

DETERMINACIÓN DEL RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE
DE HEMBRAS CLASIFICADAS GENÉTICAMENTE COMO BOVINOS ELITE,
PARA INCORPORAR ESTE CRITERIO EN LOS ÍNDICES DE SELECCIÓN DEL
TRÓPICO ALTO DE NARIÑO”

GLORIA LILIBETH CHAMORRO OVIEDO
LEIDY JANETH IGUA CUNDAR

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
PASTO COLOMBIA
2009

“DETERMINACIÓN DEL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE
DE HEMBRAS CLASIFICADAS GENÉTICAMENTE COMO BOVINOS ELITE,
PARA INCORPORAR ESTE CRITERIO EN LOS ÍNDICES DE SELECCIÓN DEL
TRÓPICO ALTO DE NARIÑO”

GLORIA LILIBETH CHAMORRO OVIEDO
LEIDY JANETH IGUA CUNDAR

Informe final de trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al
título de Zootecnista

Presidente
CARLOS SOLARTE PORTILLA
Zoot. M.S.c., Ph.D.

Copresidente
KATIA BENAVIDES ROMO
Medico Veterinaria. Esp.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
PASTO COLOMBIA
2009

“las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1º del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

CARLOS SOLARTE PORTILLA Zoot. M.Sc. Ph.D
Presidente

KATIA BENAVIDES ROMO M.V. Esp.
Copresidente

LUIS ERNESTO VITERI SARASTY. Zoot.
Jurado Delegado

HECTOR FABIO VALENCIA MVZ. Esp.
Jurado

San Juan de Pasto, Febrero de 2010.

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía.

A mis padres Miguel David Chamorro y Gloria Esther Oviedo, por su gran ejemplo, amor y dedicación. A mis queridos hermanos Jonathan David y Andrés Danilo, por brindarme su ayuda y su afecto. A mis amigos allegados que estuvieron conmigo durante el desarrollo de este trabajo.

Gloria Lilibeth Chamorro Oviedo

DEDICATORIA

A Dios por iluminar mi sendero

A mis padres Euclides Igua e Ilia Cundar por el amor y la fortaleza; son la razón de mi vida.

A mis hermanos Pablo E. y Luís Miguel por el cariño y todo su apoyo.

A Libia C. por su comprensión y su amistad.

Leidy Janeth Igua Cundar

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Mejoramiento Genético, al Laboratorio de Diagnóstico de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño y a la Cooperativa de Productos Lácteos de Nariño – Colácteos, por haber facilitado los recursos necesarios para la culminación de esta investigación.

Al Doctor Carlos Solarte Portilla, nuestro presidente de tesis, por el invaluable aporte de sus conocimientos para la realización de este trabajo.

A la Doctora Katia Benavides, quien ha compartido sus conocimientos y dedicación en este proceso investigativo.

A la Doctora Carol Rosero G, y las Zootecnistas Gema Zambrano y Melissa Eraso, quienes nos han brindado todo su apoyo incondicional.

A la Asistente Administrativa Carmen Elisa Solarte, el Ingeniero de Sistemas Fabio Mejía y la Auxiliar de laboratorios Angélica Muñoz por su valiosa colaboración en nuestro trabajo de investigación.

A todas aquellas personas que de una u otra manera nos brindaron y colaboración en el proceso y culminación de este trabajo de investigación

CONTENIDO

		Pág.
	INTRODUCCIÓN	19
1	DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	21
2	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	23
3	OBJETIVOS	24
3.1	OBJETIVO GENERAL	24
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4	MARCO TEÓRICO	25
4.1	GENERALIDADES DE LA RAZA HOLSTEIN	25
4.1.1	Características fenotípicas	25
4.1.2	Genética	26
4.2	CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE	26
4.2.1	Composición básica de la leche	26
4.2.2	Aspectos sanitarios e higiénicos de la leche	27
4.3	DEFