 1995; Romero, 1995; Agüero, 1997; Kruze, 1997; Philpot, 1999). Además, al relacionarlo con los otros resultados obtenidos en la evaluación del RBT de la leche de la ordeña de la tarde, es posible deducir que correspondería fundamentalmente al efecto que

ejerce la refrigeración durante el almacenamiento de la leche de la ordeña de la tarde, cuya duración es de aproximadamente 15 horas y representa la mayor proporción del tiempo de almacenamiento de la leche bajo refrigeración permanente en frascos (18 horas).

El incremento del RBT de fin de ordeña (aproximadamente x 2), después de 18 horas de almacenamiento refrigerado de la leche, es compatible con lo informado en la literatura, considerando que pueden registrarse variaciones importantes entre muestras en las tasas de crecimiento bacteriano, dependiendo de factores como el nivel de contaminación inicial y el tipo de flora bacteriana predominante (Cousins y Bramley, 1981). De acuerdo a algunos antecedentes bibliográficos recopilados por Romero (1995), el RBT de la leche se mantendría constante después de 24 horas de almacenamiento refrigerado, para muestras con un recuento inicial de 4.300 ufc/ml; verificándose en el mismo lapso una duplicación de éste en aquellas con un recuento inicial de 40.000 ufc/ml. En un estudio efectuado con muestras de leche refrigeradas y de un nivel de contaminación inicial similar (36.750 ufc/ml), no se observó un cambio del RBT al cabo de 24 horas de almacenamiento (Godoy, 1985).

Finalmente, los resultados son consistentes con lo señalado en la literatura, en el sentido que el almacenamiento refrigerado de la leche permite disminuir las tasas de multiplicación bacteriana, al fijar la temperatura por debajo del óptimo de crecimiento de las bacterias mesófilas. De esta forma, es posible conservar pero no mejorar la calidad bacteriológica inicial, dado que la refrigeración sólo inhibe la proliferación bacteriana en la leche, pero su efecto puede variar dependiendo del nivel de contaminación inicial y de la flora bacteriana predominante, así como de la duración del período de almacenamiento (Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; b; Romero, 1995).

Cuadro 1. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1

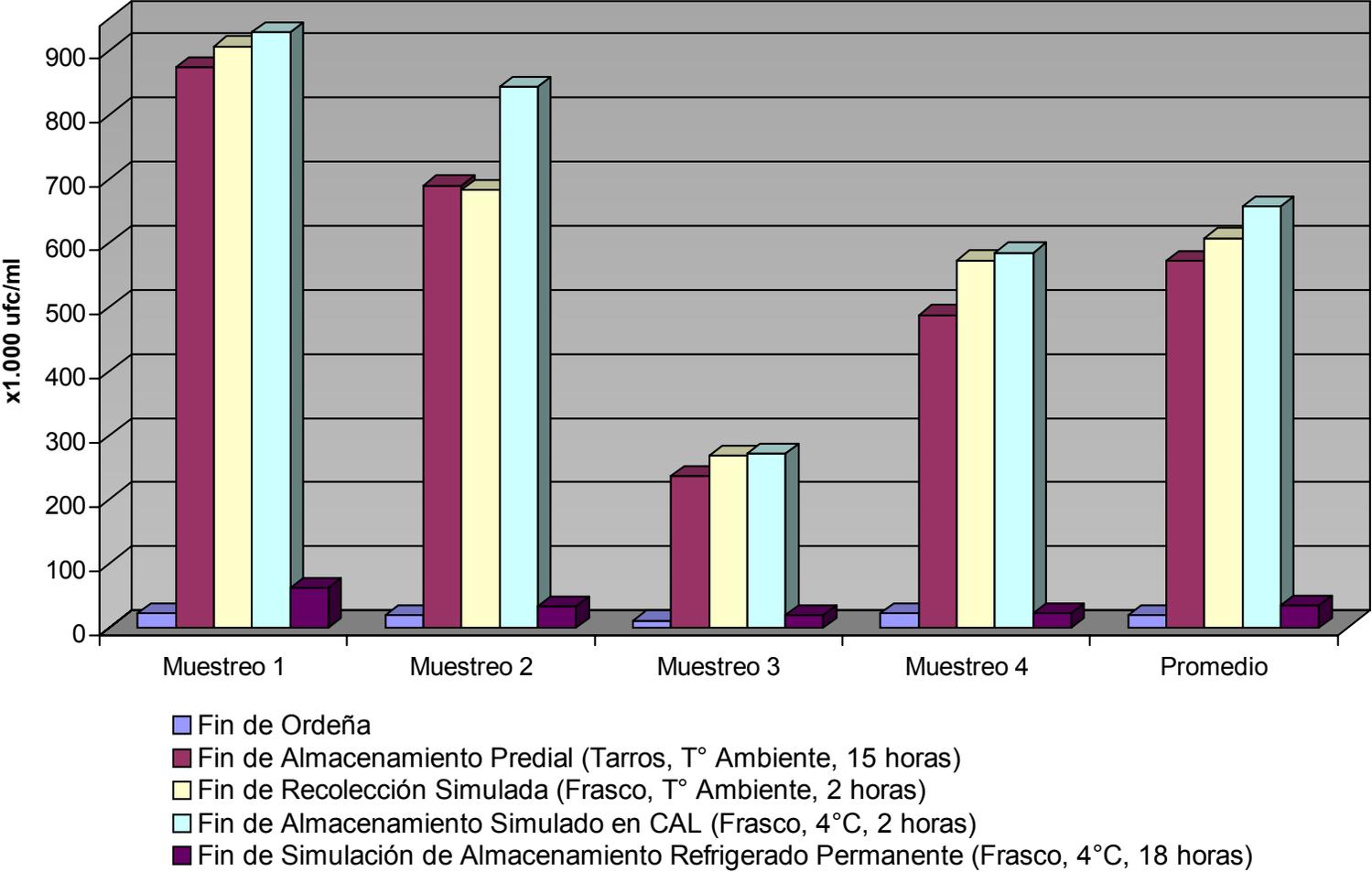
Puntos de Muestreo	Muestreo				PA	PL
	1	2	3	4		
Fin de Ordeña	22 (4,34)	20 (4,30)	11 (4,04)	22 (4,34)	19 (4,26)	18
Fin de Almacenamiento Predial (Tarros, T° Ambiente, 15 horas)	874 (5,94)	690 (5,84)	237 (5,37)	488 (5,69)	572 (5,71)	513
Fin de Recolección Simulada (Frasco, T° Ambiente, 2 horas)	907 (5,96)	683 (5,83)	269 (5,43)	573 (5,76)	608 (5,75)	562
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	929 (5,97)	844 (5,93)	272 (5,43)	585 (5,77)	658 (5,78)	603
Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente (Frasco, 4°C, 18 horas)	62 (4,79)	33 (4,52)	19 (4,28)	23 (4,36)	34 (4,49)	31

(): Valores entre paréntesis expresados en log₁₀

PA: Promedio aritmético

PL: Promedio log₁₀ transformado a ufc (x 1.000 ufc/ml)

Fig. 1. Recuento bacteriano total (X1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1



5.1.1.2. Productor 1: Ordeña de la mañana

Los resultados obtenidos para el RBT de la leche al término de la ordeña de la mañana (Cuadro 2, Fig. 2), se asemejan a los encontrados al finalizar la ordeña de la tarde (Cuadro 1, Fig.1) y denotan también una buena calidad bacteriológica de la leche (Lück, 1972; Shearer *et al.*, 1992; Hamann, 1997; Reinemann *et al.*, 1997; Philpot, 1999; Reinemann *et al.*, 2000). Los valores de recuento tendieron a ser algo menores, variando entre 8.000 y 19.000 ufc/ml, con un PA de 14.000 ufc/ml y un PL de 13.000 ufc/ml para los 4 muestreos; ubicándose todos ellos bajo el límite de 20.000 ufc/ml señalado por Shearer *et al.* (1992) para una leche de buena calidad bacteriológica. No obstante, al aplicar estándares más rigurosos de calidad, como los propuestos por Shearer *et al.* (1992), (<10.000 ufc/ml), Gamroth y Bodyfelt (1993), (\leq 5.000 ufc/ml) y Shearer *et al.* (1992), (\leq 1.000 ufc/ml), la mayoría o ninguna de las muestras los cumpliría.

Por otra parte, los valores de RBT determinados al finalizar ambas ordeñas denotarían una mejor calidad bacteriológica inicial de la leche, en comparación a los resultados encontrados por Omeñaca (2000) en un CAL de la zona central (Melipilla). A partir de dicho estudio, donde se efectuaron 5 muestreos de leche de tarros una vez finalizada la ordeña a 10 productores, se desprende que los promedios de recuento de aerobias mesófilas fluctuaron entre 60.000 y 1.700.000 ufc/ml; lo que el autor atribuye principalmente a la presencia de diversas fuentes de contaminación, tales como uso de agua de pozo sin potabilizar, presencia de roedores, fallas en la rutina de ordeña y en el lavado e higienización de los equipos, alta prevalencia de mastitis clínica y deficiencias en la higiene de los ordeñadores (manos sucias).

Llama la atención los buenos niveles de calidad bacteriológica que presentó la leche de este productor al término de ambas ordeñas, considerando las deficiencias detectadas en la rutina de lavado del equipo de ordeña, particularmente la omisión del escobillado de los componentes de la unidad de ordeña y de la higienización dentro del ciclo de lavado. Ello no permitiría lograr una limpieza apropiada, dado que la remoción mecánica de los residuos lácteos

sólo puede ser lograda mediante el escobillado en los sistemas de lavado manual de equipos de ordeña (Wilkins, 1996; Hardy, 1999; Philpot, 1999). La omisión de la higienización contribuiría a incrementar el número de gérmenes en las superficies que entran en contacto con la leche (Rippes, 1982c; Hardy, 1999). Si bien la rutina de lavado adolecía de deficiencias, al menos se ocupaba agua caliente y un detergente alcalino clorado para lavar las unidades después de la ordeña de la mañana y se escobillaban los tarros antes del comienzo de la ordeña de la tarde, realizándose periódicamente un lavado ácido del equipo. Estos procedimientos constituyen aspectos positivos de la rutina de lavado del equipo de este productor, ya que permitirían remover los residuos (Alfa Laval Agri, 1998; Andrés, 2001c) y podrían explicar los niveles de recuento bacteriano total de las muestras obtenidas al finalizar la ordeña.

En relación al regular estado de conservación de los componentes del equipo, éste no se reflejó en niveles elevados de RBT en la leche después de finalizadas ambas ordeñas, pese al prolongado tiempo de sobreutilización de las mangueras de leche. El efecto altamente contaminante de la leche que pueden llegar a tener las pezoneras sobreutilizadas (Hogan *et al.*, 1988; Alfa Laval Agri, 1996; s.f.), probablemente no se apreció porque en este caso el período de sobreutilización fue relativamente corto (1 mes sobre el máximo de servicio recomendado por el fabricante).

Por otra parte, los niveles de RBT determinados en la leche al final de ambas ordeñas, son consistentes con el buen estado de limpieza de la ubre previo a la ordeña, los hábitos higiénicos de los ordeñadores, la mantención de condiciones higiénicas adecuadas del piso de la sala durante el transcurso de toda la ordeña y la rutina utilizada en la preparación de las vacas, donde la única falla de importancia era no secar los pezones después de realizado su lavado. Las ubres limpias, la higiene apropiada de los ordeñadores y de la sala, así como los procedimientos utilizados en la preparación de las vacas (examen de los primeros chorros de leche, uso de agua sólo en los pezones y empleo de maneas en casos excepcionales, cambio frecuente del agua para lavado de las pezoneras); son

todos factores que contribuyen, en mayor o menor medida, a reducir la carga bacteriana de la leche proveniente de las vacas y de las manos de los ordeñadores (Aceituno, 1995; Hardy y Aceituno, 1995; Philpot, 1995; Alfa Laval Agri, 1996; Agüero, 1997; Harmon, 1997; Wallen *et al.*, 1997; Blanlot, 1999; Philpot, 1999; Reneau, 2001b; Murphy y Boor, s.f.).

En comparación a lo observado en la ordeña de la tarde, la evaluación efectuada en la leche de la ordeña de la mañana, mostró una situación totalmente distinta en la magnitud del crecimiento bacteriano a partir del término de la ordeña. Con cargas bacterianas iniciales similares a las de la ordeña de la tarde, éstas no aumentaron mayormente hasta el fin de la recolección en el CAL y sólo se registró una duplicación del PA de RBT inicial (14.000 *vs.* 28.000 ufc/ml), manteniéndose los recuentos bajo el límite de 100.000 ufc/ml y dentro de valores típicos de leche de buena calidad bacteriológica. Este incremento se vio influenciado por el elevado RBT determinado en el primer muestreo, al final del período de recolección simulada, ya que al considerar los PL el aumento correspondiente a dicho período fue menos evidente: 13.000 *vs.* 17.000 ufc/ml (Cuadro 2, Fig. 2).

Lo anterior reflejaría el corto período de almacenamiento de la leche en el predio después de la ordeña de la mañana (<10 minutos) y un proceso de recolección que no superó las 2 horas de duración. El tiempo transcurrido entre el fin de la ordeña y la recepción de la leche en el CAL se encontraría dentro del período bacteriostático de la leche, cuya duración varía dependiendo del nivel de contaminación inicial, y de la temperatura de almacenamiento y transporte de la leche. En leche poco contaminada, la multiplicación bacteriana se vería retardada durante 2 a 3 horas, aún a una temperatura de 30°C, aumentando dicho período al disminuir la temperatura de almacenamiento (Cousins y Bramley, 1981). Si la leche es de buena calidad bacteriológica, incluso a una temperatura de 37°C, el poder bacteriostático se mantendría frecuentemente por aproximadamente 4 a 6 horas (FAO, 1981a; b).

Al igual que en la ordeña de la tarde, la evaluación efectuada simulando un estanque refrigerado, sugiere que el RBT de la leche no experimentaría un

aumento adicional importante, durante un período de 2 horas de almacenamiento en el CAL (Cuadro 2, Fig. 2).

Los resultados presentados en el cuadro 3, permiten estimar el aporte de bacterias a la leche, provenientes tanto del interior de la glándula mamaria como del cuerpo de la vaca (ubre, flancos y cola, principalmente). El promedio de RBT determinado para el rebaño del productor 1 fue 4.180 ufc/ml, con un rango que fluctuó entre 1.000 y 12.000 ufc/ml, valores que en general son consistentes con lo informado en la literatura.

Así, el promedio de 4.180 ufc/ml, se ubicaría entre los valores de los promedios encontrados para el aporte de la ubre y pezones en rebaños con un recuento <20.000 ufc/ml, en vacas manejadas a pastoreo (2.400 ufc/ml) y en confinamiento (7.900 ufc/ml), (Bramley, 1992). Los resultados también son compatibles con los obtenidos por Morse *et al.* (1968b), en una evaluación de varias fuentes de contaminación de la leche que incluyó 27 predios, donde se comprobó que la contribución de la ubre al RBT variaba entre 690 y 15.000 ufc/ml, con un promedio de 3.200 ufc/ml. En otro estudio efectuado en 19 predios con 248 vacas en ordeña, se determinó recuentos al comienzo de la ordeña que fluctuaron entre 6.000 y 15.000 ufc/ml, lo cuales no serían atribuibles al equipo de ordeña y representarían el aporte de las vacas al RBT de la leche (Alfa Laval Agri, s.f.).

Al relacionar el promedio de RBT de las muestras de leche individuales (aproximadamente 4.000 ufc/ml), con los PA de RBT determinados al término de las ordeñas de la tarde (19.000 ufc/ml) y de la mañana (14.000 ufc/ml), podría estimarse que alrededor de un 20 a 30% del recuento de fin de ordeña, corresponde a contaminación bacteriana proveniente de las vacas. En consecuencia, para estos niveles de recuento de fin de ordeña, la contribución relativa de las vacas como fuente de contaminación es importante; por lo que se debería optimizar la higiene del ambiente y la preparación para la ordeña, con el fin de producir leche de excelente calidad bacteriológica. Ello adquiere aún mayor relevancia cuando se alcanzan niveles muy bajos de recuento bacteriano, situación en que las bacterias contaminantes de la superficie de los pezones y los

patógenos intramamarios, pueden representar en conjunto alrededor del 50 y 70% del promedio del RBT de leche de estanque (4.600 y 11.400 ufc/ml, respectivamente), disminuyendo la importancia relativa de los equipos de ordeña y de almacenamiento como fuente de contaminación de la leche (Bramley, 1992).

Por otra parte, de los resultados obtenidos al evaluar el RBT de la leche de ambas ordeñas (Cuadros 1 y 2, Figs. 1 y 2), se deduce que el principal factor limitante de la calidad bacteriológica para un productor de estas características (recuentos iniciales bajos y almacenamiento nocturno de la leche a temperatura ambiente), es el gran crecimiento que exhibieron las bacterias debido a la falta de un estanque refrigerado predial. No obstante, debería hacerse un esfuerzo adicional por mejorar la higiene de ordeña y el lavado del equipo, para reducir la carga bacteriana inicial de la leche, medidas que se efectuaron y evaluaron durante la fase 2 del estudio. Además, los resultados demuestran que las 2 horas adicionales del período de recolección a temperatura ambiente, en términos prácticos, no se tradujeron en un aumento de la carga bacteriana que se verifica al término del período de almacenamiento a temperatura ambiente. También se desprendería que leches con niveles de recuento del orden de 200.000–900.000 ufc/ml a su llegada al CAL, no deberían experimentar un aumento en el RBT, si el estanque mantiene adecuadamente la temperatura de refrigeración.

Cuadro 2. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1

Puntos de Muestreo	Muestreo				PA	PL
	1	2	3	4		
Fin de Ordeña*	19 (4,28)	12 (4,08)	18 (4,26)	8 (3,90)	14 (4,13)	13
Fin de Almacenamiento Predial* (Tarros, T° Ambiente, <10 minutos)	19 (4,28)	12 (4,08)	18 (4,26)	8 (3,90)	14 (4,13)	13
Fin de Recolección Simulada (Frasco, T° Ambiente, 2 horas)	73 (4,86)	13 (4,11)	20 (4,30)	5 (3,70)	28 (4,24)	17
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	92 (4,96)	17 (4,23)	12 (4,08)	12 (4,08)	33 (4,34)	22

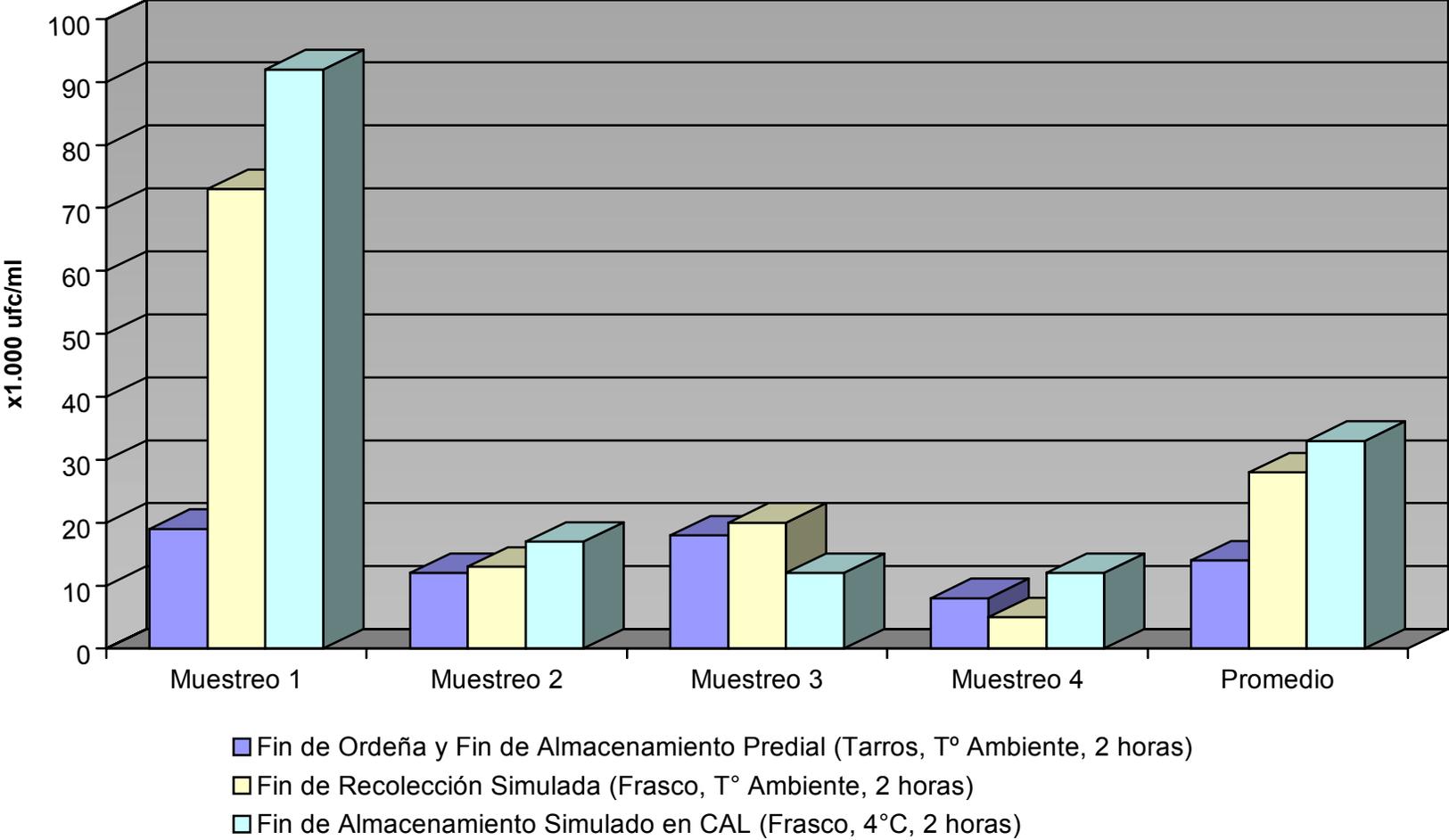
* Se utilizó la misma muestra para ambos puntos debido al corto período de almacenamiento

(): Valores entre paréntesis expresados en log₁₀

PA: Promedio aritmético

PL: Promedio log₁₀ transformado a ufc (x 1.000 ufc/ml)

Fig. 2. Recuento bacteriano total (X1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1



Cuadro 3. Recuento bacteriano total en muestras de leche obtenidas individualmente en 22 vacas: productor 1

Vaca N°	ufc/ml
1	1.000
2	1.000
3	7.000
4	3.000
5	3.000
6	5.000
7	3.000
8	12.000
9	5.000
10	5.000
11	4.000
12	5.000
13	10.000
14	11.000
15	3.000
16	2.000
17	1.000
18	2.000
19	4.000
20	2.000
21	2.000
22	1.000
Promedio	4.180

5.1.1.3. Productor 2: Ordeña de la mañana

Los resultados presentados en el cuadro 4 y Fig. 3 muestran una situación absolutamente distinta para el productor 2, donde claramente el punto crítico de la calidad bacteriológica se ubica en la etapa de obtención de leche.

Los niveles de RBT en la leche inmediatamente después de completada la ordeña, oscilaron entre aproximadamente 200.000 y 300.000 ufc/ml, con un PA de 260.000 ufc/ml y un PL de 257.000 ufc/ml; valores que denotan una leche de mala calidad bacteriológica, debido a que en todos los muestreos el recuento sobrepasó el límite de 100.000 ufc/ml (Cousins y Bramley, 1981; Pedraza *et al.*, 1987; IDF, 1991; Shearer *et al.*, 1992; Agüero, 1995). Estos niveles de recuento de fin de ordeña, se encuentran dentro del rango de valores obtenidos por Omeñaca (2000), para el recuento de aerobias mesófilas en muestras de leche de tarros tomadas después terminada la ordeña en 10 predios de un CAL de Melipilla (60.000 y 1.700.000 ufc/ml) y, comparados con los resultados obtenidos en los muestreos de fin de ordeña del productor 1, ilustran la variabilidad que puede existir en el RBT inicial de la leche entre los productores de los CAL. La evaluación de la calidad bacteriológica de la leche de los productores de los CAL, se ha efectuado principalmente en base a muestreos de la leche recibida en los acopios, comprobándose grandes diferencias de calidad entre productores (Omeñaca, 2000; Pedraza *et al.*, 2000; Espejo, 2001).

Los valores obtenidos para el RBT de la leche de fin de ordeña del productor 2, habitualmente reflejan fallas importantes en el lavado e higienización de los equipos de ordeña y se ubican en el rango de 100.000 a 300.000 ufc/ml, que según Gehriger (1981) correspondería a los de leche obtenida con utensilios lavados e higienizados inadecuadamente. Además, son compatibles con las diversas fallas observadas en la rutina de ordeña, tales como no examinar los primeros chorros de leche y uso excesivo de agua en el lavado de los pezones, sin secado posterior; deficiencias que podrían contribuir a incrementar el contenido bacteriano de la leche (McKinnon *et al.*, 1983; 1990; Bramley, 1992; Donnay, 1996; Locher, 2001). El uso de maneas de cáñamo en todas las vacas, también puede aportar bacterias a la leche a través de las manos del ordeñador, ya que las

manejas de material orgánico se contaminan fuertemente con material fecal durante el proceso de ordeña (Carrillo, 1997; Blanlot, 1999). Las caídas frecuentes de unidades debido a una alineación incorrecta de las mismas, podrían representar otro factor de contaminación de la leche (Alfa Laval Agri, 1996), puesto que el piso de la sala no se mantenía en buenas condiciones higiénicas durante la ordeña.

Por otra parte, el procedimiento de lavado del equipo de ordeña presentó más deficiencias que las observadas para el productor 1, destacando por su influencia en la contaminación que experimenta la leche a través de su paso por el equipo, el uso de agua fría y la omisión del escobillado. Aún cuando se utilizaba un detergente alcalino-clorado, el agua fría no permite lograr una remoción efectiva de los residuos lácteos, particularmente de tipo graso y proteico (Alfa Laval Agri, 1998; Andrés, 2001c), lo que se veía adicionalmente dificultado por la no aplicación del escobillado de los componentes de las unidades ordeña y los tarros lecheros, procedimiento que reviste importancia fundamental para un lavado apropiado de los equipos con sistemas de lavado manual (Hardy, 1999; Andrés, 2001c; Hardy, 2002b).

El deterioro evidente de las mangueras de leche y las pezoneras, podría explicar en parte también los altos niveles de RBT de la leche al término de la ordeña. Como se mencionó previamente, las pezoneras utilizadas durante un tiempo mayor a su período de servicio, que en el caso de este productor alcanzó a aproximadamente 6 meses, pueden transformarse en un importante factor de contaminación de la leche (Hogan *et al.*, 1988; Alfa Laval Agri, s.f.).

Con posterioridad al término de la ordeña (Cuadro 4, Fig. 3), no se observó un incremento en el recuento bacteriano, lo que es consistente con el corto período de almacenamiento predial (<30 minutos) y la rapidez con que se realiza el transporte de la leche hasta el CAL (<15 minutos). Los PA de RBT de la leche mantenida a temperatura ambiente en el tarro, alcanzaron a 242.000 y 254.000 ufc/ml al finalizar los procesos de almacenamiento predial y recolección, respectivamente; valores que no difieren del PA de recuento de la leche al término

de la ordeña (260.000 ufc/ml). Lo mismo se evidenció al analizar los PL, cuyos correspondientes valores alcanzaron a 240.000, 251.000 y 257.000 ufc/ml. Al igual que en caso del productor 1 en la ordeña de la mañana, ello sería atribuible a la breve duración de los períodos de almacenamiento y transporte de la leche al CAL, por lo que el tiempo total hasta la recepción en el acopio quedaría incluido dentro del período bacteriostático de la leche (Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; b).

La evaluación de la leche mantenida en frascos a 4°C por 2 horas, corroboró los resultados obtenidos con el productor 1, en cuanto a que el almacenamiento de la leche en el estanque del CAL, no provocaría un incremento del RBT. A partir de la simulación del almacenamiento refrigerado de la leche en el predio durante un período corto (frascos a 4°C; 4 horas), cuyos PA y PL de RBT alcanzaron a 214.000 y 209.000 ufc/ml, se deduce que éste mantendría las cargas bacterianas determinadas al final de la ordeña (260.000 y 257.000 ufc/ml, respectivamente). Sin embargo, esta situación también se verificó en la leche almacenada y transportada a temperatura ambiente, por lo que la instalación de un estanque refrigerado no constituye una solución técnica ni económica para un productor de estas características (Cuadro 4, Fig. 3).

Al respecto, debe considerarse además que la leche de la ordeña de la mañana es recepcionada en éste y los demás acopios de María Pinto dentro de lapsos relativamente cortos (Aguero *et al.*, 2000), que no contribuirían a incrementar mayormente su carga bacteriana; puesto que de acuerdo a diversas fuentes bibliográficas cabría esperar que no ocurriera crecimiento bacteriano o que éste fuera mínimo durante al menos 2 a 3 horas de finalizada la ordeña, debido a la acción de los inhibidores naturales de la leche (Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; b; Agüero, 1997; Philpot, 1999). En consecuencia, el problema de mala calidad bacteriológica de leche de este productor, debería ser resuelto primariamente disminuyendo las altas cargas bacterianas detectadas al término de la ordeña, mediante un lavado adecuado de los equipos y un recambio oportuno de sus componentes, siendo necesario además mejorar las prácticas higiénicas de

ordeña; medidas que se pusieron en práctica y evaluaron durante la fase 2 del estudio.

Los resultados que aparecen en el cuadro 5, indican que el aporte de las vacas del productor 1 al RBT de la leche fluctuó entre 2.000 y 12.000 ufc/ml, con un promedio de 7.600 ufc/ml, siendo éste algo mayor al encontrado en el caso del productor 1 (Cuadro 3), lo que podría reflejar las numerosas deficiencias observadas en la rutina de ordeña. Estas incluyeron principalmente una preparación para la ordeña sin eliminación ni examen de los primeros chorros de leche, y un lavado de toda la ubre, después del cual no se secaban los pezones, verificándose además que ante caídas de las unidades de ordeña, éstas se volvían a colocar sin lavarlas previamente. Al igual que en el caso del productor 1, los valores obtenidos para la contaminación bacteriana de la leche proveniente de las vacas, se ubican dentro del rango informado en la literatura (Morse *et al.*, 1968b; Bramley, 1992; Alfa Laval Agri, s.f.).

La relación entre el promedio de RBT de las muestras de leche individuales (aproximadamente 8.0000 ufc/ml), y el PA de RBT de la leche al finalizar la ordeña (260.000 ufc/ml), sugiere que sólo alrededor de un 3% del recuento de fin de ordeña correspondería a bacterias procedentes de las vacas. En consecuencia, para estos niveles de recuento de fin de ordeña (200.000-300.000 ufc/ml), el equipo es claramente la fuente principal de contaminación bacteriana de la leche, aportando una mayor proporción de bacterias a la leche que la estimada en el caso del productor 1.

Por otra parte, al relacionar los promedios de RBT de las muestras de leche individuales y de las muestras de leche de tarros una vez completada la ordeña, se determinó un incremento de aproximadamente 33 veces, cifra que ilustra el grado de contaminación que experimentaría la leche en su paso por el equipo durante el proceso de ordeña. Este incremento es compatible con los resultados obtenidos en un estudio realizado en el país, donde hubo un aumento de 68 veces en la población bacteriana, al comparar los promedios de recuento de leche ordeñada directamente a matraces estériles (2.700 ufc/ml) y de la misma leche a

la salida del equipo de ordeña (183.000 ufc/ml), (Pedraza, 1988). Ello reafirma la importancia fundamental que reviste someter los equipos de ordeña a una mantención rigurosa y a una rutina de lavado adecuada, como medidas básicas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche.

Cuadro 4. Recuento bacteriano total (x1000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 2

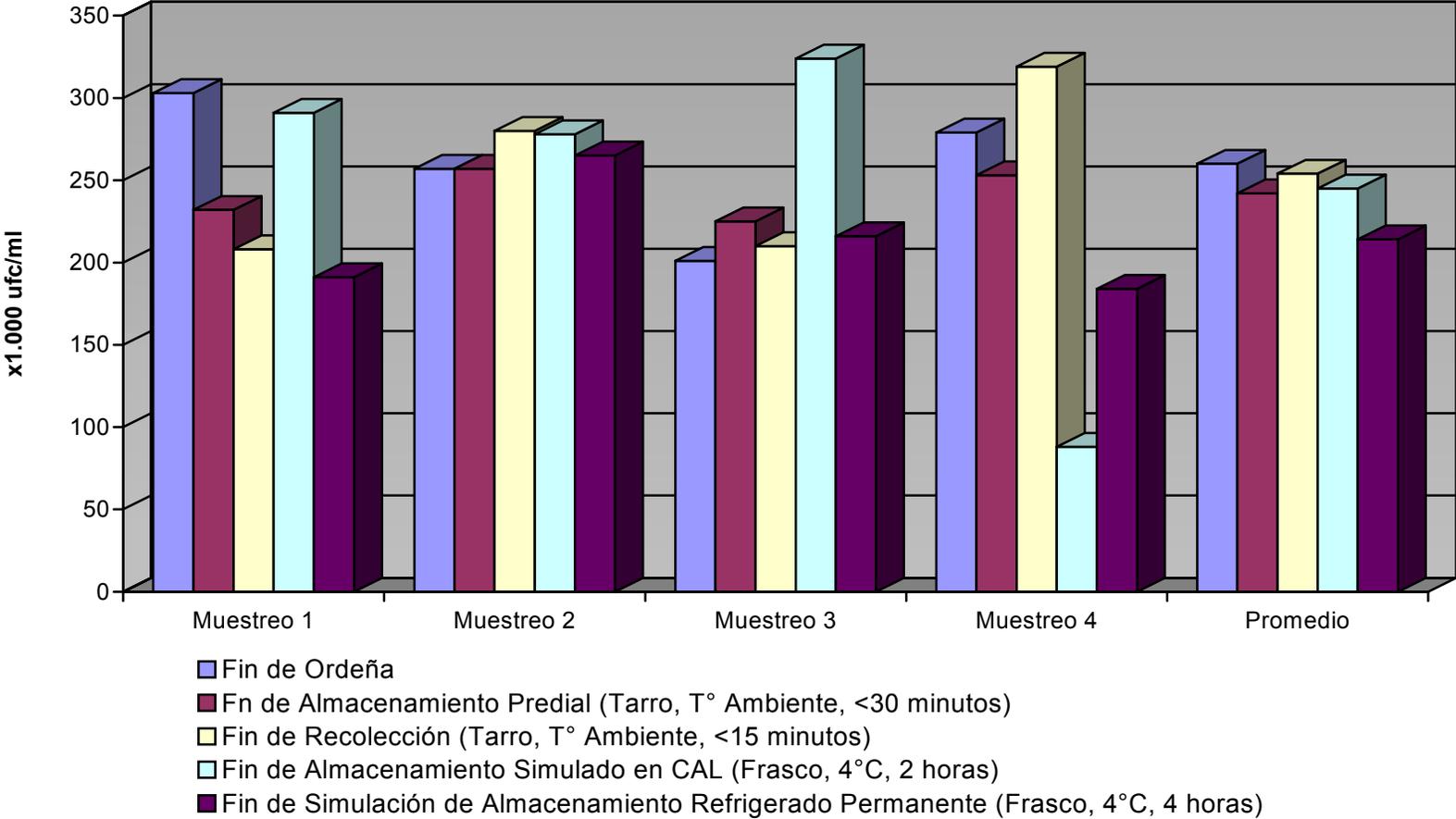
Puntos de Muestreo	Muestreo				PA	PL
	1	2	3	4		
Fin de Ordeña	303 (5,48)	257 (5,41)	201 (5,30)	279 (5,45)	260 (5,41)	257
Fin de Almacenamiento Predial (Tarro, T° Ambiente, <30 minutos)	232 (5,37)	257 (5,41)	225 (5,35)	253 (5,40)	242 (5,38)	240
Fin de Recolección (Tarro, T° Ambiente, <15 minutos)	208 (5,32)	280 (5,45)	210 (5,32)	319 (5,50)	254 (5,40)	251
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	291 (5,46)	278 (5,44)	324 (5,51)	88 (4,94)	245 (5,34)	219
Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente (Frasco, 4°C, 4 horas)	191 (5,28)	265 (5,42)	216 (5,33)	184 (5,26)	214 (5,32)	209

(): Valores entre paréntesis expresados en \log_{10}

PA: Promedio aritmético

PL: Promedio \log_{10} transformado a ufc (x 1.000 ufc/ml)

Fig. 3. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 2



Cuadro 5. Recuento bacteriano total en muestras de leche obtenidas individualmente en 5 vacas: productor 2

Vaca N°	ufc/ml
1	12.000
2	11.000
3	7.000
4	6.000
5	2.000
Promedio	7.600

5.1.2. Recuentos Bacterianos Complementarios

Los resultados obtenidos durante la fase 1 del estudio para los recuentos bacterianos complementarios, en leche de la ordeña de la tarde y de la mañana del productor 1, se presentan en los cuadros 6 y 7, respectivamente. Los resultados correspondientes al productor 2 aparecen en el cuadro 8.

El análisis de estos recuentos es más complejo que el del recuento de bacterias totales y debido a que corresponden a un solo muestreo, deben interpretarse fundamentalmente comparándolos con los resultados encontrados en el muestreo realizado después de instaurar las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de leche (fase 2), (Cuadros 12, 13 y 14), ya que todos estos grupos microbianos son indicadores de las condiciones higiénicas de obtención de leche, particularmente de la preparación de las vacas para la ordeña y del lavado e higienización de los equipos (Lück, 1972; Cousins y Bramley, 1981; Dunsmore *et al.*, 1981; Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992; Reinemann *et al.*, 1997; 2000).

5.1.2.1. Productor 1: Ordeña de la tarde

5.1.2.1.1. Recuento de bacterias termodúricas (RT)

En contraposición a lo observado en el mismo punto de muestreo durante la ordeña de la mañana para este productor (Cuadro 7) y el productor 2 (Cuadro 8),

el recuento de la muestra de leche obtenida al finalizar la ordeña de la tarde presentó un valor muy bajo (Cuadro 6), inferior al límite de 300 ufc/ml e incluso dentro del máximo aceptable de 100 ufc/ml de bacterias termodúricas, propuesto por Shearer *et al.* (1992) y Gamroth y Bodyfelt (1993). Además, dicho valor se ubica en el mínimo del rango de RT encontrado por Espejo (2001), en muestras de leche de productores de un CAL de María Pinto.

Después de 15 horas de almacenamiento de la leche en el predio y 2 horas adicionales a temperatura ambiente (recolección simulada), los valores del RT superaron el límite aceptable de 300 ufc/ml, sin observarse grandes diferencias entre ambos puntos de muestreo: 3.500 y 1.200 ufc/ml, respectivamente. Ello sugiere que el almacenamiento de la leche a temperatura ambiente durante un período prolongado favoreció el crecimiento de las bacterias termodúricas y/o su contaminación a partir de los tarros, ya que éstos son una fuente importante de bacterias termodúricas de la leche, cuando no se lavan y sanitizan apropiadamente (Cousins y Bramley, 1981; Kruze, 1997). Sin embargo, debido al diseño del estudio, que involucró un solo muestreo para evaluar los recuentos bacterianos complementarios de la leche, no puede descartarse la posibilidad que la diferencia observada entre los recuentos de fin de ordeña y fin de almacenamiento predial no corresponda a crecimiento bacteriano, sino que esté determinada por un valor muy bajo para el muestreo de fin de ordeña, que no refleje la real contaminación de la leche por este grupo microbiano.

En general, se considera que las bacterias termodúricas no se multiplican de manera importante en la leche, aún a temperatura ambiente, por lo que un alto recuento de este tipo de bacterias hasta las 24 horas de almacenamiento de la leche, es un indicador confiable de un equipo de ordeña muy contaminado (Cousins y Bramley, 1981). Sin embargo, la mayoría de las cepas del género *Micrococcus* crecen a 10°C (Gilmour y Rowe, 1981).

La refrigeración de la leche durante 2 horas, mantenida previamente a temperatura ambiente por igual período para simular el proceso de recolección en el CAL, no provocó un cambio en el RT: 1.500 y 1.200 ufc/ml, respectivamente. En

la leche almacenada en frascos bajo refrigeración (18 horas), el RT alcanzó un valor similar (1.100 ufc/ml), y al igual que para la muestra mantenida a temperatura ambiente durante 15 horas, podría denotar crecimiento bacteriano al compararlo con el RT de la leche de fin de ordeña (<100 ufc/ml), (Cuadro 6). Este incremento podría deberse a la presencia de bacterias termodúricas con características psicrotróficas, como *Bacillus spp.*, que pueden crecer a temperatura de refrigeración (Cousin, 1982), puesto que en general las bacterias termodúricas son incapaces de crecer a temperaturas de 7,2°C o menores (Nelson, 1981). Sin embargo, este aumento del RT podría no ser real y estar determinado fundamentalmente por un bajo recuento de fin de ordeña, producto de variaciones en el procedimiento de muestreo.

En general, los niveles de RT determinados en los puntos de muestreo son compatibles con las deficiencias encontradas en el proceso de lavado y sanitización de las unidades de ordeña y tarros lecheros (ICMSF, 1980; Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Davis, 1987; Bramley, 1992; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Forsythe y Hayes, 2002; Bray y Shearer, s.f.), así como con la sobreutilización de las pezoneras y las mangueras de leche del equipo de ordeña (VDIA, 1998; Murphy y Boor, s.f.), aunque en la muestra obtenida al término de la ordeña el recuento de este grupo bacteriano fue muy bajo, resultado que no tiene una explicación clara y que no se produjo en el muestreo efectuado al finalizar la ordeña de la mañana (Cuadro 7).

5.1.2.1.2. Recuento de bacterias psicrotróficas (RP)

El recuento inicial de psicrótrofos (fin de ordeña) fue de 500 ufc/ml (Cuadro 6), valor que se encuentra claramente bajo el límite de 20.000 ufc/ml e incluso satisface recomendaciones más exigentes que señalan un máximo de 5.000 ufc/ml para este grupo microbiano (Lück, 1972).

Al cabo de las 15 horas de almacenamiento predial de la leche a temperatura ambiente el RP aumentó a 8.500 ufc/ml, manteniendo un valor similar después de 2 horas de almacenamiento a temperatura ambiente (6.000 ufc/ml). Ello

representa incrementos del recuento de fin de ordeña de aproximadamente 17 y 12 veces, respectivamente. Sin embargo, el RP de ambos puntos de muestreo estuvo por debajo del límite de 20.000 ufc/ml e incluso fue menor al máximo aceptable de 10.000 ufc/ml sugerido por otros autores (Thomas y Thomas, 1973, citados por Cousin, 1982; Richard, 1981). Posteriormente, al almacenar la leche a 4°C durante 2 horas, no se evidenció crecimiento de la bacterias psicrótrofas (800 ufc/ml). El RP de fin de ordeña (500 ufc/ml), no varió mayormente después de 18 horas de almacenamiento refrigerado de la leche (1.200 ufc/ml), (Cuadro 6).

El incremento del RP durante el almacenamiento a temperatura ambiente (15 horas), es compatible con las características de las bacterias psicrótrofas, ya que su temperatura óptima de crecimiento es del orden de 20–40°C (Gehriger, 1981; Cousin, 1982) y a temperaturas de 10°C pueden exhibir un tiempo de generación de 5 horas (Kruze, 1997), lo que indicaría la posibilidad de que ocurra cierto crecimiento bacteriano dentro de un período de 15 horas en leche mantenida a estas temperaturas.

La refrigeración de la leche no modificó mayormente el nivel de RP determinado después de 18 horas de terminada la ordeña y al cabo de 2 horas de finalizado el proceso simulado de recolección, lo que podría atribuirse en parte al corto período de almacenamiento, dado que el crecimiento de este grupo bacteriano comienza a evidenciarse a las 24 o 48 horas de almacenamiento refrigerado de la leche (Cousins y Bramley, 1981; Gehriger, 1981; Godoy, 1985; Suazo, 1987; Kruze, 1997) y se hace particularmente notorio cuando hay fallas en el sistema de refrigeración del estanque (Thomas y Druce, 1971; Forsythe y Hayes, 2002); situación que no habría ocurrido en este estudio, debido a que las muestras se mantuvieron permanentemente a una temperatura de refrigeración adecuada.

Finalmente, de los resultados se desprende que el RP de la leche sería un indicador poco sensible de la higiene de la máquina de ordeña, o que las condiciones higiénicas de sus componentes no estarían suficientemente deterioradas, como para incidir en un alto recuento de este grupo bacteriano.

5.1.2.1.3. Recuento de bacterias coliformes totales (RC)

El RC de la leche de la muestra obtenida al finalizar la ordeña alcanzó a 300 ufc/ml, superando el límite de 200 ufc/ml (Cuadro 6), aunque podría considerarse aceptable de acuerdo a otras recomendaciones: <500 ufc/ml (Fernández y Prüsing, 2002) y <1.000 ufc/ml (Tatini *et al.*, 1965). No obstante, al aplicar estándares más rigurosos, el RC sería insatisfactorio: <150 ufc/ml (Edmonson y Williamson, 1995), <100 ufc/ml (Lück, 1972) y <10 ufc/ml (Gamroth y Bodyfelt, 1993).

El RC aumentó a 5.800 ufc/ml al término del almacenamiento predial a temperatura ambiente (15 horas), sin experimentar cambios al finalizar las 2 horas de recolección simulada a temperatura ambiente (4.300 ufc/ml). Los incrementos en relación al RC de fin de ordeña alcanzaron a 19 y 14 veces, respectivamente. El almacenamiento posterior de la leche bajo condiciones de refrigeración (2 horas), mantuvo el RC dentro del mismo nivel (2.500 ufc/ml). El recuento de este grupo bacteriano tendió a disminuir levemente después de 18 horas de almacenamiento refrigerado de la leche: 300 y 100 ufc/ml, respectivamente (Cuadro 6).

El valor obtenido para el RC de la muestra de leche de fin de ordeña, se ubicaría en un nivel que puede indicar deficiencias en el lavado del equipo de ordeña y tarros (ICMSF, 1980; Reinemann *et al.*, 1997; 2000), así como en la preparación de las vacas para la ordeña (Gamroth y Bodyfelt, 1993; Reinemann *et al.*, 1997; 2000). Aún cuando la rutina de ordeña de este productor era en general adecuada, no incluía el secado de los pezones; mientras que para el lavado del equipo se utilizaba una combinación de procedimientos recomendables (uso de detergente alcalino-clorado en agua caliente) e inadecuados (omisión del escobillado y de la sanitización, uso de un detergente doméstico para el lavado de los tarros), lo que no permitiría una remoción adecuada de los residuos lácteos y favorecería la contaminación bacteriana de la leche.

Los altos niveles de RC determinados al término del almacenamiento predial (15 horas) y en la leche mantenida adicionalmente 2 horas a temperatura ambiente, podrían obedecer a proliferación bacteriana y/o contaminación de la leche por bacterias coliformes a partir de los tarros. Bajo condiciones de almacenamiento no refrigerado de la leche, los coliformes exhiben generalmente tasas elevadas de crecimiento, llegando eventualmente a duplicar su número inicial cada 20 minutos (Edmonson y Williamson, 1995) y pueden contribuir de manera importante al RBT de la leche almacenada a temperatura ambiente, ya que se hacen predominantes cuando la temperatura alcanza a 25-30°C (Cousins y Bramley, 1981).

La ausencia de crecimiento de este tipo de bacterias en la leche sometida a refrigeración, es consistente con los resultados de algunos estudios que no han demostrado incrementos en el RC inicial al cabo de 1 ó 2 días de almacenamiento refrigerado (Thomas y Druce, 1971; Godoy, 1985; Suazo, 1987).

5.1.2.2. Productor 1: Ordeña de la mañana

5.1.2.2.1. Recuento de bacterias termodúricas (RT)

A diferencia de la ordeña de la tarde (Cuadro 6), el RT de fin de ordeña de la mañana (1.800 ufc/ml), excedió notoriamente el máximo aceptable de 300 ufc/ml. Después de 2 horas a temperatura ambiente (recolección simulada), la leche mantuvo el mismo nivel de recuento de termodúricas (1.900 ufc/ml). Al finalizar el almacenamiento refrigerado posterior (2 horas), el recuento disminuyó a 100 ufc/ml (Cuadro 7), lo cual no coincide con lo observado en la evaluación de la leche de la ordeña de la mañana. Las bacterias termodúricas son predominantemente mesófilas y, con excepción de las bacterias del género *Bacillus*, son incapaces de crecer a temperaturas $\leq 7,2^{\circ}\text{C}$ (Nelson, 1981), por lo que la refrigeración tendría poco efecto sobre su recuento al término de los períodos habituales de almacenamiento predial. Sin embargo, ello no permitiría explicar el marcado descenso que experimentó el RT de la leche al cabo de 2 horas de almacenamiento refrigerado.

La diferencia entre el RT de la leche al final de ambas ordeñas (Cuadros 6 y 7), podría estar relacionada con las distintas rutinas utilizadas en el lavado del equipo después de las ordeñas de la mañana y de la tarde. En el último caso, el procedimiento adolecía de varias deficiencias, entre las cuales la principal era no lavar las unidades de ordeña ni tarros lecheros, lo que coincidió con un RT más alto en la leche de la ordeña de la mañana (1.800 ufc/ml). En cambio, con posterioridad a esta ordeña el equipo era sometido a un lavado con detergente alcalino-clorado y agua caliente, determinándose un RT más bajo en la leche de la ordeña de la tarde (<100 ufc/ml).

Los valores obtenidos para el RT de las muestras de leche de fin de ordeña de la mañana y fin de un período de 2 horas de recolección simulada a temperatura ambiente (Cuadro 7), no sólo superaron el máximo aceptable de 300 ufc/ml, sino que también excedieron ampliamente límites menos exigentes; <500 ufc/ml (Shearer *et al.*, 1992) y <750 ufc/ml (Edmonson y Williamson, 1995), lo que indicaría claramente deficiencias en el lavado del equipo de ordeña, como las constatadas en el lavado practicado después de la ordeña de la tarde. Como se señaló al discutir los resultados correspondientes a la ordeña de la tarde, numerosos autores concuerdan en que la causa más frecuente de altos recuentos de bacterias termodúricas en la leche, es la inadecuada limpieza y sanitización de los equipos de ordeña (ICMSF, 1980; Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Davis, 1987; Bramley, 1992; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Forsythe y Hayes, 2002; Bray y Shearer, s.f.), pudiendo destacarse además que los tarros lecheros, que en el caso de los pequeños productores habitualmente forman parte del equipo de ordeña, representan un factor importante de contaminación de la leche por este tipo de bacterias (Cousins y Bramley, 1981; Kruze, 1997). A ello también podría haber contribuido el regular estado de conservación del equipo, ya que las bacterias termodúricas se encuentran comúnmente en los depósitos de piedras de leche y elementos de goma gastados (VDIA, 1998; Murphy y Boor, s.f.).

5.1.2.2.2. Recuento de bacterias psicrótrofas (RP)

Al igual que lo descrito para el RT, el RP de la leche de fin de ordeña (4.300 ufc/ml), (Cuadro 7), también tendió a ser más alto que en la ordeña de la tarde (500 ufc/ml), (Cuadro 6), pero se encuentra dentro del nivel aceptable (<20.000 ufc/ml), siendo incluso <10.000 ufc/ml (Thomas y Thomas, 1973, citados por Cousin, 1982). Al cabo de 2 horas de almacenamiento a temperatura ambiente de la leche, el recuento de este grupo bacteriano disminuyó a 200 ufc/ml, resultado que no tiene una explicación, pero podría haber ocurrido por variaciones en el procedimiento de muestreo. Este recuento se mantuvo después de 2 horas de almacenamiento refrigerado de la leche.

Los resultados fueron consistentes con los obtenidos en la ordeña de la tarde, en lo referente a que el RP de la leche no sería un buen indicador del lavado e higienización de la máquina de ordeña, o que las deficiencias detectadas en la rutina de lavado no habrían alcanzado un nivel suficiente como para contribuir a aumentar el recuento de este grupo bacteriano.

5.1.2.2.3. Recuento de bacterias coliformes totales (RC)

El RC de 800 ufc/ml correspondiente a la muestra de leche obtenida al término de la ordeña de la mañana (Cuadro 7), también tendió a ser más elevado en comparación a la ordeña de la tarde (300 ufc/ml), (Cuadro 6), superando claramente el límite aceptable de 200 ufc/ml. Con posterioridad a las 2 horas de almacenamiento a temperatura ambiente de la leche, hubo una gran disminución del RC (<100 ufc/ml), que no es posible explicar claramente, manteniéndose este bajo nivel de recuento después de almacenar la leche bajo refrigeración durante 2 horas (100 ufc/ml).

De acuerdo a algunos autores, la higiene de la preparación puede afectar el RC de la leche (Gamroth y Bodyfelt, 1993; Reinemann *et al.*, 1997; 2000), por lo que la no realización del secado de los pezones después de su lavado, podría haber contribuido a explicar los niveles de recuento de coliformes encontrados en las

muestras de fin de ordeña. No obstante, dado que se utilizaba la misma rutina de preparación en las ordeñas de la tarde y la mañana, la diferencia entre los valores del RC de las muestras de leche de ambas ordeñas, podría estar relacionada principalmente con las distintas rutinas de lavado empleadas para lavar el equipo y tarros lecheros, dado que el RC de la leche constituiría un indicador de la efectividad de los procedimientos de lavado y sanitización de los equipos de ordeña (ICMSF, 1980; Reinemann *et al.*, 1997; 2000). El RC más alto (800 ufc/ml), correspondió a la ordeña de la mañana, coincidentemente con las numerosas deficiencias que presentaba la rutina de lavado del equipo y tarros lecheros después de la ordeña de la tarde; alcanzando un valor de 300 ufc/ml en la ordeña de la tarde, que podría reflejar un mejor lavado del equipo y tarros después de la ordeña de la mañana.

5.1.2.3. Productor 2: Ordeña de la mañana

5.1.2.3.1. Recuento de bacterias termodúricas (RT)

Como se observa en el cuadro 8, el recuento de bacterias termodúricas de la leche al término de la ordeña (9.500 ufc/ml), superó el valor determinado en la ordeña de la mañana para el productor 1 (1.800 ufc/ml), (Cuadro 7), sobrepasando ampliamente el límite de 300 ufc/ml y el nivel máximo de 100 ufc/ml sugerido por Shearer *et al.* (1992) y Gamroth y Bodyfelt (1993). Ello reflejaría el mayor grado de deterioro de los componentes del equipo de ordeña, particularmente de las pezoneras y las numerosas deficiencias observadas en el procedimiento de lavado e higienización del equipo (lavado con agua fría, sin escobillado y omisión de la higienización).

El nivel inicial de RT no varió después de los breves períodos de almacenamiento (<30 minutos) y transporte de la leche hasta el CAL (<15 minutos): 8.200 y 11.000 ufc/ml, respectivamente. El almacenamiento refrigerado posterior de la leche (2 horas), tampoco afectó el RT (8.500 ufc/ml). El recuento de fin de ordeña, también se mantuvo inalterado después de refrigerar la leche durante 4 horas (7.000 ufc/ml), (Cuadro 8).

Como se señaló al analizar los resultados obtenidos para el productor 1, un RT elevado en la leche generalmente indica fallas en el lavado y sanitización de los equipos de ordeña (ICMSF, 1980; Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Davis, 1987; Bramley, 1992; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Forsythe y Hayes, 2002; Bray y Shearer, s.f.), lo que puede verse favorecido por el desgaste de los elementos de goma (VDIA, 1998; Murphy y Boor, s.f.). Estas deficiencias fueron más evidentes en el caso del productor 2 y son consistentes con el mayor nivel de RT determinado en la leche. Dado que la mayoría de la bacterias termodúricas se encuentran presentes en el medio ambiente (Shearer *et al.*, 1992), también es posible que las fallas observadas en la preparación para la ordeña que realizaba este productor (uso excesivo de agua sin secar los pezones), hayan contribuido a la contaminación del equipo y de la leche por este grupo bacteriano.

5.1.2.3.2. Recuento de bacterias psicotróficas (RP)

Al igual que para el RT, el RP de la leche de fin de ordeña (21.000 ufc/ml), (Cuadro 8), también tendió a ser mayor en comparación a lo observado para el productor 1 en la misma ordeña (4.300 ufc/ml), (Cuadro 7), superando levemente el límite aceptable de 20.000 ufc/ml. El RP experimentó luego fluctuaciones que no indican una tendencia definida de aumento entre el término de la ordeña y el fin del almacenamiento predial a temperatura ambiente (28.000 ufc/ml), dentro de un período de 30 minutos y la llegada posterior de los tarros al CAL (6.500 ufc/ml), antes de 15 minutos.

Los resultados también sugieren que no ocurriría un crecimiento importante de la flora psicotrófica de la leche, al almacenarla posteriormente bajo refrigeración durante 2 horas (14.000 ufc/ml). Tampoco se evidenció crecimiento de este grupo bacteriano, después de mantener a 4°C por 4 horas la leche de fin de ordeña (12.000 ufc/ml), (Cuadro 8).

Los valores más elevados de RP determinados en las muestras de leche de este productor, en comparación a los obtenidos para los muestreos de ambas ordeñas

en el productor 1, podrían reflejar sus condiciones higiénicas de producción más insatisfactorias, puesto que las deficiencias que ocurren a este nivel y/o en la refrigeración de la leche almacenada en estanques, pueden provocar incrementos en el recuento de psicrótrofos a valores >10.000 ufc/ml (Thomas y Thomas, 1973, citados por Cousin, 1982). El mayor número de fallas observadas en la rutina utilizada para lavar el equipo de ordeña del productor 2, podría ser el principal factor que explique los niveles de RP determinados en la leche; ya que en leche no refrigerada, la fuente más importante de bacterias psicrótrofas habitualmente es el equipo de ordeña, cuando no se lava e higieniza adecuadamente (Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992; Forsythe y Hayes, 2002).

Análogamente, el mayor grado de deficiencias que tenía la preparación de las vacas realizada por este productor, podría contribuir a explicar los valores de RP de la leche, puesto que la superficie de los pezones puede presentar elevados niveles de contaminación por bacterias psicrótrofas (Cousins y Bramley, 1981; Cousin 1982). De acuerdo a Morse *et al.* (1968a), la limpieza de la ubre se correlaciona con el RP de la leche, pero no explica totalmente la contaminación de la leche por este grupo bacteriano.

5.1.2.3.3. Recuento de bacterias coliformes totales (RC)

El RC de fin de ordeña (400 ufc/ml), (Cuadro 8), tendió a ser un poco menor que el determinado en el mismo punto de muestreo durante la ordeña de la mañana para el productor 1 (800 ufc/ml), (Cuadro 7). Sin embargo, también superó el máximo aceptable de 200 ufc/ml.

Al igual que en el caso del productor 1 (ordeña de la mañana), (Cuadro 7), la exposición de la leche a temperatura ambiente por un período corto, no pareció afectar mayormente el RC, manteniéndose el nivel inicial durante el período de almacenamiento predial <30 minutos (400 ufc/ml), (Cuadro 8), para disminuir posteriormente al término del proceso de recolección (<100 ufc/ml).

No fue posible evidenciar un comportamiento consistente de los coliformes a través del tiempo en las muestras mantenidas en refrigeración (Cuadro 8), ya que el RC tendió a disminuir en la leche de fin de ordeña almacenada a 4°C durante 4 horas, desde 400 a 100 ufc/ml; en tanto que experimentó un gran aumento cuando la leche recibida en el CAL (<100 ufc/ml), se sometió a refrigeración sólo por 2 horas (40.000 ufc/ml). La tendencia de disminución del RC en la muestra mantenida bajo refrigeración por 4 horas es compatible con lo informado en la literatura, si se considera que las bacterias coliformes generalmente no crecen en leche refrigerada almacenada durante 1 ó 2 días (Thomas y Druce, 1971; Godoy, 1985; Suazo, 1987), describiéndose incluso en algunas muestras de leche una disminución en el recuento inicial de coliformes (Suazo, 1987). El análisis a nivel de muestras individuales realizado en el estudio recién citado, también permitió evidenciar incrementos en el recuento inicial de coliformes en algunas muestras, pero en una magnitud que no permitiría explicar el nivel alcanzado en el RC de la leche mantenida a 4°C durante 2 horas, después de la recepción de los tarros en el acopio.

En contraposición a los resultados encontrados en las ordeñas de la tarde y la mañana del productor 1, que sugieren la existencia de cierta relación entre el RC de fin de ordeña y la rutina de lavado del equipo de ordeña y tarros lecheros; el RC de la muestra de leche de fin de ordeña del productor 2 alcanzó un valor que no sería consistente con las deficiencias que presentaba el lavado del equipo y tarros (uso de detergente alcalino-clorado en agua fría, sin escobillado y omisión de la sanitización).

Además, las fallas observadas en la preparación de la vacas para la ordeña (uso excesivo de agua en ubres relativamente sucias, sin secado posterior de los pezones), no se reflejaron en un valor muy elevado en el RC de la leche de fin de ordeña. De acuerdo a numerosos autores, el RC constituye un indicador de la higiene predial, especialmente en lo referente a la higiene del ambiente, limpieza de las vacas y preparación para la ordeña (Gamroth y Bodyfelt, 1993; Agüero, 1997; Reinemann *et al.*, 1997; 2000). Sin embargo, algunos autores sostienen que no existiría una relación muy estrecha entre este tipo de recuento y la higiene pre ordeña (Hartley *et al.*, 1968; Lück, 1972).

Cuadro 6. Recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1

Puntos de Muestreo	ufc/ml*		
	Termodúricas	Psicrótrofas	Coliformes
Fin de Ordeña	<100	500	300
Fin de Almacenamiento Predial (Tarros, T° Ambiente, 15 horas)	3.500	8.500	5.800
Fin de Recolección Simulada (Frasco, T° Ambiente, 2 horas)	1.200	6.000	4.300
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	1.500	800	2.500
Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente (Frasco, 4°C, 18 horas)	1.100	1.200	100

* Cifras en rojo representan valores superiores a lo recomendable (<300 ufc/ml de bacterias termodúricas; <20.000 ufc/ml de bacterias psicrótrofas; <200 ufc/ml de coliformes totales. Fuentes: Thomas y Druce, 1971; Shearer *et al.*, 1992)

Cuadro 7. Recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana, en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 1

Puntos de Muestreo	ufc/ml*		
	Termodúricas	Psicrótrofas	Coliformes
Fin de Ordeña **	1.800	4.300	800
Fin de Almacenamiento Predial ** (Tarros, T° Ambiente, <10 minutos)	1.800	4.300	800
Fin de Recolección Simulada (Frasco, T° Ambiente, 2 horas)	1.900	200	<100
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	100	200	100

* Cifras en rojo representan valores superiores a lo recomendable (<300 ufc/ml de bacterias termodúricas; <20.000 ufc/ml de bacterias psicrótrofas; <200 ufc/ml de coliformes totales. Fuentes: Thomas y Druce, 1971; Shearer *et al.*, 1992)

** Se utilizó la misma muestra para ambos puntos debido al corto período de almacenamiento

Cuadro 8. Recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 1): productor 2

Puntos de Muestreo	ufc/ml*		
	Termodúricas	Psicrótrofas	Coliformes
Fin de Ordeña	9.500	21.000	400
Fin de Almacenamiento Predial (Tarro, T° Ambiente, <30 minutos)	8.200	28.000	400
Fin de Recolección (Tarro, T° Ambiente, <15 minutos)	11.000	6.500	<100
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	8.500	14.000	40.000
Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente (Frasco, 4°C, 4 horas)	7.000	12.000	100

* Cifras en rojo representan valores superiores a lo recomendable (<300 ufc/ml de bacterias termodúricas; <20.000 ufc/ml de bacterias psicrótrofas; <200 ufc/ml de coliformes totales. Fuentes: Thomas y Druce, 1971; Shearer *et al.*, 1992)

5.2. EVALUACION DE ALGUNAS MEDIDAS DE MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DE LA LECHE (FASE 2)

5.2.1. Recuento Bacteriano Total

5.2.1.1. Productor 1: Ordeña de la tarde

Los cuadros 9.1 y 9.2 permiten observar las variaciones que experimentó el RBT en los distintos puntos de muestreo entre ambas fases del estudio, pudiendo apreciarse el efecto logrado mediante las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica, lo que también se evidencia al comparar la Fig. 4 (fase 2) con la Fig. 1 (fase 1).

El RBT de la leche al finalizar la ordeña de la tarde fue <10.000 ufc/ml en los cuatro muestreos realizados en la fase 2 del estudio, alcanzando un PA y un PL de 6.000 ufc/ml (Cuadros 9.1 y 9.2, Fig. 4). Dichos valores corresponden a los de leche de excelente calidad bacteriológica (Shearer *et al.*, 1992) y representan una reducción importante en la carga bacteriana de la leche (aproximadamente 70%), en comparación a los recuentos establecidos en la primera parte del estudio, que refleja la efectividad de las medidas de mejoramiento instauradas (cambio de los elementos sobreutilizados del equipo de ordeña, adecuado lavado e higienización del mismo e incorporación del secado de los pezones con toalla de papel desechable en la rutina habitual de preparación de las vacas).

Además, la reducción de la contaminación inicial de la leche y el almacenamiento nocturno de ésta en tarros apropiadamente lavados e higienizados, permitió mantener niveles de calidad bacteriológica aceptables durante aproximadamente 15 horas de almacenamiento a temperatura ambiente, previniéndose el gran aumento bacteriano registrado en la fase 1 (aproximadamente 30 veces). Sólomente en el cuarto muestreo hubo un aumento notorio del RBT al término del período de almacenamiento, el cual podría atribuirse a contaminación de la muestra. Si no se considera este muestreo, el PA de recuento alcanzaría a 14.000 ufc/ml, lo que corresponde a un incremento de aproximadamente 2 veces respecto

al recuento de fin de ordeña (Cuadro 9.1, Fig. 4). Si se tiene en cuenta los PL de los 4 muestreos correspondientes al mismo período, el incremento del recuento inicial llegaría a aproximadamente 4 veces (Cuadro 9.2). Estos aumentos, verificados durante las horas de menor temperatura (almacenamiento nocturno de la leche), son compatibles con lo señalado en la literatura para leche con un recuento inicial similar (4.300 ufc/ml), almacenadas a 10°C durante un período un poco más prolongado (24 horas), al término del cual el RBT alcanzó a 14.000 ufc/ml, lo que representa un incremento de 3,3 veces (FAO, 1981a; b; Romero, 1995).

Como consecuencia de lo anterior, la leche recibida en el CAL exhibiría RBT satisfactorios, excepto en el cuarto muestreo, los cuales corresponden a un nivel de calidad aceptable (<100.000 ufc/ml); resultando muy inferiores a los determinados en la fase 1; pese a que en los tres primeros muestreos se observó aproximadamente una duplicación en los recuentos bacterianos al finalizar la recolección simulada a temperatura ambiente (27.000 ufc/ml), respecto a los valores determinados al término del almacenamiento predial (14.000 ufc/ml), (Cuadro 9.1, Fig. 4). La comparación de los PL de los 4 muestros, denota un incremento similar en el RBT durante dicho período (Cuadro 9.2).

Por otra parte, la simulación de condiciones ideales de refrigeración en el acopio, indica que la carga bacteriana de la leche se mantuvo constante durante 2 horas, en relación a los valores existentes al término de la recolección, exhibiendo una calidad bacteriológica satisfactoria y muy superior a la determinada en la fase 1, que refleja fundamentalmente la reducción de la contaminación lograda a nivel predial mediante las medidas de mejoramiento. La evaluación del RBT de la leche de fin de ordeña mantenida a 4°C por 18 horas, corroboraría la importancia que tiene la refrigeración predial para conservar la calidad bacteriológica inicial, indicando además que este efecto se relacionaría con el nivel de recuento bacteriano de la leche al término de la ordeña, como ha sido descrito por varios autores (Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; b; Gehriger, 1981; Heimlich y Carrillo, 1995; Romero, 1995). Así, en las muestras mantenidas durante 18 horas a 4°C, el RBT fue prácticamente el mismo que se determinó al comienzo de dicho

período (fin de ordeña), alcanzando los PA a 4.000 y 6.000 ufc/ml, y los PL a 3.000 y 6.000 ufc/ml, respectivamente. En cambio, antes de implementar las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica (fase 1), con un PA y un PL de RBT en la leche de fin de ordeña mayores (19.000 y 18.000 ufc/ml, respectivamente), el recuento aumentó aproximadamente entre 70 y 80% después de igual período de almacenamiento refrigerado (Cuadros 9.1 y 9.2, Fig. 4).

Estos resultados están determinados fundamentalmente por el período de almacenamiento predial (15 horas) e indicarían que bajo tales condiciones de almacenamiento de la leche, tanto las prácticas higiénicas como una adecuada refrigeración, son esenciales para entregar al acopio o a la industria leche de excelente calidad bacteriológica. Ello se vería corroborado por los resultados obtenidos en otros estudios, donde se ha comprobado para leche de calidad inicial similar a la lograda en la fase 2 por este productor (4.300 ufc/ml), mantenida por 24 horas a temperatura de refrigeración (4,5°C), valores de RBT que no denotan crecimiento bacteriano (4.100 ufc/ml). Sin embargo, con un recuento inicial mayor (40.000 ufc/ml), el RBT se duplicaría durante el mismo período (88.000 ufc/ml), (FAO, 1981a; b; Romero, 1995).

De lo anterior se deduce que el manejo de la leche bajo condiciones ideales de refrigeración, desde el fin de la ordeña hasta el fin de su almacenamiento en el CAL, mantuvo constante la reducida carga bacteriana inicial. En consecuencia, la instalación de un estanque refrigerado predial para el almacenamiento nocturno, permitiría que este productor entregara al acopio leche de óptima calidad bacteriológica, aún cuando los niveles de calidad logrados sin esta implementación fueron buenos en 3 de los 4 muestreos realizados. Sin embargo, la inversión en un estanque predial sería conveniente, considerando el tamaño del rebaño de este productor y que los efectos de la temperatura ambiente sobre el crecimiento bacteriano, pueden ser más evidentes durante el verano que los detectados en los meses en que se realizaron los muestreos de la fase 2 (invierno).

Cuadro 9.1. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (x1000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde, en distintos puntos de muestreo: productor 1

Muestreo	Puntos de Muestreo									
	Fin de Ordeña		Fin de Almacenamiento Predial ¹		Fin de Recolección Simulada ²		Fin de Almacenamiento Simulado en CAL ³		Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente ⁴	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
1	22	9	874	5	907	10	929	5	62	7
2	20	3	690	19	683	28	844	51	33	2
3	11	5	237	18	269	43	272	16	19	1
4	22	7	488	251	573	344	585	383	23	5
PA	19	6	572	73	608	106	658	114	34	4

¹Tarros, T° Ambiente, 15 horas

²Frasco, T° Ambiente, 2 horas

³ Frasco, 4°C, 2 horas

⁴Frasco, 4°C, 18 horas

PA: Promedio aritmético

Cuadro 9.2. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (\log_{10} ufc/ml) en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo: productor 1

Muestreo	Puntos de Muestreo									
	Fin de Ordeña		Fin de Almacenamiento Predial ¹		Fin de Recolección Simulada ²		Fin de Almacenamiento Simulado en CAL ³		Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente ⁴	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
1	4,34	3,95	5,94	3,70	5,96	4,00	5,97	3,70	4,79	3,85
2	4,30	3,48	5,84	4,28	5,83	4,45	5,93	4,71	4,52	3,30
3	4,04	3,70	5,37	4,26	5,43	4,63	5,43	4,20	4,28	3,00
4	4,34	3,85	5,69	5,40	5,76	5,54	5,77	5,58	4,36	3,70
PA	4,26	3,75	5,71	4,41	5,75	4,66	5,78	4,55	4,49	3,46
PL	18	6	513	26	562	46	603	35	31	3

¹ Tarros, T° Ambiente, 15 horas

² Frasco, T° Ambiente, 2 horas

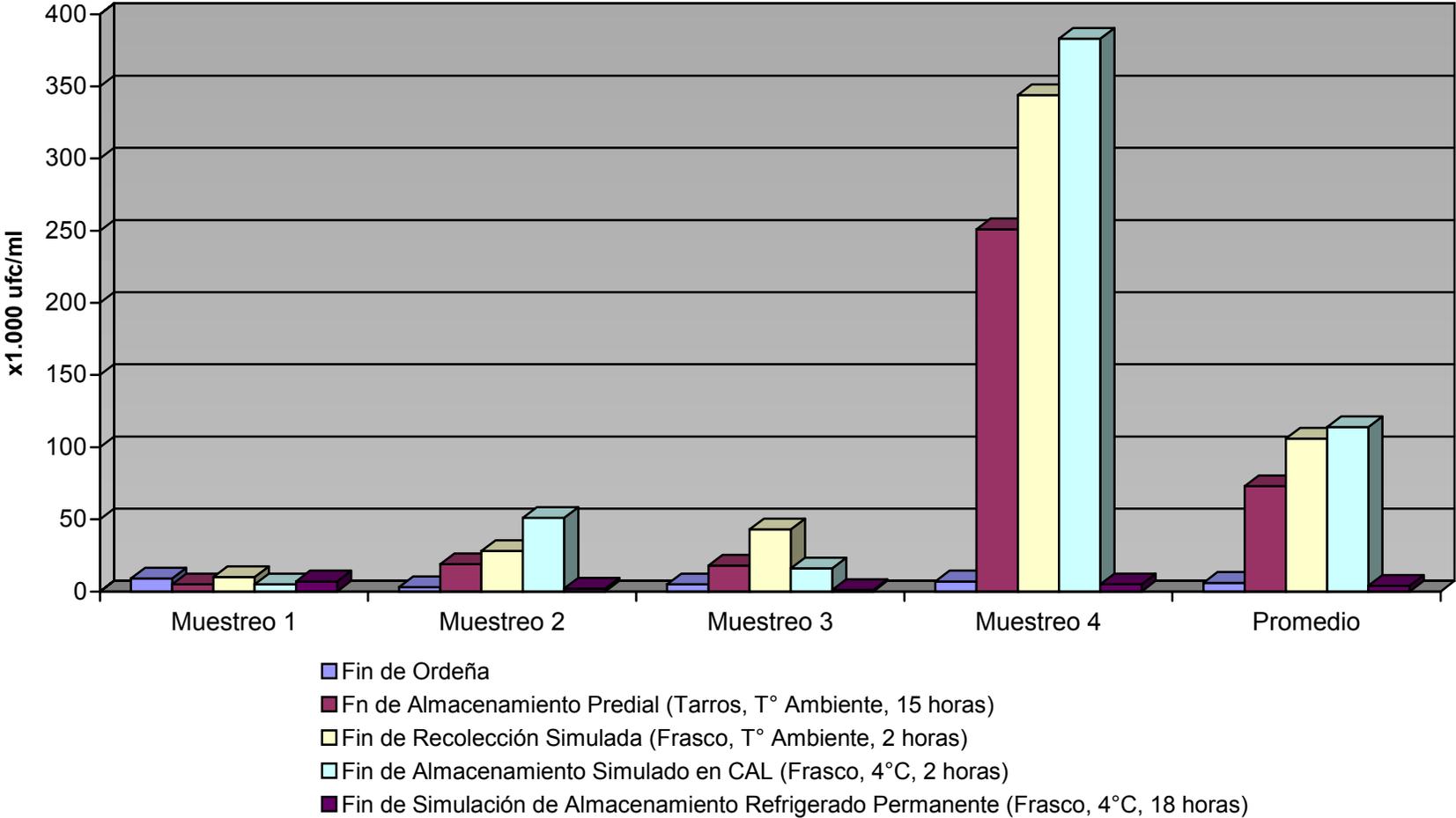
³ Frasco, 4°C, 2 horas

⁴ Frasco, 4°C, 18 horas

PA: Promedio aritmético

PL: Promedio \log_{10} transformado a ufc (x 1.000 ufc/ml)

Fig. 4. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de tarde en distintos puntos de muestreo (fase 2): productor 1



5.2.1.2. Productor 1: Ordeña de la mañana

En todos los muestreos efectuados en la fase 2 al finalizar la ordeña de la mañana, se encontró recuentos inferiores a los determinados en la fase 1, siendo los valores <10.000 ufc/ml, con un PA de 5.000 ufc/ml y un PL de 4.000 ufc/ml, lo que corrobora la efectividad de las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica. Ello también se evidenció al evaluar el RBT una vez terminados los períodos simulados de recolección a temperatura ambiente y de almacenamiento en el estanque del acopio, cuyos valores fueron similares a los determinados en las muestras de fin de ordeña (Cuadros 10.1 y 10.2, Fig. 5).

Estos resultados reafirman la importancia del equipo de ordeña como punto crítico de la calidad bacteriológica de la leche y confirman que el almacenamiento y transporte de la leche a temperatura ambiente, como se señaló al analizar los resultados obtenidos durante la fase 1, no constituyen un factor de deterioro de la calidad bacteriológica, cuando la duración de ambas etapas no supera el período bacteriostático de la leche. Al igual que lo descrito para la ordeña de la tarde de este productor en la fase 2 del estudio, la simulación de condiciones ideales de refrigeración en el acopio, sugiere que el RBT de la leche no experimentaría un aumento durante un período de almacenamiento de 2 horas.

Cuadro 10. Comparación entre las fases 1 y 2 del estudio del recuento bacteriano total (x1000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana, en distintos puntos de muestreo: productor 1

	Puntos de Muestreo					
	Fin de Ordeña*		Fin de Recolección Simulada ¹		Fin de Almacenamiento Simulado en CAL ²	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
1	19	4	73	4	92	5
2	12	3	13	6	17	5
3	18	9	20	10	12	4
4	8	3	5	3	12	3
PA	14	5	28	6	33	4

* Se utilizó la misma muestra para fin de almacenamiento predial (<10 minutos)

¹ Frasco, T° Ambiente, 2 horas

² Frasco, 4°C, 2 horas

Cuadro 10.2. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (\log_{10} ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 1

	Puntos de Muestreo					
	Fin de Ordeña*		Fin de Recolección Simulada ¹		Fin de Almacenamiento Simulado en CAL ²	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
1	4,28	3,60	4,86	3,60	4,96	3,70
2	4,08	3,48	4,11	3,78	4,23	3,70
3	4,26	3,95	4,30	4,00	4,08	3,60
4	3,90	3,48	3,70	3,48	4,08	3,48
PA	4,13	3,63	4,24	3,72	4,34	3,62
PL	13	4	17	5	22	4

* Se utilizó la misma muestra para fin de almacenamiento predial (<10 minutos)

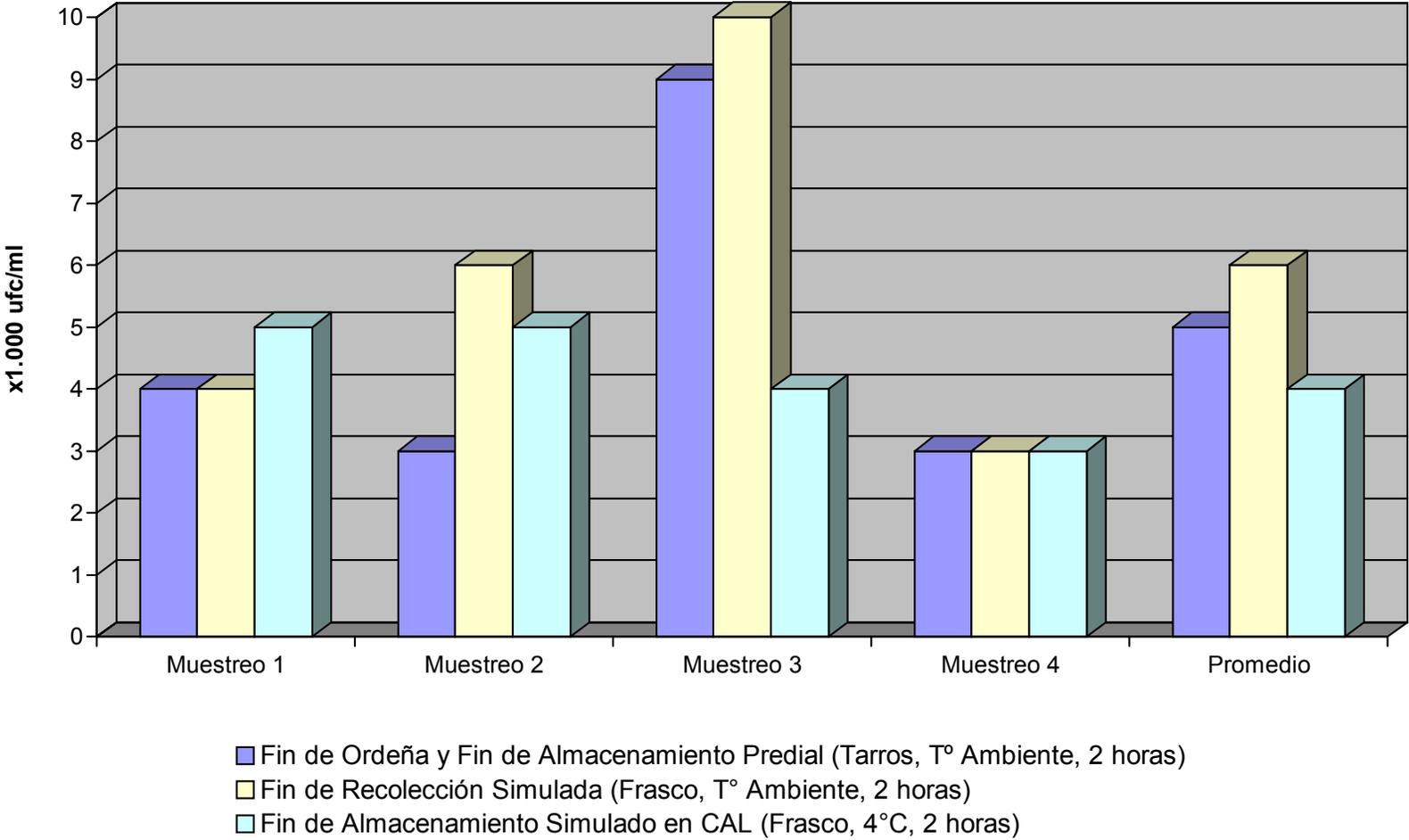
¹ Frasco, T° Ambiente, 2 horas

² Frasco, 4°C, 2 horas

PA: Promedio aritmético

PL: Promedio \log_{10} transformado a ufc (x 1.000 ufc/ml)

Fig. 5. Recuento bacteriano total en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo, durante la fase 2: productor 1



5..2.1.3. Productor 2: Ordeña de la mañana

En el caso de este productor, la efectividad de las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica fue aún más evidente, al analizar los recuentos de la leche al final de la ordeña (<10.000 ufc/ml), debido a los altos niveles de contaminación inicial determinados en la fase 1 (200.000-300.000 ufc/ml). Durante la fase 2 del estudio, el RBT de las muestras de leche de fin de ordeña alcanzó valores similares a los determinados en el mismo punto de muestreo para el productor 1, los cuales denotan también leche de excelente calidad bacteriológica (Shearer *et al.*, 1992). Las bajas cargas bacterianas obtenidas al término de la ordeña, se mantuvieron durante el almacenamiento y recolección en tarros a temperatura ambiente, así como hasta el término de los períodos simulados de almacenamiento refrigerado (Cuadros 11.1 y 11.2). La Fig. 6 permite apreciar la calidad bacteriológica de la leche después de instauradas las medidas de mejoramiento, estableciéndose una gran diferencia respecto a la situación previa (Fig. 3).

En consecuencia, estos resultados corroboran la factibilidad técnica de producir leche con muy bajas cargas microbianas, con la condición que se realice un mantenimiento apropiado de los equipos de ordeña y se laven e higienicen adecuadamente, incluyendo además en la rutina de ordeña los procedimientos establecidos durante la fase 2 del estudio (eliminación y examen de los primeros chorros de leche, lavado de los pezones evitando mojar la ubre y secado posterior con toalla de papel desechable). De esta forma, es posible entregar al acopio leche de excelente calidad bacteriológica, sin que sea necesario refrigerarla previamente, ya que el almacenamiento (<30 minutos) y transporte (<15 minutos) a temperatura ambiente permitió mantener la calidad bacteriológica inicial, la cual se conservaría inalterada durante el breve período de almacenamiento en el estanque del CAL.

Cuadro 11.1. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 2

Muestreo	Puntos de Muestreo									
	Fin de Ordeña		Fin de Almacenamiento Predial ¹		Fin de Recolección ²		Fin de Almacenamiento Simulado en CAL ³		Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente ⁴	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
1	303	7	232	5	208	6	291	6	191	6
2	257	5	257	4	280	7	278	4	265	4
3	201	7	225	6	210	7	324	8	216	8
4	279	2	253	3	319	2	88	3	184	2
PA	260	5	242	5	254	6	245	5	214	5

¹ Tarro, T° Ambiente, <30 minutos

² Tarro, T° Ambiente, <15 minutos

³ Frasco, 4°C, 2 horas

⁴ Frasco, 4°C, 4 horas

PA: Promedio aritmético

Cuadro 11.2. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total (\log_{10} ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 2

Muestreo	Puntos de Muestreo									
	Fin de Ordeña		Fin de Almacenamiento Predial ¹		Fin de Recolección ²		Fin de Almacenamiento Simulado en CAL ³		Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente ⁴	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
1	5,48	3,85	5,37	3,70	5,32	3,78	5,46	3,78	5,28	3,78
2	5,41	3,70	5,41	3,60	5,45	3,85	5,44	3,60	5,42	3,60
3	5,30	3,85	5,35	3,78	5,32	3,85	5,51	3,90	5,33	3,90
4	5,45	3,30	5,40	3,48	5,50	3,30	4,94	3,48	5,26	3,30
PA	5,41	3,68	5,38	3,64	5,40	3,70	5,34	3,69	5,32	3,65
PL	257	5	240	4	251	5	219	5	209	4

¹ Tarro, T° Ambiente, <30 minutos

² Tarro, T° Ambiente, <15 minutos

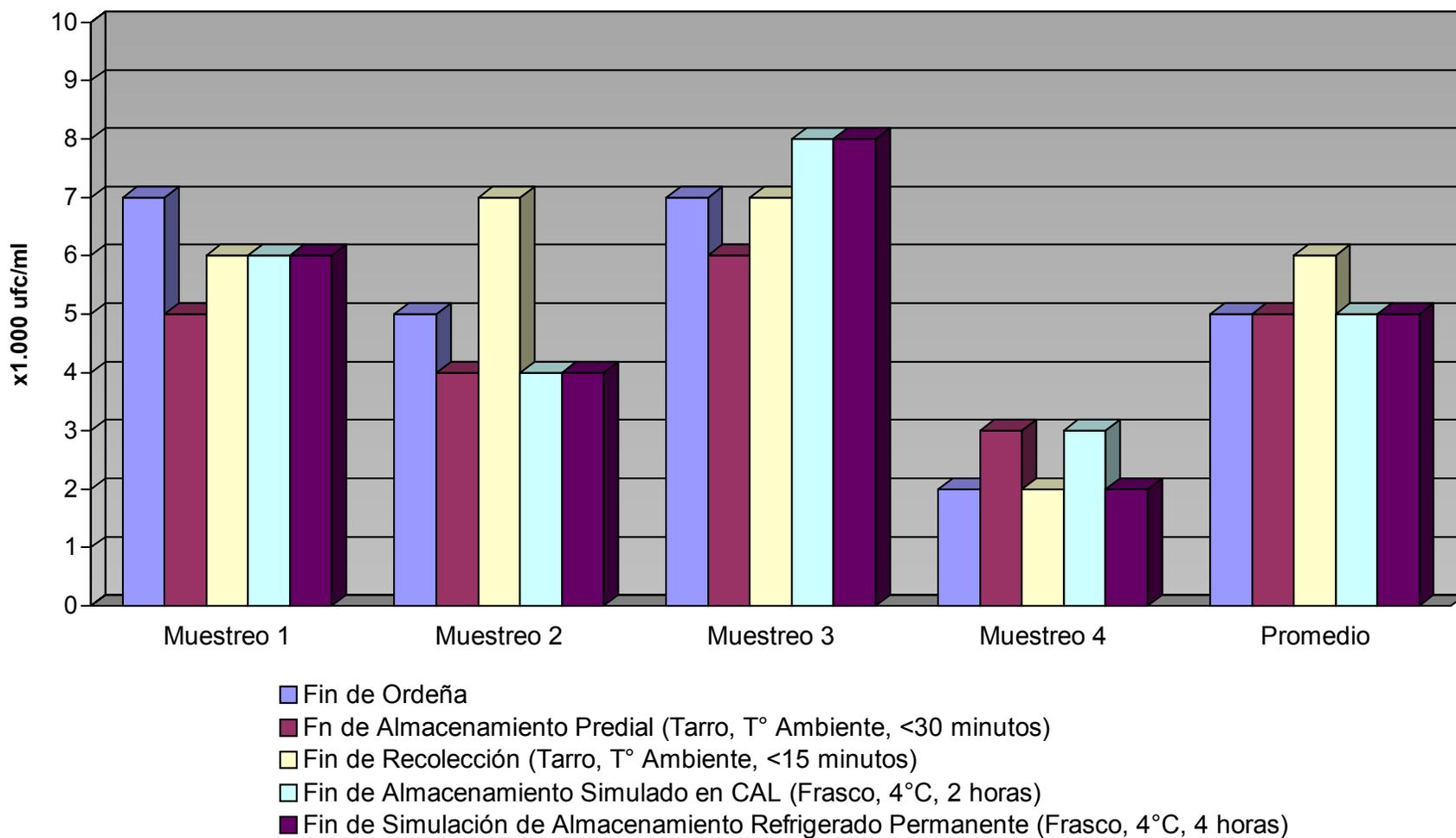
³ Frasco, 4°C, 2 horas

⁴ Frasco, 4°C, 4 horas

PA: Promedio aritmético

PL: Promedio \log_{10} transformado a ufc (x 1.000 ufc/ml)

Fig. 6. Recuento bacteriano total (x1.000 ufc/ml) en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo (fase 2): productor 2



Del análisis de los resultados del RBT de las muestras de leche de fin de ordeña de ambos productores, después de instauradas las medidas de mejoramiento, se desprende que es factible producir consistentemente leche con un nivel de recuento muy inferior al límite de 100.000 ufc/ml (Cousins y Bramley, 1981; Pedraza *et al.*, 1987; IDF, 1991; Shearer *et al.*, 1992; Agüero, 1995), el cual se mantendría inalterado hasta la recepción de la leche en el CAL, excepto para la leche de la ordeña de la tarde que se almacena a temperatura ambiente hasta el día siguiente. De hecho, los valores de RBT determinados durante la fase 2 del estudio corresponde a leche de excelente calidad bacteriológica, puesto que cumplen estándares más exigentes: ≤ 50.000 ufc/ml (Lück, 1972; Hamann, 1997; Reinemann *et al.*, 1997), < 25.000 ufc/ml (Philpot, 1999), ≤ 10.000 ufc/ml (Shearer *et al.*, 1992).

En el caso del productor 1 (ordeña de la tarde), exceptuando el cuarto muestreo y del productor 2 (ordeña de la mañana), en contraposición a lo evidenciado en la fase 1 del estudio, los niveles de RBT determinados al finalizar el proceso de recolección de leche en el CAL durante la fase 2, se ubican en el rango inferior de los límites establecidos por las industrias lecheras nacionales para la leche de más alta calidad bacteriológica, los cuales han fluctuado en años recientes entre 10.000 y 50.000 ufc/ml (Kruze, 1998; 1999; 2000). Si la leche se comercializara en el mercado de las industrias con pautas de pago según calidad, en lugar de plantas queseras que no consideran estos aspectos en el pago de la leche, se obtendría en ambos casos un beneficio económico importante por concepto de mejoramiento de la calidad bacteriológica. Ello puede ilustrarse mediante la simulación de la aplicación de la pauta de pago de Soprole S.A., Santiago, de marzo de 2002, que en el caso del productor 1 (ordeña de la tarde), involucraría un 10% de castigo según el PA de RBT de la leche determinado en la fase 1 (> 300.000 ufc/ml), el cual dejaría de ser aplicado de acuerdo al PA de RBT logrado durante la fase 2, ya que a un rango de recuento de 100.000 a 300.000 ufc/ml, no se impondrían castigos ni bonificaciones respecto al precio base. Debido al elevado valor de RBT determinado al término de la recolección simulada

en el cuarto muestreo de la fase 2, el efecto del mejoramiento de la calidad bacteriológica sobre el precio de la leche se haría más evidente al considerar los PL de RBT de ambas fases del estudio, puesto que a un valor de 46.000 ufc/ml correspondería una bonificación de 12% (Cuadros 9.1 y 9.2).

El cambio en el precio de la leche, también sería evidente para el productor 2 (Cuadros 11.1 y 11.2), dado que tanto el PA como el PL de RBT disminuyeron en la misma magnitud, desde un nivel en que no se percibiría bonificación ni castigo, a uno en que se alcanzaría la bonificación máxima (14%), para recuentos <30.000 ufc/ml.

La simulación de la aplicación de la misma pauta de pago a la leche de la ordeña de la mañana del productor 1, considerando tanto los PA como los PL del fin de la recolección, no mostraría mayores cambios entre las dos fases del estudio, puesto que en ambas los niveles de RBT permitirían alcanzar la bonificación máxima por bajos recuentos bacterianos (<30.000 ufc/ml). Sin embargo, los resultados sugieren que ello podría ser logrado con mayor seguridad o consistencia, después que se implementaron las medidas de mejoramiento (Cuadros 10.1 y 10.2).

Por otra parte, la evaluación del RBT de las muestras de leche de fin de ordeña para ambos productores (Cuadros 1, 2 y 4), conjuntamente con el RBT de las muestras de leche de las vacas de sus rebaños (Cuadros 3 y 5), sugiere que la fuente más importante de contaminación de la leche es el equipo de ordeña, incluidos los tarros lecheros, lo que se vería corroborado por la disminución que experimentaron los RBT en los tres estudios de casos, después de reemplazar los componentes sobreutilizados e instaurar procedimientos adecuados de lavado y sanitizado de los equipos y tarros (Cuadros 9.1, 9.2, 10.1, 10.2, 11.1 y 11.2). Ello reafirma lo señalado por numerosos autores, en cuanto a que los equipos de ordeña habitualmente son la causa principal de altos recuentos bacterianos en la leche, cuando no se someten a un lavado y sanitizado apropiado (Cousins y Bramley, 1981; Gehriger, 1981; Cousin, 1982; Pedraza, 1988; McKinnon *et al.*, 1990; Hardy y Aceituno, 1995; Philpot, 1995; Agüero, 1997; Reinemann *et al.*,

1997; Hardy, 1999; Andrés, 2000a; 2001b; Alfa Laval Agri, 1998); lo que se vería favorecido por no cambiar oportunamente los componentes sobreutilizados, particularmente las pezoneras (Hogan *et al.*, 1988; Alfa Laval Agri, 1996; Hardy, 1997; Locher, 2001; Andrés, 2001a; Alfa Laval Agri, s.f.).

Aún cuando la rutina de lavado de los equipos y tarros aplicada durante la fase 2 del estudio, conjuntamente con la utilización de componentes del equipo dentro de su período de servicio recomendado, explicarían una parte importante del mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche, los cambios efectuados en la rutina de ordeña probablemente también contribuyeron a ello, ya que en diversos trabajos se ha relacionado una disminución del RBT de la leche con prácticas como la eliminación y examen de los primeros chorros de leche (IDF, 1981; Peirano, 1991; Hardy y Aceituno, 1995; Philpot, 1995; Agüero, 1997; Blanlot, 1999; Philpot, 1999; Reneau, 2001b), utilización de agua circunscrita a los pezones para su lavado (Philpot, 1995; Donnay, 1996; Blanlot, 1997; Philpot, 1999), y secado posterior con toalla de papel desechable (Galton *et al.*, 1984; 1986; 1988; McKinnon *et al.*, 1990; Bramley; 1992; Edmonson y Williamson; 1995; Hardy y Aceituno, 1995; Blanlot, 1999; Philpot, 1999; Locher, 2001). Además, debe tenerse presente que cuando se alcanzan niveles de calidad bacteriológica como los determinados en la fase 2 del estudio, la contribución de las vacas al RBT de la leche de fin de ordeña se hace más aparente y puede llegar a tener una importancia equivalente a la del equipo de ordeña (Bramley; 1992), razón por la cual es fundamental enfatizar la higiene en la preparación para la ordeña, si el objetivo es producir leche de excelente calidad bacteriológica.

Por otra parte, como ya se analizó, los resultados obtenidos en la fase 2 del estudio demuestran que es factible producir consistentemente leche con un nivel muy bajo de RBT, el cual se mantendría inalterado hasta la recepción de la leche en el CAL, excepto para la leche de la ordeña de la tarde que se almacena a temperatura ambiente hasta el día siguiente (Cuadros 9.1, 9.2, 10.1, 10.2, 11.1 y 11.2). Estos resultados estarían dentro de lo esperado, considerando el corto tiempo que permanece almacenada en el predio la leche obtenida en las ordeñas de la mañana de ambos productores y la rapidez con que se efectúa el transporte

hasta el CAL. De esta forma, el tiempo total entre el término de la ordeña y la entrega de la leche en el acopio, estaría dentro del período bacteriostático de la leche, cuya duración puede variar entre 2 a 10 horas, según el nivel de contaminación inicial, y la temperatura de almacenamiento y transporte (Ramírez, 1980; Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; b).

De lo anterior se desprende que es posible conservar la excelente calidad bacteriológica inicial de la leche hasta su entrega en el acopio, con la condición que el almacenamiento predial sea breve y se transporte rápidamente hasta el CAL, lo que correspondería a las situaciones de los productores 1 y 2 en la ordeña de la mañana. Por lo tanto, el cumplimiento de este objetivo dependería de poder reducir el nivel de contaminación inicial de la leche y el período entre el fin de la ordeña y la recepción en el CAL, con lo cual se disminuiría la influencia que ejerce la temperatura ambiente sobre el crecimiento bacteriano y se aprovecharía plenamente el período bacteriostático de la leche. Sin embargo, los resultados encontrados en la fase 1 del estudio, con mayores RBT de fin de ordeña para ambos productores, no denotarían un efecto claro del nivel de contaminación inicial, ya que en el primer caso se verificó un incremento de aproximadamente 2 veces en el RBT inicial al finalizar la recolección y en el otro éste se mantuvo constante (Cuadros 10.1, 10.2, 11.1 y 11.2).

En consecuencia, el breve período comprendido entre el fin de la ordeña de la mañana y la recepción de la leche en el CAL: <2 horas, 10 minutos y <45 minutos, para los productores 1 y 2, respectivamente; representaría un factor positivo para prevenir el incremento del RBT de la leche, hecho que reviste importancia dado que la mayoría de los productores de los CAL de María Pinto se caracterizan por almacenar la leche durante períodos cortos y efectuar un transporte rápido hacia el acopio (Aguero *et al.*, 2000; Durandal, 2003). No obstante, los resultados de un estudio efectuado en un CAL de Melipilla, que incluyó 10 productores, indican que el contenido bacteriano de la leche podría aumentar entre el término de la ordeña y la recepción en el acopio, pese a que estos tiempos variaron entre sólo aproximadamente 1 minuto y 2 horas (Omeñaca, 2000).

En cambio, el almacenamiento predial a temperatura ambiente de la leche de la ordeña de la tarde (15 horas), se tradujo en un incremento marcado en el RBT de la leche de fin de ordeña (aproximadamente 30 veces), el cual no aumentaría mayormente después de completado el proceso de recolección a temperatura ambiente (Cuadro 1), transformándose en un factor de deterioro de la buena calidad bacteriológica inicial determinada en la fase 1 para el productor 1, lo que es compatible con lo señalado por Marriott (1999), según el cual la fase logarítmica de crecimiento bacteriano puede desencadenarse rápidamente, incluso para niveles de contaminación inicial de la leche relativamente bajos, si la temperatura de almacenamiento es inadecuada. Además, ello corroboraría que el almacenamiento en tarros a temperatura ambiente durante un tiempo excesivo, constituye un punto crítico para la obtención de leche de buena calidad bacteriológica en los productores de los CAL (Carrillo y Vidal, 1999), efecto que ha sido descrito en los acopios de la zona sur, asociado a la eliminación de los recorridos de la tarde para el transporte de la leche desde los predios al CAL durante el período invernal (Lerdón *et al.*, 1996; 1998, citados por Carrillo y Vidal, 1999).

Debido a las medidas de mejoramiento aplicadas durante la fase 2, que permitieron disminuir el RBT de la leche de fin de ordeña de la tarde y su contaminación proveniente de un almacenamiento prolongado en tarros, fue posible mantener niveles de calidad bacteriológica aceptables durante el almacenamiento predial a temperatura ambiente, previniéndose el gran aumento bacteriano registrado en la fase 1. Si se excluye el cuarto muestreo, el incremento del PA de RBT durante dicho período alcanzaría aproximadamente a 2 veces, mientras que al considerar el PL de los 4 muestreos el incremento sería aproximadamente de 4 veces, aumentos de magnitud consistente con lo descrito para leche con un RBT inicial similar (4.300 ufc/ml), almacenada a 10°C durante 24 horas (FAO, 1981a; b; Romero, 1995). Como consecuencia de ello, la leche recibida en el CAL presentaría RBT satisfactorios y muy inferiores a los determinados en la fase 1; pese a que el PA del RBT de los 3 primeros muestreos al final de la recolección simulada a temperatura ambiente (27.000 ufc/ml), fue

aproximadamente el doble respecto al PA correspondiente al término del almacenamiento predial (14.000 ufc/ml). Al considerar los PL obtenidos a partir de los 4 muestreos se evidenciaría una situación similar, ya que el RBT presentó un incremento de aproximadamente 2 veces entre el término del almacenamiento predial y el fin de la recolección, manteniéndose dentro de niveles satisfactorios de calidad bacteriológica. Sin embargo, el almacenamiento refrigerado permanente de la leche de fin de ordeña de la tarde (18 horas), permitió conservar el bajo RBT inicial; mientras que antes de aplicar las medidas de mejoramiento (fase 1), el RBT experimentó un incremento cercano al 80% dentro del mismo tiempo de almacenamiento refrigerado, aunque se mantuvo dentro de un buen nivel de calidad bacteriológica (Cuadros 9.1 y 9.2).

Estos resultados reflejarían principalmente el efecto de la refrigeración durante el almacenamiento predial de la leche de la ordeña de la tarde, cuya duración representa la mayor parte del tiempo de almacenamiento de la leche a 4°C por 18 horas, y reafirman la importancia que tiene la refrigeración para prevenir el crecimiento bacteriano y mantener niveles satisfactorios de calidad bacteriológica (Romero, 1995; Edmonson y Williamson, 1995; Agüero, 1997; Kruze, 1997; Philpot, 1999), corroborando además que su efecto se relacionaría con el nivel de RBT inicial (Cousins y Bramley, 1981; FAO, 1981a; b; Gehriger, 1981; Heimlich y Carrillo, 1995; Romero, 1995), por lo que para períodos de almacenamiento de esta duración, tanto las adecuadas prácticas higiénicas como la refrigeración resultarían fundamentales, si se plantea como objetivo entregar al acopio o a la industria leche de excelente calidad bacteriológica.

Por otra parte, en el caso del productor 2, la simulación de un almacenamiento refrigerado permanente de la leche obtenida durante la ordeña de la mañana, durante un período más corto (4 horas), para un RBT de fin de ordeña mayor en la fase 1, del orden de 260.000 ufc/ml, demostraría que este nivel inicial de contaminación se mantuvo hasta el término de dicho período; verificándose un comportamiento similar para un RBT inicial mucho más bajo durante la fase 2 del estudio (5.000 ufc/ml), dentro del mismo período de almacenamiento refrigerado

de la leche (Cuadros 11.1 y 11.2). En ambas situaciones, la falta de crecimiento bacteriano sería atribuible al breve período de almacenamiento refrigerado, ya que en general el crecimiento de las bacterias mesófilas y de otros grupos bacterianos se hace evidente después de 24, 36 o 48 horas de almacenamiento de la leche a temperaturas de refrigeración, e incluso más tardíamente (Cousins y Bramley, 1981; Gehriger, 1981; Godoy, 1985; Suazo, 1987; Romero, 1995; Kruze, 1997).

Debido a lo anterior, no se justificaría la utilización de un estanque refrigerado predial, para las actuales condiciones de producción y manejo de la leche de este productor, considerando además que los cortos períodos de almacenamiento a temperatura ambiente y de transporte de la leche en tarros, no se tradujeron en incrementos del RBT desde el fin de la ordeña hasta la entrega de la leche al acopio (Cuadros 11.1 y 11.2). Sin embargo, para el caso de la ordeña de la tarde del productor 1 (Cuadros 9.1 y 9.2), que involucra un período de almacenamiento de aproximadamente 15 horas, la instalación de un estanque refrigerado podría resultar recomendable, puesto que haría posible entregar al acopio o directamente a la planta leche de excelente calidad bacteriológica; inversión que podría ser económicamente justificable, dado el tamaño del rebaño de este productor y que la influencia de la temperatura ambiente sobre el crecimiento bacteriano puede ser más evidente en el verano, en comparación al efecto observado en los muestreos efectuados en la fase 2 (invierno).

Finalmente, la simulación del almacenamiento de la leche en el estanque de un CAL, mediante frascos mantenidos a 4°C durante 2 horas a partir de su recepción en el acopio, indicó que no cabría esperar un incremento del RBT de la leche, entre el fin de la recolección y el término de dicho período de almacenamiento refrigerado. Ello se evidenció en los tres estudios de casos, no sólo para recuentos de fin de recolección muy bajos, como los determinados en la fase 2 para el productor 1 y el productor 2 en leche de la ordeña de la mañana (<10.000 ufc/ml); sino también durante la fase 1, donde el RBT al comienzo del almacenamiento de la leche a 4°C por 2 horas alcanzó aproximadamente a 254.000 ufc/ml (productor

2, ordeña de la mañana) y 600.000 ufc/ml (productor 1, ordeña de la tarde), (Cuadros 9.1, 9.2, 10.1, 10.2, 11.1 y 11.2).

El comportamiento recién descrito para el RBT es compatible con lo informado en la literatura, ya que es improbable que en leche refrigerada se registre crecimiento bacteriano dentro de un tiempo tan corto de almacenamiento refrigerado (Cousins y Bramley, 1981; Gehriger, 1981; Godoy, 1985; Suazo, 1987; Romero, 1995; Kruze, 1997), pudiendo descartarse también el efecto que podrían haber ejercido las variaciones en la temperatura de refrigeración, debido a que las muestras de leche utilizadas para simular el estanque de un CAL se mantuvieron permanentemente a 4°C. Por lo tanto, el almacenamiento de la leche en el estanque de un CAL durante un período de corta duración, probablemente no representaría un factor limitante de la calidad bacteriológica de la leche, si el estanque funciona adecuadamente y se utilizan procedimientos adecuados para su lavado y sanitización. En términos prácticos, el riesgo de deterioro de la calidad bacteriológica en los estanques de los CAL de María Pinto se vería reducido por el breve período en que la leche de la ordeña de la mañana permanece almacenada en los estanques, ya que habitualmente se establecen horarios de recepción muy cortos, generalmente menores a 1 hora y la leche es retirada por los camiones de las plantas poco después de finalizada la recepción (Aguero *et al.*, 2000).

Aún cuando los resultados del estudio demuestran que para un pequeño productor sería factible producir y entregar al acopio leche de excelente calidad bacteriológica, lo que corroboraría el potencial de mejoramiento de la calidad bacteriológica descrito en algunos trabajos, donde se ha comprobado que una proporción importante de las muestras de leche de los productores de los CAL satisface estándares de calidad aceptables (≤ 100.000 ufc/ml), (Patiño, 1998; Espejo, 2001), debe tenerse presente que los RBT elevados de la leche de algunos productores provocan un aumento notable en el RBT de la leche del estanque (Espejo, 2001). En consecuencia, el mejoramiento consistente de la calidad bacteriológica de la leche de los CAL, supondría un esfuerzo permanente de parte de todos sus proveedores en la aplicación de las medidas conducentes a dicho objetivo, fundamentalmente las relacionadas con el lavado y sanitización de los equipos de ordeña, su mantención y la preparación de las vacas para la ordeña.

5.2.2. Recuentos Bacterianos Complementarios

En los cuadros 12, 13 y 14 se presentan los resultados de los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes, para los muestreos de leche efectuados durante la fase 2 del estudio en las ordeñas de la tarde (productor 1), la mañana (productor 1) y la mañana del productor 2, respectivamente; junto a los correspondientes valores de recuento determinados en la fase 1 del estudio.

5.2.2.1. Productor 1: Ordeña de la tarde

5.2.2.1.1. Recuento de bacterias termodúricas (RT)

El RT de la muestra de leche obtenida al finalizar la ordeña fue 600 ufc/ml (Cuadro 12). Después del término del almacenamiento a temperatura ambiente a nivel predial (15 horas) y del fin de la recolección simulada a temperatura ambiente (2 horas), los valores de RT disminuyeron y se ubicaron bajo el límite de 300 ufc/ml, e incluso cumplirían las recomendaciones de Shearer *et al.* (1992) y Gamroth y Bodyfelt (1993), (<100 ufc/ml). Reinemann *et al.* (1997; 2000), señalan que es posible lograr un RT <10 ufc/ml, en leche proveniente de equipos de ordeña con una condición higiénica excelente.

La refrigeración de la leche durante 2 horas, mantenida previamente a temperatura ambiente por igual período, provocó un aumento importante del valor de RT, desde <100 a 1.200 ufc/ml, superando el límite aceptable de 300 ufc/ml. No obstante, en la leche almacenada en frascos bajo refrigeración durante 18 horas, el RT disminuyó desde 600 ufc/ml a un valor de 200 ufc/ml (Cuadro 12). El aumento del recuento después de un período breve de almacenamiento de la leche a 4°C no tendría una explicación clara, dado que las bacterias termodúricas habitualmente no crecen en leche almacenada en estanque prediales refrigerados (Nelson, 1981)

El RT de la muestra de fin de ordeña, cuyo valor superó al obtenido en los siguientes puntos de muestreo de la leche a temperatura ambiente y al

determinado en la muestra de fin de ordeña durante la fase 1 (<100 ufc/ml), no está dentro de lo esperado y podría ser atribuido a variabilidad de los recuentos resultante del procedimiento de muestreo utilizado. No obstante, en general y en contraposición a lo observado en la fase 1 del estudio, durante la fase 2 los recuentos de bacterias termodúricas de la leche de la ordeña de la tarde presentaron valores más bajos y dentro de lo aceptable (<300 ufc/ml), (Cuadro 12). Estos resultados reflejarían la efectividad de las medidas de mejoramiento aplicadas y corroborarían lo señalado por numerosos autores, en cuanto que el equipo de ordeña puede ser una fuente importante de contaminación de bacterias termodúricas, cuando no se somete a un procedimiento adecuado de lavado y sanitizado (ICMSF, 1980; Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Davis, 1987; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Forsythe y Hayes, 2002).

Aún cuando el RT de la leche se utiliza principalmente como indicador del estado higiénico del equipo de ordeña, la aplicación de una preparación adecuada durante la fase 2 del estudio, pudo haber contribuido a disminuir la contaminación de la leche por este grupo microbiano, dado que algunas bacterias termodúricas presentes en la leche (*Bacillus spp.*), provienen principalmente de los pezones (Cousins y Bramley, 1981; Edmonson y Williamson, 1995).

5.2.2.1.2. Recuento de bacterias psicrótrofas (RP)

El recuento inicial (fin de ordeña) fue de 1.600 ufc/ml (Cuadro 12), valor que se encuentra claramente bajo las 20.000 ufc/ml e incluso cumple estándares más exigentes, como el recomendado para leche cruda de alta calidad; ≤5.000 ufc/ml (Lück, 1972). Al cabo de las 15 horas de almacenamiento predial el RP de la leche aumentó a 14.000 ufc/ml, valor similar al determinado después de 2 horas de almacenamiento posterior a temperatura ambiente (9.600 ufc/ml). Aunque en relación al recuento de fin de ordeña representan incrementos de aproximadamente 8 y 12 veces, respectivamente; ambos valores se mantuvieron bajo el límite de 20.000 ufc/ml. Estos aumentos del RP se pueden atribuir, al igual que en la fase 1 para la ordeña de la tarde de este productor, a las características

de las bacterias psicrótrofas, cuyo óptimo de crecimiento es mayor a la temperatura de refrigeración (Gehriger, 1981; Cousin, 1982; Kruze, 1997).

Análogamente a lo descrito para la fase 1 de este productor, no se evidenció crecimiento bacteriano en la leche refrigerada, tanto en las muestras almacenadas en frascos durante 2 horas como 18 horas (Cuadro 12), lo que también se podría atribuir a los cortos períodos de almacenamiento (Cousins y Bramley, 1981; Gehriger, 1981; Godoy, 1985; Suazo, 1987; Kruze, 1997)

Al comparar los RP de la leche de la ordeña de la tarde entre ambas fases del estudio, se observa que éstos tendieron a aumentar levemente en todos los puntos de muestreo durante la fase 2, pero se mantuvieron bajo el límite de 20.000 ufc/ml (Cuadro 12). Ello corroboraría lo señalado al analizar los resultados obtenidos durante la fase 1, en lo referente a que el RP de la leche no sería un buen indicador de la higiene del equipo de ordeña y además sugiere que tampoco se relacionaría con la higiene pre ordeña, ya que los cambios introducidos en la rutina de preparación, no se reflejaron en una reducción del RP de la leche.

5.2.2.1.3. Recuento de bacterias coliformes totales (RC)

El RC de la leche de fin de ordeña de la tarde fue <100 ufc/ml, manteniéndose dicho nivel en la leche almacenada en el predio a temperatura ambiente durante 15 horas y en la muestra que simula el fin de la recolección en el CAL. El almacenamiento simulado bajo condiciones de refrigeración en el CAL (2 horas), se tradujo en un leve aumento del RC (300 ufc/ml). Sin embargo, el recuento de este grupo bacteriano fue <100 ufc/ml, después de 18 horas de almacenamiento refrigerado de la leche (Cuadro 12).

Los resultados sugieren que los coliformes no habrían experimentado crecimiento durante el almacenamiento predial (15 horas) y la recolección (2 horas) a temperatura ambiente, probablemente porque el recuento inicial era muy bajo y los muestreos correspondientes a la fase 2 del estudio se realizaron durante el período invernal. Este grupo microbiano generalmente exhibe altas tasas de

crecimiento en leche almacenada a temperatura ambiente, haciéndose predominante cuando ésta alcanza valores de 25-30°C (Cousins y Bramley, 1981). La ausencia de crecimiento bacteriano evidente en las muestras de leche sometidas a refrigeración, es consistente con lo informado en la literatura, dado que habitualmente los coliformes no crecen en leche refrigerada durante 1 ó 2 días de almacenamiento (Thomas y Druce, 1971; Godoy, 1985; Suazo, 1987).

De la comparación de los resultados de ambas fases del estudio (Cuadro 12), se desprende que el RC de la leche de la ordeña de la tarde tendió a exhibir una clara tendencia de descenso durante la fase 2. En contraposición a lo observado en la fase 1, donde en la mayoría de los puntos de muestreo se determinó valores que excedían el límite de 200 ufc/ml de coliformes totales, durante la fase 2 sólo el RC correspondiente a la muestra de leche mantenida en refrigeración por 2 horas, superó levemente dicho límite. En los demás puntos de muestreo, el recuento de este grupo bacteriano estuvo bajo el límite aceptable de 200 ufc/ml, presentando valores que cumplen estándares más rigurosos, como los propuestos por Edmonson y Williamson (1995): <150 ufc/ml y Lück (1972): <100 ufc/ml.

En consecuencia, los resultados sugieren que las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche se habrían reflejado también en una disminución del RC, lo que es consistente con lo señalado por varios autores, según los cuales el sistema de lavado de los equipos de ordeña afecta de manera importante la contaminación de la leche por este grupo bacteriano (ICMSF, 1980; Reinemann *et al.*, 1997; 2000). El RC de la leche puede verse influenciado además por la higiene pre ordeña (Gamroth y Bodyfelt, 1993; Reinemann *et al.*, 1997; 2000), pero dado que la rutina de ordeña de este productor era en general adecuada y aparte del jarro de fondo oscuro, sólo se le incorporó el secado de los pezones durante la fase 2 del estudio, no es posible determinar el efecto que podría haber tenido esta práctica sobre el RC de la leche; debiendo considerarse además que la evidencia existente al respecto es contradictoria, puesto que algunos autores señalan que permitiría disminuir los niveles de contaminación de la leche por este tipo de bacterias (Edmonson y Williamson, 1995), mientras que otros no han observado un efecto del secado de los pezones sobre el RC de la leche (McKinnon *et al.*, 1990).

5.2.2.2. Productor 1: Ordeña de la mañana

5.2.2.2.1. Recuento de bacterias termodúricas (RT)

El recuento de bacterias termodúricas de la leche de fin ordeña fue <100 ufc/ml (Cuadro 13), resultando inferior al límite de 300 ufc/ml y al máximo sugerido por Shearer *et al* (1992) y Gamroth y Bodyfelt (1993) para leche de excelente calidad (<100 ufc/ml). Estos niveles de recuento, corresponderían a los de leche obtenida mediante equipos sometidos a un procedimiento adecuado de lavado y sanitización (Reinemann *et al.*, 1997; 2000). Al analizar los RT de la leche en los demás puntos de muestreo, se observa que éstos se mantuvieron dentro del valor inicial de fin de ordeña, encontrándose sólo un leve aumento para el almacenamiento refrigerado simulado en el CAL (200 ufc/ml).

Durante la fase 2 del estudio, tanto el RT inicial de la leche (fin de ordeña), como el RT correspondiente al fin del proceso de recolección de la ordeña de la mañana, fueron muy inferiores comparados con los valores correspondientes a los mismos puntos de muestreo de la fase 1 (Cuadro 13).

Las diferencias observadas en el RT de la leche entre ambas fases del estudio, después de las ordeñas de la mañana (Cuadro 13) y de la tarde del productor 1 (Cuadro 12), serían atribuibles principalmente al mejoramiento de la rutina de lavado del equipo de ordeña y tarros lecheros, lo que habría permitido su adecuada limpieza y sanitización, ya que éste es el factor que mayormente explica las variaciones que experimenta el RT de la leche (ICMSF, 1980; Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Davis, 1987; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Forsythe y Hayes, 2002).

5.2.2.2.2. Recuento de bacterias psicrotrófas (RP)

A diferencia de lo observado en la ordeña de la tarde (Cuadro 12), durante la fase 2 el RP de la leche de fin de ordeña de la mañana (600 ufc/ml), tendió a ser menor en comparación al valor encontrado en la fase 1 del estudio (4.300 ufc/ml). Posteriormente, hubo un leve aumento del RP, tanto después de almacenar la

leche durante 2 horas a temperatura ambiente como en refrigeración, manteniéndose en ambos casos los valores muy por debajo del límite aceptable (Cuadro 13).

Al igual que lo descrito para la ordeña de la tarde, el RP de la leche no reflejaría los cambios efectuados en la rutina de lavado del equipo de ordeña y tarros, ni la incorporación del secado de los pezones a la rutina de ordeña habitual del productor 2. Ello reafirmaría lo evidenciado durante la fase 1, en cuanto a que el RP de la leche no constituiría un indicador de la higiene del equipo de ordeña y de la higiene pre ordeña.

5.2.2.2.3. Recuento de bacterias coliformes totales (RC)

Análogamente a lo descrito para la ordeña de la tarde durante la fase 2 (Cuadro 12), el RC de la leche de fin de ordeña de la mañana del productor 1 fue <100 ufc/ml, el cual se mantuvo al culminar el almacenamiento predial y la recolección en el CAL. La muestra almacenada a 4°C durante 2 horas, no presentó mayores cambios en el nivel inicial de contaminación de la leche por este grupo bacteriano, exhibiendo un valor menor al máximo aceptable de 200 ufc/ml (Cuadro 13).

Aún cuando el RC de la muestra de leche de fin de ordeña de la mañana correspondiente a la fase 1 no fue muy elevado (800 ufc/ml), habría disminuido durante la fase 2 a un nivel que lo ubica claramente por debajo de límite de 200 ufc/ml, satisfaciendo otras recomendaciones más exigentes (Thomas y Druce, 1971; Lück, 1972; Edmonson y Williamson, 1995).

Los resultados obtenidos en ambas ordeñas para el productor 1, sugieren que las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche se habrían reflejado claramente en una reducción del RC de la leche, lo que en el caso de este productor sería atribuible principalmente a los cambios efectuados en el procedimiento de lavado del equipo de ordeña, factor que afecta de manera importante la contaminación de la leche por este grupo bacteriano (ICMSF, 1980; Reinemann *et al.*, 1997; 2000).

5.2.2.3. Productor 2: Ordeña de la mañana

5.2.2.3.1. Recuento de bacterias termodúricas (RT)

Como se observa en el cuadro 14, el nivel inicial de RT (100 ufc/ml), no varió después de los breves períodos de almacenamiento a temperatura ambiente (<30 minutos) y transporte de la leche hasta el CAL (<15 minutos). El almacenamiento posterior de la leche a temperatura refrigerada (2 horas), tampoco afectó el RT. Sin embargo, en la muestra mantenida en refrigeración durante 4 horas se evidenció un aumento en el RT de fin de ordeña (800 ufc/ml), que superó el límite de 300 ufc/ml. Ello se podría atribuir a la presencia de bacterias termodúricas con características psicrótróficas (Nelson, 1981; Cousin, 1982; Ellner, 2000), o a variaciones en el recuento originadas por el procedimiento de muestreo utilizado. Con excepción de este último valor, las bacterias termodúricas exhibieron recuentos inferiores a dicho límite.

El RT de la leche al término de la ordeña (100 ufc/ml), fue muy inferior al determinado en la fase 1 del estudio (9.500 ufc/ml), (Cuadro 14) y resultó similar al obtenido para el productor 1 en la ordeña de la mañana durante la fase 2 (<100 ufc/ml), (Cuadro 13). Los valores de RT correspondientes a los demás puntos de muestreo del productor 2, también fueron mucho más bajos en comparación a los determinados en la fase 1. Estos resultados son consistentes con los encontrados en la evaluación del RT de la leche del productor 1 durante ambas fases del estudio y corroborarían la efectividad de las medidas de mejoramiento aplicadas, especialmente el adecuado lavado y sanitización de los equipos de ordeña y tarros, factor que afecta de manera importante el RT de la leche (ICMSF, 1980; Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Davis, 1987; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Forsythe y Hayes, 2002).

5.2.2.3.2. Recuento de bacterias psicrótrofas (RP)

El RP de la muestra de fin de ordeña alcanzó un valor de 3.000 ufc/ml, el cual no varió mayormente al finalizar el almacenamiento predial a temperatura ambiente

(<30 minutos) y la recolección (<15 minutos). La muestra mantenida en refrigeración durante 2 horas, conservó el nivel de recuento correspondiente a la recepción de la leche en el CAL; lo que también ocurrió en la muestra refrigerada durante 4 horas, respecto al nivel inicial o RP de fin de ordeña (Cuadro 14).

El RP de la leche de fin de ordeña (3.000 ufc/ml), tendió a ser menor en comparación a lo observado en la fase 1 para el productor 2 (21.000 ufc/ml); evidenciándose una tendencia similar al comparar los RP correspondientes al fin del período de almacenamiento predial. A diferencia de la fase 1 del estudio, durante la fase 2 los valores del RP de la leche en ambos puntos de muestreo fueron menores al límite de 20.000 ufc/ml. Los valores de RP correspondientes a los otros puntos de muestreo, también denotarían una tendencia de descenso en la fase 2 (Cuadro 14).

Al igual que en la fase 1 y en contraposición a lo evidenciado en las ordeñas de la tarde y la mañana del productor 1, estos resultados indicarían cierta relación entre las condiciones higiénicas de producción y el RP de la leche. Ello sería compatible con lo señalado por algunos autores, según los cuales la principal causa de recuentos elevados de psicrótrofos en la leche, aparte de fallas en los sistemas de refrigeración de los estanques de almacenamiento, es una limpieza e higienización inadecuada de los equipos de ordeña (Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992; Forsythe y Hayes, 2002). Por lo tanto, el mejoramiento de la rutina de lavado del equipo de ordeña de este productor, podría explicar la tendencia de descenso del RP de la leche durante la fase 2 del estudio, pudiendo haber contribuido también a ello los cambios efectuados en el procedimiento de preparación de las vacas, dado que la limpieza de los pezones se correlacionaría con el RP de la leche (Morse *et al.*, 1968a).

5.2.2.3.3. Recuento de bacterias coliformes totales (RC)

El RC de la leche de fin de ordeña fue 100 ufc/ml. Una vez completado el periodo de almacenamiento predial (<30 minutos), el nivel inicial de coliformes aumentó a 300 ufc/ml, superando levemente el límite aceptable, para disminuir a un valor

<100 ufc/ml al término del proceso de recolección (<15 minutos). La muestra obtenida a partir de la leche recibida en el CAL y mantenida en refrigeración durante 2 horas, no exhibió mayores cambios en el RC (100 ufc/ml), el cual corresponde a un nivel de calidad aceptable (<200 ufc/ml). Durante el almacenamiento refrigerado simulado de 4 horas de la leche de fin de ordeña, se determinó un RC de 300 ufc/ml, que excede levemente el límite de 200 ufc/ml, lo cual podría evidenciar crecimiento de este grupo bacteriano o corresponder a variaciones del recuento provenientes del procedimiento de muestreo (Cuadro 14).

Si bien los coliformes se multiplican en la leche almacenada a temperatura ambiente (Cousins y Bramley, 1981; Edmoson y Williamson, 1995), los resultados obtenidos para el RC al finalizar el almacenamiento predial y la recolección en el CAL no indican crecimiento de estas bacterias, lo que podría deberse al corto período analizado y al bajo RC inicial (Cuadro 14); situación que también habría ocurrido en el caso del productor 1 (ordeña de la mañana), para la muestra mantenida durante 2 horas a temperatura ambiente (Cuadro 13). El comportamiento de los coliformes en la leche mantenida a 4°C estaría dentro de lo esperado, puesto que este tipo de bacterias generalmente no se multiplica en leche almacenada bajo refrigeración durante períodos más prolongados (Thomas y Druce, 1971; Godoy, 1985; Suazo, 1987). El leve incremento del RC de la muestra de leche refrigerada durante 4 horas (Cuadro 14), podría corresponder a una variabilidad resultante del procedimiento de muestreo o al desarrollo de coliformes con características psicrótróficas (Lück, 1972; Nelson, 1981; Cousin, 1982).

Durante la fase 2 del estudio, el RC de fin de ordeña para este productor alcanzó un valor 100 ufc/ml, inferior al determinado en la fase 1 (400 ufc/ml), y que en general se mantuvo sin grandes variaciones durante el almacenamiento y la recolección a temperatura ambiente, así como en las muestras sometidas a refrigeración (Cuadro 14). Estos resultados son consistentes con los encontrados en los muestreos de leche de la ordeña de la tarde y la mañana del productor 1, los cuales denotan una disminución del RC de fin de ordeña a niveles <100 ufc/ml,

sin experimentar mayores cambios en los muestreos posteriores y presentando generalmente valores menores al límite de 200 ufc/ml e incluso <100 ufc/ml (Cuadros 12 y 13).

En consecuencia, las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica implementadas durante la fase 2, parecen haberse reflejado en una disminución del RC de la leche en los tres estudios de casos (Cuadro 12,13 y 14), a niveles que indicarían un adecuado lavado y sanitizado de los equipos de ordeña y tarros, así como una buena preparación de las vacas para la ordeña. Al respecto, debe tenerse presente que el crecimiento de los coliformes en la leche se ve favorecido por la presencia de residuos en los equipos de ordeña mal lavados y sanitizados (Cousins y Bramley, 1981; Reinemann *et al.*, 1997; 2000), como por la formación de grietas en los componentes de goma sobreutilizados (Gamroth y Bodyfelt, 1993); factores que fueron controlados adecuadamente en la fase 2 del estudio. La rutina de lavado de los equipos y tarros utilizada por ambos productores durante la fase 2, podría explicar en parte la reducción que experimentó el RC de la leche, ya que la remoción de los residuos lácteos mediante lavado con detergente alcalino-clorado en agua caliente y el escobillado de sus superficies, habrían reducido las posibilidades de crecimiento de estos microorganismos, los cuales además son sensibles al calor y al cloro (sanitización pre ordeña), (ICMSF, 1980); a lo que podría haber contribuido también el apropiado drenaje de las aguas residuales de los equipos y tarros lecheros, debido a que los coliformes crecen rápidamente en los equipos de ordeña húmedos (Cousins y Bramley, 1981).

Aún cuando se ha descrito que no habría una relación muy estrecha entre los coliformes de la leche y la higiene pre ordeña (Hartley *et al.*, 1968; Lück, 1972), los cambios efectuados en la preparación de las vacas, también pudieron haber contribuido a la reducción que experimentó el RC de la leche, ya que este tipo de recuento es considerado un indicador de la higiene de la preparación para la ordeña (Bradley, 1982; Gamroth y Bodyfelt, 1993; Agüero, 1997; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Bray y Shearer, s.f.), pudiendo ser influenciado por algunos

procedimientos específicos como el secado de pezones (Edmonson y Williamson (1995).

En contraposición a los resultados encontrados en las ordeñas de la tarde y la mañana del productor 1, que sugieren la existencia de cierta relación entre el RC de fin de ordeña y la rutina de lavado del equipo de ordeña y tarros lecheros; el RC de la muestra de leche de fin de ordeña del productor 2 alcanzó un valor que no sería consistente con las deficiencias que presentaba el lavado del equipo y tarros (uso de detergente alcalino-clorado en agua fría, sin escobillado y omisión de la sanitización). Además, las fallas observadas en la preparación para la ordeña (uso excesivo de agua en ubres relativamente sucias, sin secado posterior de los pezones), no se reflejaron en un valor muy elevado en el RC de la leche de fin de ordeña.

Al igual que para el RC, el RT tendió a disminuir después implementar las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche. Ello fue particularmente evidente en los muestreos realizados durante las ordeñas de la mañana de los productores 1 y 2, donde los recuentos de fin de ordeña se redujeron notablemente con respecto a los valores determinados en la fase 1 del estudio y presentaron valores inferiores al límite de 300 ufc/ml, los cuales se mantuvieron en estos niveles en la casi totalidad de los períodos analizados posteriormente (Cuadros 12, 13 y 14). Estos resultados corroborarían la efectividad de las medidas de mejoramiento de la calidad bacteriológica de la leche y reafirmarían el valor del RT como indicador de las condiciones higiénicas de producción (Frank *et al.*, 1992; Shearer *et al.*, 1992), particularmente en lo referente a los procedimientos de lavado y sanitizado de los equipos de ordeña (ICMSF, 1980; Cousins y Bramley, 1981; Nelson, 1981; Cousin, 1982; Davis, 1987; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995; Reinemann *et al.*, 1997; 2000; Forsythe y Hayes, 2002).

De acuerdo a los antecedentes bibliográficos señalados, el adecuado lavado y sanitizado de los equipos de ordeña y tarros, probablemente explique la mayor parte de la disminución observada en el RT de la leche durante la fase 2 del

estudio, lo que se habría visto favorecido por el recambio de los componentes sobreutilizados de la unidad de ordeña (VDIA, 1998; Murphy y Boor, s.f.). Es posible que las modificaciones introducidas en la preparación para la ordeña, hallan afectado también el RT de la leche, debido a que la mayoría de las bacterias termodúricas se encuentran en el medio ambiente de las vacas (Shearer *et al.*, 1992) y existen antecedentes que sugieren que algunas bacterias termodúricas presentes en la leche (*Bacillus spp.*), provienen principalmente de los pezones (Cousins y Bramley, 1981; Edmonson y Williamson, 1995).

Analizados en conjunto, los resultados obtenidos para los recuentos bacterianos complementarios de la leche, son consistentes con los encontrados para el recuento bacteriano total y confirmarían la efectividad de las medidas de mejoramiento instauradas, puesto que dichos grupos microbianos constituyen indicadores de la higiene del equipo de ordeña y de la rutina de preparación de las vacas. La disminución que experimentaron los valores de RT y RC entre las dos fases del estudio, podría reflejar principalmente los cambios efectuados en los procedimientos de lavado de los equipos de ordeña y tarros de ambos productores. Según Reinemann *et al.* (1997), frente a una inadecuada limpieza de los equipos de ordeña, coincidentemente con un incremento del recuento bacteriano total, aumentarían tanto los valores de los recuentos de bacterias termodúricas como de bacterias coliformes de la leche, favorecido por los residuos presentes en los equipos de ordeña. Sin embargo, los cambios efectuados en la rutina de preparación durante la fase 2, podrían explicar parte de la disminución del RT (Cousins y Bramley, 1981; Shearer *et al.*, 1992; Edmonson y Williamson, 1995) y el RC (Gamroth y Bodyfelt, 1993; Reinemann *et al.*, 1997; 2000).

En cambio, como ya se analizó, el RP de la leche no exhibió grandes cambios o variaciones que indiquen una tendencia, al comparar los valores determinados en ambas fases del estudio en los distintos puntos de muestreo. Sólo en el caso del productor 2 se evidenció una disminución marcada del RP en la muestra de fin de ordeña durante la fase 2, el cual se mantuvo en niveles bajos durante los períodos de almacenamiento de la leche a temperatura ambiente y en refrigeración

(Cuadros 12, 13 y 14). Por lo tanto, considerados globalmente, los resultados obtenidos para el RP de la leche, sugieren que éste no reflejaría adecuadamente las condiciones higiénicas de producción, lo que no coincidiría con lo señalado por algunos autores que le otorgan importancia, especialmente como indicador de la efectividad de los procedimientos de lavado y sanitización de los equipos de ordeña (Cousins y Bramley, 1981; Cousin, 1982; Shearer *et al.*, 1992; Forsythe y Hayes, 2002). Sin embargo, debe tenerse presente que estos resultados corresponden sólo a un muestreo realizado en cada fase y podrían denotar una situación particular de los predios incluidos en el estudio, aunque el valor del RP de la leche como indicador de las condiciones higiénicas de producción, probablemente es menor en leche almacenada a temperatura ambiente durante períodos menores a 24 horas, en comparación a leche almacenada en estanque prediales refrigerados.

De lo expuesto se desprende que de los tres recuentos bacterianos complementarios evaluados en la leche, el RT habría reflejado mejor los cambios incorporados a las rutinas de lavado de los equipos de ordeña y de preparación de las vacas, exhibiendo además una mayor relación aparente con los niveles de RBT determinados en las fases 1 y 2 del estudio para ambos productores. El valor del RC como indicador de las condiciones higiénicas de producción sería algo menor, atendiendo a los resultados obtenidos en la leche de la ordeña de la mañana del productor 2. El RP no exhibió mayores cambios entre ambas fases del estudio.

Estos resultados denotan una situación que coincidiría parcialmente con la descrita por Espejo (2001), quien concluye que el RT podría utilizarse como prueba bacteriológica complementaria de elección, para evaluar las condiciones higiénicas de producción y manejo de la leche de pequeños productores, particularmente las rutinas de lavado e higienización de los equipos de ordeña, basado en su correlación con el RBT de la leche ($r=0,64$; $p\leq 0,00001$). Sin embargo, la relación entre el RC y RBT de la leche no fue significativa ($r=0,10$; $p>0,05$); encontrándose en cambio una relación significativa entre el RP y el RBT ($r=0,45$; $p\leq 0,001$).

Cuadro 12. Comparación entre las fases 1 y 2 de los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la tarde en distintos puntos de muestreo: productor 1

Puntos de Muestreo	ufc/ml*					
	Termodúricas		Psicrótrofas		Coliformes	
	Fase 1		Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Fin de Ordeña	<100	600	500	1.600	300	<100
Fin de Almacenamiento Predial (Tarros, T° Ambiente, 15 horas)	3.500	100	8.500	14.000	5.800	<100
Fin de Recolección Simulada (Frasco, T° Ambiente, 2 horas)	1.200	<100	6.000	9.600	4.300	<100
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	1.500	1.200	800	16.800	2.500	300
Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente (Frasco, 4°C, 18 horas)	1.100	200	1.200	2.000	100	<100

*Cifras en rojo representan valores superiores a lo recomendable (<300 ufc/ml de bacterias termodúricas; <20.000 ufc/ml de bacterias psicrótrofas; <200 ufc/ml de coliformes totales. Fuentes: Thomas y Druce, 1971; Shearer *et al.*, 1992)

Cuadro 13. Comparación entre las fases 1 y 2 de los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 1

Puntos de Muestreo	ufc/ml*					
	Termodúricas		Psicrótrofas		Coliformes	
	Fase 1		Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Fin de Ordeña**	1.800	<100	4.300	600	800	<100
Fin de Almacenamiento Predial ** (Tarros, T° Ambiente, <10 minutos)	1.800	<100	4.300	600	800	<100
Fin de Recolección Simulada (Frasco, T° Ambiente, 2 horas)	1.900	<100	200	1.400	<100	<100
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	100	200	200	1.100	100	100

*Cifras en rojo representan valores superiores a lo recomendable (<300 ufc/ml de bacterias termodúricas; <20.000 ufc/ml de bacterias psicrótrofas; <200 ufc/ml de coliformes totales. Fuentes: Thomas y Druce, 1971; Shearer *et al.*, 1992)

** Se utilizó la misma muestra para ambos puntos debido al corto período de almacenamiento

Cuadro 14. Comparación entre las fases 1 y 2 de los recuentos de bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes totales en leche de la ordeña de la mañana en distintos puntos de muestreo: productor 2

Puntos de Muestreo	ufc/ml*					
	Termodúricas		Psicrótrofas		Coliformes	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Fin de Ordeña	9.500	100	21.000	3.000	400	100
Fin de Almacenamiento Predial (Tarro, T° Ambiente, <30 minutos)	8.200	100	28.000	2.600	400	300
Fin de Recolección (Tarro, T° Ambiente, <15 minutos)	11.000	100	6.500	900	<100	<100
Fin de Almacenamiento Simulado en CAL (Frasco, 4°C, 2 horas)	8.500	200	14.000	900	40.000	100
Fin de Simulación de Almacenamiento Refrigerado Permanente (Frasco, 4°C, 4 horas)	7.000	800	12.000	2.700	100	300

*Cifras en rojo representan valores superiores a lo recomendable (<300 ufc/ml de bacterias termodúricas; <20.000 ufc/ml de bacterias psicrótrofas; <200 ufc/ml de coliformes totales. Fuentes: Thomas y Druce, 1971; Shearer *et al.*, 1992)

)

5.2.3. Recuentos Bacterianos de los Equipos de Ordeña y Tarros Lecheros

5.2.3.1. Productor 1

El cuadro 15 permite apreciar los elevados valores que alcanzó el recuento bacteriano total en los componentes del equipo de ordeña y tarros lecheros de este productor, en la fase 1 del estudio. Ello se observó especialmente en una de las unidades de ordeña y en una de las mangueras de leche, donde además se determinó un alto recuento de bacterias termodúricas. De acuerdo a un criterio de evaluación del recuento bacteriano total de enjuagues de tarros lecheros (Ministry of Agriculture and Fisheries, 1944, citado por Bidegain, 1976), los resultados obtenidos en la fase 1 para el muestreo aleatorio de tres tarros, indicarían que dos de ellos tenían un nivel de contaminación aceptable (no >50.000 ufc/tarro), mientras que uno presentó un recuento que corresponde a una calificación higiénica insatisfactoria (>250.000 ufc/ml).

El cambio de los elementos sobreutilizados del equipo, así como el mejoramiento de la rutina de lavado, se reflejó durante la fase 2 en una disminución en los recuentos bacterianos de sus componentes, especialmente de las mangueras largas de leche, las cuales habían sido utilizadas por un período 5 veces mayor al recomendable. Los recuentos bacterianos totales de dos tarros también tendieron a disminuir durante la fase 2. Los altos niveles de recuento de bacterias totales y termodúricas del tarro 2 serían atribuibles a un excesivo desgaste, ya que las irregularidades de su superficie interna favorecen la proliferación bacteriana y dificultan su higienización (Dirven y Ortega, 2001).

5.2.3.2. Productor 2

Los resultados del cuadro 16 indicarían una higiene deficiente para la unidad de ordeña durante la fase 1, que reflejaría principalmente un desgaste excesivo de las pezoneras. Al cambiar éstos y otros elementos del equipo de ordeña, y efectuar un adecuado lavado del mismo, hubo una reducción apreciable en los recuentos de bacterias totales y termodúricas de la unidad de ordeña. Ello también

se observó para los recuentos determinados a partir de enjuagues de la manguera de leche.

En el mismo cuadro, es posible apreciar los altísimos niveles de recuento que alcanzaron las bacterias mesófilas y termodúricas en el tarro lechero de este productor, tanto en la fase 1 como en la fase 2, debido probablemente a su mal estado de conservación (Dirven y Ortega, 2001). En ambas fases del estudio, el recuento bacteriano total de las muestras de enjuague del tarro alcanzó valores que denotan claramente un estado higiénico insatisfactorio (>250.000 ufc/ml), (Ministry of Agriculture and Fisheries, 1944, citado por Bidegain, 1976).

Los resultados obtenidos en la evaluación del recuento bacteriano total y de bacterias termodúricas de los enjuagues de las unidades de ordeña, mangueras de leche y tarros lecheros de ambos productores deben ser interpretados con precaución, dado que corresponden a un solo muestro para cada fase del estudio, pudiendo estar también influenciados por eventuales variaciones en el procedimiento de obtención de las muestras a partir de cada uno de estos elementos (tiempo de agitación y volumen de suero Ringer recuperado).

En el caso de los tarros, no se observó mayores variaciones en los recuentos de bacterias aerobias mesófilas y termodúricas entre las dos fases del estudio (productor 2), o éstos tendieron a aumentar en uno de los tarros del productor 1 durante la fase 2, lo que sería atribuible a un mal estado de conservación. El cambio de la rutina de lavado no se reflejó claramente en los recuentos de los demás tarros de este último productor, ya que el recuento bacteriano total disminuyó levemente en la fase 2 y el recuento de bacterias termodúricas exhibió una tendencia inversa. El reemplazo de los componentes sobreutilizados de los equipos de ordeña de ambos productores y el cambio de la rutina de lavado de los equipos, parecen haberse reflejado mejor en los resultados obtenidos para los recuentos bacterianos de las muestras de enjuagues de las unidades de ordeña y las mangueras de leche, que indicarían una tendencia de disminución entre ambas fases del estudio para el productor 2. Ello fue menos evidente en el caso del

productor 1, donde esta tendencia se evidenció claramente sólo en las mangueras de leche para el recuento bacteriano total (Cuadros 15 y 16).

Considerando las limitaciones que involucra un solo muestreo para evaluar el estado higiénico de los componentes del equipo de ordeña y tarros lecheros en ambas fases del estudio, los resultados obtenidos para los recuentos bacterianos de los enjuagues serían consistentes con la disminución que experimentaron tanto el recuento bacteriano total de la leche como los recuentos de bacterias termodúricas y coliformes, después de instaurar las medidas de mejoramiento. Al respecto, Dunsmore *et al.* (1981) señalan que el parámetro más sensible de evaluación de la eficiencia de un sistema de lavado de equipos de ordeña es la calidad bacteriológica de la leche, medida a través de los recuentos de bacterias totales, coliformes, psicrotomas y termodúricas. De acuerdo a Price *et al.* (1976), el gran volumen de leche que circula por un equipo de ordeña, cuya superficie es relativamente reducida, provoca una dilución de las bacterias presentes en sus superficies, disminuyendo la concentración microbiana de la leche.

Por otra parte, los resultados denotarían una situación análoga a la descrita en un estudio efectuado en dos lecherías, con recuentos bacterianos muy variables en las muestras de leche de estanque analizadas quincenalmente por la planta, donde se evaluó tres sistemas de lavado e higienización de equipos de ordeña con tuberías de transporte de leche, observándose en el transcurso del ensayo una tendencia general de disminución de los recuentos de bacterias aerobias mesófilas determinados en muestras de solución Ringer del equipo de ordeña, conjuntamente con una disminución de los recuentos bacterianos en la leche de estanque, cuyo promedio se redujo a un valor <10.000 ufc/ml. En general, los resultados de este estudio demostraron una relación estadísticamente significativa ($p < 0,05$), entre la contaminación bacteriana del equipo y el recuento bacteriano de la leche de estanque (Grob, 2000).

Cuadro 15. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total y de bacterias termodúricas (ufc/ml), de los componentes del equipo de ordeña y tarros lecheros: productor 1

Puntos de Muestreo	Recuento Bacteriano Total		Recuento de Termodúricas	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Unidades de Ordeña (pezoneras y colector)				
1	22.000	7.800	2	5
2	6.200	4.600	12	2
Mangueras de Leche				
1	1.600.000	5.300	8.200	4
2	67.000	71	20	4
Tarros Lecheros				
1	15.000	3.200	1	80
2	290.000	1.200.000	120	3.000
3	5.100	1.100	7	20

Cuadro 16. Comparación entre las fases 1 y 2 del recuento bacteriano total y de bacterias termodúricas (ufc/ml), de los componentes del equipo de ordeña y tarros lecheros: productor 2

Puntos de Muestreo	Recuento Bacteriano Total		Recuento de Termodúricas	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Unidad de Ordeña (pezoneras y colector)	36.000	20	250	2
Manguera de Leche	240	4	170	18
Tarro Lechero	4.300.000	3.900.000	2.300	3.700

A modo de resumen y considerando globalmente los resultados obtenidos en las fases 1 y 2 del estudio, éstos demuestran claramente que la principal fuente de contaminación bacteriana de la leche es el equipo de ordeña, incluidos los tarros lecheros, cuando su mantención y lavado se realiza inapropiadamente, pudiendo llegar el recuento bacteriano total de la leche al término de la ordeña a niveles como los determinados en el caso del productor 2 (200.000-300.000 ufc/ml), lo que coincide con lo descrito en la literatura. Los niveles que alcanzaron los recuentos de bacterias termodúricas y coliformes totales de la leche en ambas fases del estudio, son consistentes con los encontrados para el RBT y corroborarían la importancia de la relación entre la higiene del equipo de ordeña y la calidad bacteriológica de la leche.

Este importante factor de contaminación puede ser controlado adecuadamente, cambiando las pezoneras y mangueras dentro de la periodicidad recomendada por

los fabricantes, junto con un adecuado lavado e higienización del equipo de ordeña y tarros lecheros. De esta forma, para un pequeño productor sería posible producir leche de excelente calidad bacteriológica (<10.000 ufc/ml), situación en que disminuye la importancia relativa del equipo como fuente de contaminación y aumenta la del aporte de bacterias a la leche proveniente de las vacas, lo que refuerza la importancia de la preparación para la ordeña con el fin de mantener estos niveles de calidad.

De los resultados también se deduce que para recuentos bacterianos totales de fin de ordeña <300.000 ufc/ml, las etapas de almacenamiento y transporte a temperatura ambiente no constituirían un punto crítico de la calidad bacteriológica de la leche, cuando ésta llega al acopio dentro de un período de 2 a 3 horas de finalizada la ordeña, lo que coincide con el período bacteriostático de la leche. Bajo estas condiciones, la contaminación proveniente de la ordeña (vacas y equipo), representaría la mayor parte de la carga bacteriana con que la leche llega al acopio.

Sin embargo, el almacenamiento a temperatura ambiente de la leche de la ordeña de la tarde hasta el día siguiente, constituye un factor de deterioro de la calidad bacteriológica para niveles de recuento inicial del orden de 20.000 ufc/ml, cuyo efecto puede ser atenuado disminuyendo el recuento bacteriano de fin de ordeña mediante un adecuado lavado y sanitizado del equipo de ordeña, junto con el empleo de procedimientos higiénicos apropiados en la preparación para la ordeña. La mantención de los bajos valores de RBT de fin de ordeña alcanzados mediante estas medidas de mejoramiento (<10.000 ufc/ml), sólo podría lograrse almacenando la leche de la ordeña de la tarde en un estanque refrigerado.

Finalmente, los resultados sugieren que no debería esperarse un incremento del recuento bacteriano total con que la leche llega al acopio, durante el breve período de almacenamiento en el estanque correspondiente a la recepción de la mañana.

6. CONCLUSIONES

La principal fuente de contaminación en leche con recuentos bacterianos elevados es el equipo de ordeña, incluidos los tarros lecheros, debido a una mantención deficiente y a un lavado inadecuado de estos elementos, teniendo una importancia menor el aporte de bacterias provenientes de la vaca.

Para recuentos de fin de ordeña bajos, la contribución relativa de las vacas como fuente de contaminación adquiere mayor relevancia; por lo que se debería optimizar la higiene del ambiente y la preparación para la ordeña, con el fin de producir leche de excelente calidad bacteriológica.

Es factible producir leche de excelente calidad bacteriológica (<10.000 ufc/ml), si se efectúa un programa de mantención de los equipos de ordeña y éstos se someten a una rutina adecuada de lavado, conjuntamente con el empleo de procedimientos higiénicos de ordeña.

Para recuentos iniciales <300.000 ufc/ml, las etapas de almacenamiento y transporte no constituyen un punto crítico de la calidad bacteriológica de la leche, cuando ésta llega al acopio dentro de 2 a 3 horas de finalizada la ordeña, condición que cumple la mayoría de los productores de María Pinto.

Debido al notable crecimiento bacteriano que se registra, el almacenamiento a temperatura ambiente de la leche de la ordeña de la tarde hasta la mañana siguiente, representa un factor importante de deterioro de la calidad bacteriológica, incluso en leches de calidad inicial relativamente buena.

La simulación de condiciones ideales de almacenamiento refrigerado de la leche, permitiría suponer que los estanques de los acopios no constituyen un punto crítico de la calidad bacteriológica, para períodos de almacenamiento de 2 horas de duración.

7. BIBLIOGRAFIA

ACEITUNO, F. 1995. Recomendaciones para un adecuado ordeño. Cooprinforma N° 27: 1-3.

AGÜERO, H. 1995. Situación actual de la calidad láctea en Chile y en países desarrollados. **In:** Lanuza, F. (Ed.). Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 23-24 junio 1995. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 3-32.

AGÜERO, H. 1997. Curso Calidad de Leche. Profo Todoagro S.A. Valdivia, Chile. 2 v.

AGÜERO, H. 2002a. Calidad higiénica de leche, pautas de pago y precios de leche en el mercado de la industria lechera nacional. **In:** Agüero, H.; Acuña, F. (Eds.). I Seminario Red Lechera INDAP, Región Metropolitana y V Región. Calidad Higiénica de Leche. Santiago, Chile. 31 mayo 2002. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. pp. 5-33.

AGÜERO, H. 2002b. Calidad de leche en la X Región. **In:** Seminario Internacional Avances en Control de Mastitis y Mejoramientos de la Calidad de Leche. Puerto Varas, Chile. 10 septiembre 2002. Osorno, Chile. 11 septiembre 2002. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-Cooprinsem. 28 p.

AGÜERO, H.; PEDRAZA, C.; GODOY, S. 1987. Calidad higiénica del agua y su relación con el contenido microbiano de la leche. *Agric. Técnica* 47 (2): 136-141.

AGÜERO, H.; PEDRAZA, C.; SUAZO, X. 1989. Evaluación bacteriológica de leche almacenada en estanques prediales. *Agric. Técnica* 49 (4): 291-297.

AGÜERO, H.; MORAGA, L.; SAN MARTIN, B.; KÖBRICH, C. 2000. Proyecto "Mejoramiento de la calidad higiénica de leche-UFOCO S.A., María Pinto. Informe final". Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. CORFO, SERCOTEC. 2 v.

ALAIS, C. 1985. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 4^a ed. Editorial Reverté S.A. Barcelona, España. 873 p.

ALFA LAVAL AGRI. 1996. Ordeño profesional. Alfa Laval Agri AB. Tumba, Sweden. 33 p.

ALFA LAVAL AGRI. 1998. Lavado eficaz. Alfa Laval Agri AB. Tumba, Sweden. 24 p.

ALFA LAVAL AGRI. s.f. It pays to replace liners and tubing in time. Alfa Laval Agri AB. s.p.

ANDRES, L. 2000a. Higiene en el equipo de ordeño: un constante desafío. Revista de Lechería, El Diario Austral de Osorno. Osorno, Chile, 25 septiembre. Edición N° 6: 16-18.

ANDRES, L. 2000b. Mantención y chequeo de equipos de ordeño: duerma tranquilo y asegure su rentabilidad. Revista de Lechería, El Diario Austral de Osorno. Osorno, Chile, 27 noviembre. Edición N° 7: 10-11.

ANDRES, L. 2001a. Inspección, revisión y mantención de equipos de ordeño. In: Curso Alimentación y Manejo Animal. Valdivia, Llanquihue y Osorno, Chile. Marzo-abril 2001. Proyecto "Mejoramiento de la productividad de los pequeños productores lecheros". U. Austral de Chile, Centro Nacional de Capacitación y Entrenamiento en Reproducción y Manejo Animal ([CENEREMA](#))-Agencia de Cooperación Internacional de Japón (JICA)-Gobierno Regional de Los Lagos-Ministerio de Agricultura. 7 p.

ANDRES, L. 2001b. Higiene y sanitización de equipos de ordeña, estanques y utensilios de lechería. In: Curso Alimentación y Manejo Animal. Valdivia, Llanquihue y Osorno, Chile. Marzo-abril 2001. Proyecto "Mejoramiento de la productividad de los pequeños productores lecheros". U. Austral de Chile, Centro Nacional de Capacitación y Entrenamiento en Reproducción y Manejo Animal ([CENEREMA](#))-Agencia de Cooperación Internacional de Japón (JICA)-Gobierno Regional de Los Lagos-Ministerio de Agricultura. 9 p

ANDRES, L. 2001c. Manual de higiene para el productor. In: Curso Alimentación y Manejo Animal. Valdivia, Llanquihue y Osorno, Chile. Marzo- abril 2001. Proyecto "Mejoramiento de la productividad de los pequeños productores lecheros". U. Austral de Chile, Centro Nacional de Capacitación y Entrenamiento en Reproducción y Manejo Animal ([CENEREMA](#))-Agencia de Cooperación Internacional de Japón (JICA)-Gobierno Regional de Los Lagos-Ministerio de Agricultura. 8 p

BEZAMA, M. 1991. Mastitis del bovino lechero. Estudio de prevalencia en la Región Metropolitana y descripción de factores asociados con la enfermedad. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 217 p.

BIDEGAIN, H. 1972. El enfriamiento como elemento protector de la materia prima. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Instituto Tecnológico de la Leche. 5 p. (Apartado N° 3).

BIDEGAIN, H. 1976. Prospección de las condiciones higiénicas de tarros lecheros en la zona sur del país. Agro Sur 4 (1): 29-35.

BLANLOT, E. 1997. La rutina de ordeño y los ordeñadores como factores determinantes de la calidad de leche. **In:** II Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 15-16 julio 1997. Temuco, Chile. 18-19 julio 1997. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 59-69.

BLANLOT, E. 1999. La rutina de ordeño en la prevención de mastitis. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 85-95.

BOMBAL, E. 2003. Evaluación de la capacidad de conservación de muestras de leche para análisis de recuento bacteriano, recuento de células somáticas, grasa y proteína. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 223 p.

BOOTH, J. 1998. Esquemas de pago de leche por calidad. **In:** Kruze, J. (Ed.). II Jornada Conamascal. Control de Mastitis y Calidad de Leche. Valdivia, Chile. Abril 1998. Consejo Nacional de Mastitis y Calidad de Leche A.G (Conamascal). pp. 19-28.

BRAMLEY, A.J. 1992. Milk hygiene and machine milking. **In:** Bramley, A.J.; Dodd, F.; Mein, G.; Bramley, J.A. (Eds.). Machine milking and lactation. Insight Books. Berkshire, UK. pp. 373-398.

BRADLEY, R.L. 1982. Efficient cleaning with warm water. J. Food Prot. 45 (11): 1010-1012.

BRAY, D; SHEARER, J.K. s.f. Trouble-shooting a problem herd. [en línea]. Dairy Extension Publications
<[http://www. animal. ufl.edu/extension/dairy/pubs/trobshot.html](http://www.animal.ufl.edu/extension/dairy/pubs/trobshot.html)> [consulta: 17-06-2002]

BUTENDIECK, N. 1997. La calidad de leche bovina: un desafío permanente para el futuro. **In:** II Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 15-16 julio 1997. Temuco, Chile. 18-19 julio 1997. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 1-14.

CARRILLO, B. 1997. Calidad higiénica de leche cruda. Centro de Gestión Empresarial de Paillaco. Instituto de Desarrollo Agropecuario (Indap) X Región. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Agrarias. Valdivia, Chile. 110 p.

CARRILLO, B.; VASQUEZ, A.; VIDAL, C. 1997. Informe final mejoramiento de la calidad higiénica de leche cruda para los centros de acopio lecheros (CAL) de Mune, Quitratue y Casahué, IX Región, Chile. Corporación de Fomento de la Producción (CORFO). 25 p. (citados por Carrillo, B.; Vidal, C. 1999. Calidad higiénica de la leche cruda de pequeños productores vinculados a centros de acopio lechero. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad

Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 147-171).

CARRILLO, B.; VIDAL, C. 1999. Calidad higiénica de la leche cruda de pequeños productores vinculados a centros de acopio lechero. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 147-171.

CARRILLO, B.; VIDAL, C. 2001. Calidad higiénica de leche: Resultados técnicos y económicos de centros de acopio lechero del CEGE-Paillaco. Agro Económico N° 64: Septiembre 2001: 46-50.

CODEX ALIMENTARIUS. 1999. Código internacional recomendado revisado de prácticas-principios generales de higiene de los alimentos, CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 (1997), Amd. 1 (1999). 34 p.

CODEX ALIMENTARIUS. 2001. Anteproyecto de código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. [en línea]. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del *CODEX* sobre higiene de los alimentos. <Ftp://ftp.fao.org/CODEX/ccfh34/fh01_08s.pdf> [consulta: 18-06-2003].

CORBETT, R.B. 1997. Solución a problemas ocasionados por películas o depósitos residuales en equipos lecheros. **In:** II Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 15-16 julio 1997. Temuco, Chile. 18-19 julio 1997. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 89-102.

COUSIN, M.A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. J. Food. Prot. 45 (2): 172-207.

COUSINS, C.; BRAMLEY, A.J. 1981. The microbiology of raw milk. **In:** Robinson, R.K. (Ed.). Dairy microbiology. Vol 1. The microbiology of milk. Applied Science Publishers. London, UK. pp. 119-163.

CZECHOWSKI, M.H. 1991. Biofilms and biodeterioration and biodegradation. Biofilms and surface sanitation in the food industry. Biodeteriorat. Biodegradat. 8: 453-454. (citado por Ruiz, B. 2000. Desarrollo y estabilidad de biofilms de pseudomonas de origen alimentario. Tesis Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid, Fac. Veterinaria. 321 p).

CHARLON, R.B.; KINDE, H.; JENSEN, J.H. 1990. Environmental survey for *Listeria* species in California milk processing plants. J. Food Prot. 53: 198-201. (citados por Ruiz, B. 2000. Desarrollo y estabilidad de biofilms de pseudomonas de origen alimentario. Tesis Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid, Fac. Veterinaria. 321 p).

CHILE, INN (INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION).s 1984a. NCh 1620/1. Of 1984. Agua potable-Determinación de bacterias coliformes totales-Parte 1: Método de los tubos múltiples (NMP). 17 noviembre 1984. 18 p.

CHILE, INN (INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION). 1984b. NCh 409/1. Of 1984. Agua Potable-Parte 1: Requisitos. 16 enero 1984. 14 p.

CHILE, INN (INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION). 1984c. NCh 409/2. Of 1984. Agua potable-Parte 2: Muestreo. 16 enero 1984. 11 p.

CHILE, INN (INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION). 1999. NCh 2069. Of 1999. Buenas prácticas de fabricación de productos lácteos. 4 marzo 1999. 14 p.

CHILE, ISP (INSTITUTO DE SALUD PUBLICA). 1998. Manual de técnicas microbiológicas para alimentos y aguas. Ministerio de Salud. Subdepartamento Laboratorios del Ambiente. Santiago, Chile. 95 p.

CHILE, MINSAL (MINISTERIO DE SALUD). 2000. Decreto Supremo N° 977. Nuevo reglamento sanitario de los alimentos. 13 mayo 1997, actualizado 2000. 287 p.

CHRISTEN, G.L.; DAVIDSON, P.M.; McALLISTER, J.S.; ROTH, L.A. 1992. Coliform and other indicator bacteria. **In:** Marshall, R.T. (Ed.). Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed. American Public Health Association. Washington, DC, USA. pp. 247-269.

DAVIS, J.G. 1987. Microbiología de la crema y de los postres de leche. **In:** Robinson, R.K. (Ed.). Microbiología lactológica. Vol 2. Microbiología de los productos lácteos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 298 p.

DIRVEN, M.; ORTEGA, L. 2001. El complejo productivo lácteo en Chile. **In:** Dirven, M. (Ed.). Apertura económica y (des) encadenamientos productivos. Reflexiones sobre el complejo lácteo en América Latina. CEPAL. Santiago, Chile. pp. 143-208.

DONNAY, A. 1996. Evaluación de la calidad bacteriológica y citológica de la leche a granel en lecherías de la VIII Región. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. U. Concepción, Fac. Medicina Veterinaria. 58 p.

DUMONT, J.C. 1979. Efecto del tipo de detergente y de la dureza del agua de lavado del equipo mecánico de ordeña sobre la calidad bacteriológica de la leche. Tesis Título Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. U. Católica de Chile, Fac. Agronomía. 63 p.

DUNSMORE, D.G 1981. Bacteriological control of food equipment surface by cleaning systems. I. Detergent effects. J. Food Prot. 44 (1): 15-20.

DUNSMORE, D.G.; TWOMEY, A.; WHITTLESTONE, W.G.; MORGAN, H.W. 1981. Design and performance of systems for cleaning product-contact surfaces of food equipment: a review. *J. Food Prot.* 44 (3): 220-240.

DURANDAL, P. 2003. Diagnóstico predial de producción, obtención, almacenamiento y transporte de leche en tres centros de acopio lechero, Región Metropolitana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 233 p.

ECOLAB. 1996. Making the right choice. Sanitizers. Ecolab, Food & Beverage Division Klenzade, Engineered Cleaning Solutions. 32 p.

EDMONSON, P.W.; WILLIAMSON, E. 1995. Análisis de la leche de estanque refrigerado. Informativo Agropecuario Bioleche. Marzo 1995: 3-4.

ELLNER, R. 2000. Microbiología de la leche y de los productos lácteos. Preguntas y respuestas. Ediciones Díaz de Santos S.A. Madrid, España. 144 p.

ESPEJO, L. 2001. Evaluación de la calidad higiénica de leche de los centros de acopio lechero en la comuna de María Pinto, Región Metropolitana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 135 p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1981a. Manual de higiene y manejo de la leche. Equipo Regional de Fomento y Capacitación en Lechería para América Latina. Santiago, Chile. s.p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1981b. Manual de ordeño e higiene de la leche. Equipo Regional de Fomento y Capacitación en Lechería para América Latina. Santiago, Chile. 68 p.

FEPALE (Federación Panamericana de Lechería). 2001a. Control de materias primas. Módulo 2. **In:** Curso Internacional Electrónico: El Papel de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y los Procedimientos Operativos Estandarizados (SOP) en el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en la Industria Láctea. Junio-agosto 2001. Federación Panamericana de Lechería y Quality Consultoría y Asesoría.

FEPALE (Federación Panamericana de Lechería). 2001b. Limpieza de las superficies en contacto con el alimento. Módulo 5. **In:** Curso Internacional Electrónico: El Papel de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y los Procedimientos Operativos Estandarizados (SOP) en el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en la Industria Láctea. Junio-agosto 2001. Federación Panamericana de Lechería y Quality Consultoría y Asesoría.

FERNANDEZ, P.; PRÜSSING, P. 2002. Análisis bacteriológico de estanque B.T.A. Cooprinforma N° 64: 17-18.

FORSYTHE, S.J.; HAYES, P.R. 2002. Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 489 p.

FOSS ELECTRIC. 1995. Reference manual integrated milk testing. Part 2. The instruments. Foss Electric. Hillerød, Denmark. 68 p.

FOSS ELECTRIC. 1999. Bactoscan. **In:** Primer Seminario de Usuarios del Bactoscan. Quilmes, Argentina. 1-2 noviembre 1999. Foss Electric. 8 p.

FRANK, J.F.; CHRISTEN, G.L.; BULLERMAN, L.B. 1992. Tests for groups of microorganisms. **In:** Marshall, R.T. (Ed.). Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed. American Public Health Association. Washington, DC, USA. pp. 271-286.

FUNDACION CHILE. 1997. Productos lácteos: Calidad de materia prima y tecnología de conservación. Agro Económico N° 40: Agosto-Septiembre 1997: 40-43.

GALTON, D.M.; PETERSSON, L.G.; MERRILL, W.G.; BANDLER, D.K.; SHUSTER, D.E. 1984. Effects of premilking udder preparation on bacterial population, sediment, and iodine residue in milk. J. Dairy Sci. 67: 2580-2589.

GALTON, D.M.; PETERSSON, L.G.; MERRILL, W.G. 1986. Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats. J. Dairy Sci. 69: 260-266.

GALTON, D.M.; PETERSSON, L.G.; MERRILL, W.G. 1988. Evaluation of udder preparations on intramammary infections. J. Dairy Sci. 71: 1417-1421.

GALTON, D.M. 1993. Effectiveness of premilking udder preparation practices on milk quality and udder health. [en línea]. Western Large Herd Management Conference. Las Vegas, Nevada, USA. pp. 69-78. <<http://www.wdmc.org/1993/93WDMC076-85.pdf>> [consulta: 17-06-2002]

GAMROTH, M; BODYFELT, F.W. 1993. Good farm equipment sanitation means better milk quality test. [en línea]. Oregon State University Extension Service. <<http://eesc.orst.edu/AgComWebFile/EdMat/EM8408.pdf>> [consulta: 18-06-2002]

GARCIA, M.R.; SUTHERLAND, A. 1997. Temperature characterization of psychrotrophic and mesophilic *Bacillus* species from milk. J. Dairy Res. 64: 261-270.

GEHRIGER, G. 1981. Multiplication of bacteria in milk during farm storage. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 33 (4): 317-323.

GILMOUR, A.; ROWE, M.T. 1981. Micro-organisms associated with milk. **In:** Robinson, R.K. (Ed.). Dairy microbiology. Vol 1. The microbiology of raw milk. Applied Science Publishers. London, UK. pp. 35-75.

GODOY, S. 1985. Determinación de bacterias totales, psicrótróficas y coliformes en leche almacenada a temperatura de refrigeración y su relación con el contenido bacteriano del agua. Tesis Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 148 p.

GROB, R. 2000. Evaluación de distintos métodos de higienización de equipos de ordeño mecánico. Tesis Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 32 p.

HAMANN, J. 1997. Guidelines for evaluation of the milking process. Bulletin IDF N° 321: 26-30.

HANSEN, M. 1994. Milk quality and mastitis in small farms in southern Chile: a preliminary analysis. Uppsala, Sweden. Swedish University of Agricultural Sciences. Working paper 256. 22 p. (citado por Kruze, J. 1998. Esquemas de pago por calidad en Chile y su impacto sobre la calidad higiénica de la leche. **In:** Kruze, J. (Ed.). II Jornada Conamascal. Control de Mastitis y Calidad de Leche. Valdivia, Chile. Abril 1998. Consejo Nacional de Mastitis y Calidad de Leche A.G. (Conamascal). pp. 29-48).

HARDY, G. 1997. Aspectos de las instalaciones de ordeño en Chile y su posible relación con la calidad láctea. **In:** II Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 15-16 julio 1997. Temuco, Chile. 18-19 julio 1997. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 45-57.

HARDY, G. 1999. Aspectos a considerar en el lavado e higienización de equipos y utensilios de ordeño de pequeños productores lecheros. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 139-145.

HARDY, G. 2002a. Análisis e importancia relativa de las fuentes de contaminación y proliferación de bacterias en la leche. **In:** Agüero, H.; Acuña, F. (Eds.). I Seminario Red Lechera INDAP, Región Metropolitana y V Región. Calidad Higiénica de Leche. Santiago, Chile. 31 mayo 2002. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. pp. 103-111.

HARDY, G. 2002b. Aspectos a considerar en el lavado e higienización de equipos y utensilios de ordeño de pequeños productores lecheros. **In:** Agüero, H.; Acuña, F. (Eds.). I Seminario Red Lechera INDAP, Región Metropolitana y V Región. Calidad Higiénica de Leche. Santiago, Chile. 31 mayo 2002. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. pp. 113-122.

HARDY, G.; ACEITUNO, F. 1995. Ordeña mecánica y calidad láctea. In: Lanuza, F. (Ed.). Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 23-24 junio 1995. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 65-78, 79-91.

HARMON, R. 1997. Qué evaluar en el predio. In: II Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 15-16 julio 1997. Temuco, Chile. 18-19 julio 1997. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 32-33.

HARTLEY, J.C.; REINBOLD, G.W.; VEDAMUTHU, E.R.; CLARK, W.S. 1968. Bacterial test results of grade-A raw milk samples as a measure of farm production conditions. J. Milk Food Technol. 31 (12): 388-392.

HEIMLICH, W.; CARRILLO, B. 1995. Manual para centros de acopio de leche. Producción, operación, aseguramiento de calidad y gestión. Corporación de Fomento de la Producción (CORFO)-Universidad Austral de Chile. 166 p.

HOGAN, J.S.; HOBLET, K.H.; SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S.; HUESTON, W.D.; PRITCHARD, D.E.; BOWMAN, G.L.; HEIDER, L.E.; BROCKETT, B.L.; CONRAD, H.R. 1988. Bacterial and somatic cell counts in bulk tank milk from nine well managed herds. J. Food Prot. 51 (12): 930-934.

HOUBRAQUEN, A.; PINTO, M. 1974. Análisis químicos en agua. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Instituto Tecnológico de la Leche. 8 p. (Apartado N° 270).

HOUGHTBY, G.A.; MATURIN, L.J.; KOENIG, E.K. 1992. Microbiological count methods. In: Marshall, R.T. (Ed.). Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed. American Public Health Association. Washington, DC, USA. pp. 213-246.

ICMSF (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS). 1980. Ecología microbiana de los alimentos. 2. Productos alimenticios. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 666 p.

IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION). 1980. General code of hygienic practice for the dairy industry. Bulletin of the International Dairy Federation N° 123/1980. Brussels, Belgium. IDF/FIL (citado por FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1981a. Manual de higiene y manejo de la leche. Equipo Regional de Fomento y Capacitación en Lechería para América Latina. Santiago, Chile. s.p.).

IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION). 1981. Summary reports and conclusions. In: Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk. Kiel, Germany. 8-10 september 1981. IDF/FIL. pp. 178-185.

IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION). 1991. Methods for assessing the bacteriological quality of raw milk from the farm. Bulletin IDF N° 256/1990. 62 p.

JARPA, L. C. 1979. Contaminación bacteriana de la leche entre predio y planta lechera. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre la calidad bacteriológica de la leche. Tesis Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 53 p.

KRUZE, J. 1997. Calidad bacteriológica de leche cruda: un desafío para el productor y la industria. El Médico Veterinario Año IV (8): 16-25.

KRUZE, J. 1998. Esquemas de pago por calidad en Chile y su impacto sobre la calidad higiénica de la leche. **In:** Kruze, J. (Ed.). II Jornada Conamascal. Control de Mastitis y Calidad de Leche. Valdivia, Chile. Abril 1998. Consejo Nacional de Mastitis y Calidad de Leche A.G. (Conamascal). pp. 29-48.

KRUZE, J. 1999. Calidad higiénica de leche cruda en Chile. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 1-33.

KRUZE, J. 2000. Milk quality in Chile: progress towards reducing SCC and TBC in raw milk during the last twenty years. **In:** Pacific Congress on Milk Quality and Mastitis Control. Nagano, Japan. 13-16 november 2000. pp. 113-118.

LAGGER, J.R. 1998. El ácido peracético (PAA), desinfectante-esterilizante en frío de equipos de ordeño y de plantas lácteas. Veterinaria Argentina. Vol. XV (150): 719-726.

LESSER, A.R.; RODRIGUEZ, M.; CABONA, O.J. 1979. Instalaciones y equipos de ordeño. Editorial Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina. 318 p.

LERDON, J.; CARRILLO, B.; BALOCCHI, O.; MOREIRA, V.; VASQUEZ, A.; VIDAL, C.; SOLER, A. 1996. Proyecto de intervención del Centro de Información y Gestión Empresarial de Paillaco. Centro de Gestión Empresarial de Paillaco. Instituto de Desarrollo Agropecuario (INDAP) X Región–U. Austral de Chile, Fac. Cs. Agrarias. Valdivia, Chile. Junio 1996. 126 p. (citados por Carrillo, B.; Vidal, C. 1999. Calidad higiénica de la leche cruda de pequeños productores vinculados a centros de acopio lechero. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 147-171).

LERDON, J.; CARRILLO, B.; BALOCCHI, O.; MOREIRA, V.; VASQUEZ, A.; VIDAL, C.; SOLER, A. 1998. Informe de Avance 6.1, Período enero–junio de 1998. Centro de Gestión Empresarial de Paillaco. Instituto de Desarrollo Agropecuario (INDAP) X Región–U. Austral de Chile, Fac. Cs. Agrarias. Valdivia, Chile. Junio 1996. 90 p. (citados por Carrillo, B.; Vidal, C. 1999. Calidad higiénica de la leche cruda de pequeños productores vinculados a centros de acopio lechero. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 147-171).

LOCHER, G. 2001. La rutina de ordeño y su asociación con el recuento celular y el recuento bacteriano en rebaños lecheros del sur de Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Ciencias. 84 p.

LÜCK, H. 1972. Bacteriological quality tests for bulk-cooled milk. Dairy Sci. Abstr. 34 (2): 35-40.

MAGARIÑOS, H. 1978. Análisis microbiológico de leche y productos lácteos. Manual práctico. U. Austral de Chile, Centro Tecnológico de la Leche. Valdivia, Chile. 243 p.

MARRIOTT, N.G. 1999. Principios de higiene alimentaria. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 416 p.

McFETERS, G.A.; BAZIN, M.J.; BRYERS, J.D.; CALDWELL, D.E.; CHARACKLIS, W.G.; LUND, D.B.; MIRELMAN, D.; MITCHELL, R.; SUBERT, R.H.W.; TANAKA, T.; WHITE, D.C. 1984. Biofilm development and its consequences. Group report. **In:** Marshall, K.C. (Ed.). Microbial adhesion and aggregation. Springer-Verlag, New York, USA. pp. 109-124. (citados por Ruiz, B. 2000. Desarrollo y estabilidad de biofilms de pseudomonas de origen alimentario. Tesis Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid, Fac. Veterinaria. 321 p).

McKINNON, C.H.; FULFORD, R.J.; COUSINS, C.M. 1983. Effect of teat washing on the bacteriological contamination of milk from cows kept under various housing conditions. J. Dairy Res. 50: 153-162.

McKINNON, C.H.; ROWLANDS, J.; BRAMLEY, A.J. 1990. The effect of udder preparation before milking and contamination from the milking plant on bacterial numbers in bulk milk of eight dairy herds. J. Dairy Res. 57: 307-318.

MENANTEAU, M. 2000. Determinación de la calidad higiénica de la leche cruda proveniente de estanques en lecherías de la provincia de Llanquihue (X Región) y evaluación de acuerdo a la Directiva del Consejo 92/46/CEE. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. U. Concepción, Fac. Medicina Veterinaria. 58 p.

MIF (MILK INDUSTRY FOUNDATION). 1957. Manual for milk plant operators. MIF. Washington, D.C, USA. 686 p.

MINISTRY OF AGRICULTURE AND FISHERIES. 1944. Examination of washed milk churns provisional technique Form. N°C. 168T. TPY. London: HMSO (citado por Bidegain, H. 1976. Prospección de las condiciones higiénicas de tarros lecheros en la zona sur del país. Agro Sur 4 (1): 29-35).

MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD. 1968. Bacteriological techniques for dairy purposes. Her Majesty's Stationary Office. Technical Bulletin N° 17. 180 p. (citado por Bidegain, H. 1976. Prospección de las condiciones higiénicas de tarros lecheros en la zona sur del país. Agro Sur 4 (1): 29-35).

MORSE, P.M.; JACKSON, H.; McNAUGHTON, C.H.; LEGGATT, A.G.; LANDERKIN, G.B.; JOHNS, C.K. 1968a. Investigation of factors contributing to the bacterial count of bulk tank milk. II. Bacteria in milk from individual cows. J. Dairy Sci. 51 (8): 1188-1191.

MORSE, P.M.; JACKSON, H.; McNAUGHTON, C.H.; LEGGATT, A.G.; LANDERKIN, G.B.; JOHNS, C.K. 1968b. Investigation of factors contributing to the bacterial count of bulk tank milk. III. Increase in count, from cow to bulk tank, and effects of refrigerated storage and preliminary incubation. J. Dairy Sci. 51 (8): 1192-1206.

MURPHY, S.; BOOR, K. s.f. Sources and causes of high bacteria counts in raw milk: an abbreviated review. [en línea]. Cornell University Ithaca, New York. <<http://foodscience.cals.cornell.edu/mqip/BACTRawRev.doc>> [consulta: 9-8-2003]

NELSON, F.E. 1981. The microbiology of market milk. In: Robinson, R.K. (Ed.). Dairy microbiology. Vol 1. The microbiology of raw milk. Applied Science Publishers. London, UK. pp. 165-208.

OLSON, C.L. 1962. Hygienic aspects of milk and payment for quality. J. Milk Food Technol. 25 (11): 351-361.

OMEÑACA, F. 2000. Análisis de riesgos e identificación y control de puntos críticos en pequeños productores de leche. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 116 p.

OMS (ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD). 1966. Higiene de la leche. Higiene de la producción y distribución de la leche. Serie de Monografías n° 84. Ginebra (citado por Pedraza, C. 1999. Calidad de agua en predios lecheros y su influencia sobre la calidad de leche. In: Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 123-137).

OVIEDO, P.; SOTO, A. 2000. Impacto de la calidad microbiológica de la leche en el pago al pequeño productor. In: XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Santiago, Chile. 25-27 octubre 2000. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. [disco compacto].

PATIÑO, M. 1998. Análisis descriptivo de calidad de leche en 10 centros de acopio de la provincia de Valdivia. Cooprinforma N° 42: 13-15.

PEDRAZA, C. 1980. Calidad química y bacteriológica del agua en lecherías. Un problema por solucionar. Investigación y Progreso Agropecuario (IPA)-La Platina (Chile) N° 2: 38-39.

PEDRAZA, C. 1988. Higienización de equipos de ordeña mecánica. In: Curso Ordeña Mecánica. Santiago, Chile. 23-27 mayo 1988. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. pp. 197-219.

PEDRAZA, C. 1999. Calidad de agua en predios lecheros y su influencia sobre la calidad de leche. In: Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 123-137.

PEDRAZA, C.; AGÜERO, H.; GODOY, S. 1987. Efecto del tiempo de almacenamiento refrigerado sobre la calidad bacteriológica de la leche. Agric. Técnica 47 (2): 142-147.

PEDRAZA, C.; AGÜERO, H.; SUAZO, X. 1989. Efecto de la temperatura de lavado del equipo de ordeña sobre el contenido microbiano de la leche refrigerada. Agric. Técnica 49 (4): 287-290.

PEDRAZA, C.; FAJARDO, P.; GONZALEZ, M.; CAMPOS, A.; DIAZ, R. 2000. Leche de buena calidad en pequeños productores. In: XXV Reunión Anual Sociedad Chilena de Producción Animal A.G. Puerto Natales, Chile. 18-20 octubre 2000. Libro de Resúmenes. pp. 133-134.

PEIRANO, M. 1991. Determinación de la calidad bacteriológica del agua y de la leche y su relación con la rutina de ordeño en lecherías de la provincia de Ñuble. Memoria Título Médico Veterinario. Chillán, Chile. U. Concepción, Fac. Cs. Agronómicas, Veterinarias y Forestales. 78 p.

PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. 1986. Quality milk production and mastitis control. In: Dairy Research Report 1986. Louisiana Agricultural Experiment Station, Louisiana State University Agricultural Center. pp. 8-43.

PHILPOT, N. 1995. La calidad de la leche representa mayores ganancias para todos. Agroanálisis N° 125: 7-20.

PHILPOT, W.N. 1999. Aumento de la rentabilidad mediante el mejoramiento de la calidad de leche y la reducción de la mastitis. **In:** Curso de Perfeccionamiento Mejoramiento de la Calidad Higiénica de Leche de Pequeños Productores. Osorno, Chile. 6-8 diciembre 1999. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias-UFOCO S.A. pp. 49-84.

PRICE, D.R.; ZALL, R.R.; WEEKS, S.A.; SOBEL, A.T.; BROWN, D.P. 1976. Production of energy and detergent use for cleaning milk handling equipment. *Trasaction of the ASAE* 19 (2): 1143-1146.

RAMIREZ, J. 1980. Calidad de la leche en relación a la refrigeración. *Informativo Agrolechero Soprole Año I* (4): 13-16.

REINEMANN, D.J.; MEIN, G.A.; BRAY, D.R.; REID, D.; BRITT, J.S. 1997. Troubleshooting high bacteria counts in farm milk. [en línea]. Paper presented at the 1997 Annual Meeting of the National Mastitis Council. <http://www.uwex.edu/uwmril/pdf/MilkMachine/Cleaning/97_NMC_Procedures_for_Troubleshooting.pdf> [consulta:20-11-2002]

REINEMANN, D.J.; WOLTERS, G.M.; RASMUSSEN, M.D. 2000. Review of practices for cleaning and sanitation of milking machines. [en línea]. Paper presented at the Pacific Dairy Congress. Nagano, Japan. November 2000 <http://www.uwex.edu/uwmril/pdf/MilkMachine/Cleaning/00_Nagano_CIP.pdf> [consuta:9-4-2002]

RENEAU, J.K. 2001a. Manejo del ambiente para la obtención de leche con bajos recuentos de células somáticas. **In:** III Jornada Internacional en Producción de Leche. Santiago, Chile. 22-23 junio 2001. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. pp. 123-137.

RENEAU, J.K. 2001b. Preparación de la ubre para la producción de leche de calidad. **In:** III Jornada Internacional en Producción de Leche. Santiago, Chile. 22-23 junio 2001. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. pp. 139-150.

REYBROECK, W. 1996. Modern methods for bacteriological quality control of raw milk. **In:** Bacteriological quality of raw milk. International Dairy Federation (IDF). Brussels, Belgium. IDF Special Issue 9601: 131-140.

RICHARD, J. 1981. Multiplication of pseudomonas in milk at low temperature. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 33 (4): 343-346.

RICHTER, R.L. 1992. Cooling milk and cleaning equipment. **In:** Van Horn, H.H.; Wilcox, C.J. (Eds.). Large dairy herd management. American Dairy Science Association. Champaign, Illinois, USA. pp. 525-529.

RIPPES, M. 1982a. ¿El agua que utiliza en la lechería es tan limpia como parece?. *Informativo Agrolechero Soprole Año III* (4): 30-31.

RIPPES, M. 1982b. Desinfección del pozo y de su sistema de almacenaje y conducción de aguas. Informativo Agrolechero Soprole Año III (4): 32.

RIPPES, M. 1982c. Limpieza e higienización de la máquina de ordeña. Informativo Agrolechero Soprole Año III (4): 40-42.

ROMERO, A. 1989. Deterioro de leche y productos lácteos por acción de enzimas bacterianas. Alimentos 14 (3): 57-59.

ROMERO, A. 1995. Almacenamiento y transporte de la leche como factor de deterioro de la calidad. In: Lanuza, F. (Ed.). Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, Chile. 23-24 junio 1995. Colegio Médico Veterinario de Chile A.G., Consejo Regional Osorno. pp. 92-103.

ROSALES, L.; ANDRES, L. 2002. Detergentes y sanitizantes para instalaciones de ordeño: aplicación de nuevos conceptos y tecnologías. [en línea]. Software agrícola Cooprinsem. http://www.e-cooprinsem.cl/softagri/Cooprinforma63/Articulo_5_2.htm [consulta: 19-08-2003]

RUIZ, B. 2000. Desarrollo y estabilidad de biofilms de pseudomonas de origen alimentario. Tesis Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid, Fac. Veterinaria. 321 p.

SALMI, T.J.; OJALA, O.A. 1970. A survey of water sources on dairy farms: The bacteriological quality of water samples from these water sources concerning numbers of coliform bacteria and faecal streptococci. Suom. Eläin. 76 (9): 293-305 (citados por Agüero, H.; Pedraza, C.; Godoy, S. 1987. Calidad higiénica del agua y su relación con el contenido microbiano de la leche. Agric. Técnica 47 (2): 136-141).

SANTA CRUZ, G. 1983. Características de instalación, diseño de componentes y mantención de equipos de ordeña utilizados en lecherías de la zona central de Chile. Tesis Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Agrarias, Veterinarias y Forestales. 137 p.

SCHMIDT, R. 1997. Basic elements of equipment cleaning and sanitizing in food processing and handling operations. [en línea]. Fact Sheet FS 14, Food Science and Human Nutrition Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. <http://www.uog.edu/cals/PEOPLE/Pubs/FS07700.PDF> [consulta: 12-12- 2001]

SHEARER, J.K.; SCHMIDT, R.H.; RENEAU, J.K. 1992. Monitoring milk quality and udder health. In: Van Horn, H.H.; Wilcox, C.J. (Eds.). Large dairy herd management. American Dairy Science Association. Champaign, Illinois, USA. pp. 475-488.

SPENCER, S. 1968. Report of committee on dairy farm methods, 1966-1967. Second section. J. Milk Food Technol. 31 (2): 47-51.

SUAZO, X. 1987. Determinación de bacterias totales, coliformes y psicotróficas en leche almacenada en estanques enfriadores prediales y efecto de la temperatura de lavado del equipo de ordeña sobre el contenido microbiano de la leche. Tesis Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 173 p.

SUHREN, G.; REICHMUTH, J.; HEESCHEN, W. 1991. Bactoscan technique. IDF Bulletin N° 256: 24-30.

TATINI, S.R.; DABBAH, R.; OLSON, J.C. 1965. Inter-relationships among some bacteriological methods used for the examination of farm bulk tank milk supplies. J. Milk. Food. Technol. 28 (12): 368-371.

TETRA PAK. 1995. Dairy processing handbook. Tetra Pak Processing Systems AB. Lund, Sweden. 436 p.

THOMAS, W.R.; BECKLEY, M.S. 1967. Dairy sanitation. In: Milking management and its relationship to milk quality. University of California, Agricultural Extension Service. Pub. AXT-94. pp 56-64.

THOMAS, S.B.; DRUCE, R.G. 1971. Bacteriological quality of alternate day collected farm bulk tank milk. Dairy Sci. Abstr. 33 (5): 339-342.

THOMAS, S.B.; THOMAS, B.F. 1973. Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk-collected raw milk. Part II. Dairy Ind. 38:61-64, 66, 68, 70 (citados por Cousin, M.A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. J. Food. Prot. 45 (2): 172-207).

THOMAS, S.B.; THOMAS, B.F. 1977. The bacterial content of milking machines and pipeline plants. Part II of a review. Dairy Ind. Int. 42 (5):16, 18-19, 22-23 (citados por Cousin, M.A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. J. Food. Prot. 45 (2): 172-207).

URRUTIA, D. 1994. Recuento de bacterias en leche cruda. Informativo Agropecuario Bioleche Agosto: 43-44.

VASAVADA, P.C. 1988. Pathogenic bacteria in milk: A review. J. Dairy Sci. 71 (10): 2809-2816.

VEGA, F. 2003. Bendito frío de cada día. Logística y Distribución N° 21: 32-35.

VDIA (VICTORIAN DAIRY INDUSTRY AUTHORITY). 1998. Thermoduric bacteria. [en línea]. Dairy Tech Notes. VDIA. Victoria, Australia. <<http://www.vicdairy.vic.gov.au/quality/DTnote.htm>> [consulta: 15-01-2001]

VIDAL, R.; IHL, R.; ERNST, S.; JIMENEZ, C.; FUENZALIDA, S. 1997. Estudio "Evaluación de impacto y resultados técnico económicos de la gestión de los centros de acopio lechero de la Décima Región: Informe final". Valdivia, Chile. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias, Instituto de Zootecnia. INDAP. 105 p.

VON BAER, H.; PINTO, M.; VIAL, F. 1976. Fundamentos para el pago de leche según calidad: a) Principios básicos. In: II Seminario Nacional de Análisis de la Industria Lechera. Valdivia, Chile. 10-12 junio 1976. U. Austral de Chile, Centro Tecnológico de la Leche. 11 p.

VON BOCKELMANN, I. 1981. Contamination-importance of water residues in milking equipment. In: Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk. Kiel, Germany. 8-10 september 1981. IDF/FIL. pp. 325-327.

WALLEN, S.; KUBIK, D.; JAMES, S.; BORER, D.; BODMAN, G.; ERICKSON, E.; RICE, D.; COLE, P.; OWEN, F. 1997. Producing milk with a low bacteria count. [en línea]. Cooperative Extension, University of Nebraska, Institute of Agriculture and Natural Resources. <<http://www.ianr.unl.edu/pubs/dairy/g678.htm>> [consulta: 14-07-2003]

WILKINS, B. 1996. Los seis requerimientos para el lavado de la tubería de leche. In: Reunión Regional Consejo Nacional de Mastitis (National Mastitis Council). Querétaro, México. 26 julio 1996. National Mastitis Council (NMC). pp. 49-55.

WRIGLEY, R.J.; DICKINS, C.R.; McDONALD, J.W. 2001. Water quality and milk quality. Australian J. Dairy Technol. 56 (2): 129.

ANEXOS

Anexo 1. rutina de ordeña recomendada a los productores 1 y 2

- ❑ Eliminar y examinar los primeros chorros de leche (3 a 4 chorros), en un jarro de fondo oscuro.
- ❑ Lavar los pezones con agua, evitando mojar la ubre.
- ❑ Secar los pezones con toallas de papel desechable (1 por vaca).
- ❑ Colocar la unidad de ordeña evitando la entrada de aire.
- ❑ Mantener alineada la unidad de ordeña y la manguera larga de leche.
- ❑ Evitar el sobreordeño y retirar la unidad de ordeña cortando previamente el vacío.

- ❑ Una vez retirada la unidad desinfectar los pezones con una solución de yodo 8.000 ppm (ALFADIP 8®), cubriendo al menos dos tercios de cada pezón.

Anexo 2. Rutina de lavado y sanitización de los equipos de ordeña y tarros lecheros recomendada a los productores 1 y 2

Lavado Alcalino Clorado (inmediatamente después de terminada la ordeña).

- ❑ Enjuague inicial: Succionar mediante vacío 30 litros de agua tibia (40°C), desde un balde hacia un tarro lechero, hasta que salga limpia (no recircular).
- ❑ Lavado: Recircular mediante vacío una solución de detergente alcalino-clorado (150 gramos de ALFA CIP® en 30 litros de agua a 70°C). Recircular a lo menos 2 veces.
- ❑ Escobillado: Escobillar los colectores, pezoneras, mangueras de leche y tarros lecheros con los elementos de limpieza entregados.
- ❑ Enjuague final: Enjuagar con agua fría, sin recircular.
- ❑ Secado: Secar con golpes de aire, drenar el agua residual de los componentes de las unidades de ordeña y dejar escurrir los tarros boca abajo.

Lavado Acido (semanalmente, días lunes).

- ❑ Lavado con detergente ácido (140 ml de ALFA CID NIT® en 20 litros de agua a 70°C): Recircular a lo menos 2 veces.
- ❑ Escobillado: Escobillar los colectores, pezoneras, mangueras de leche y tarros lecheros con los elementos de limpieza entregados.
- ❑ Enjuague final: Enjuagar con agua fría, sin recircular.
- ❑ Secado: Secar con golpes de aire, drenar el agua residual de los componentes de las unidades de ordeña y dejar escurrir los tarros boca abajo.

Sanitizado (30 minutos antes de cada ordeña).

- Recircular durante 3 minutos 30 litros de agua fría con 10 gramos de ALFA CLOR 62® (200 ppm de cloro).
- Secado: Secar con golpes de aire, drenar el agua residual de los componentes de las unidades de ordeña y dejar escurrir los tarros boca abajo.

Anexo 3. Análisis bacteriológico y químico de las fuentes de agua de los productores 1 y 2

	Productor 1	Productor 2
Fecha análisis	15 de mayo 2000	17 de mayo 2000
Fuente de agua	Potable	Potable
Recuento de bacterias mesófilas	10 ufc/ml	0 ufc/ml
Recuento de coliformes totales (NMP)	<1,8/100 ml	<1,8 /100 ml
Recuento de coliformes fecales (NMP)	<1,8/100 ml	< ,8/100 ml
pH	6,9	7,4
Dureza total (CaCO ₃)	162,9 mg/l	122,6 mg/l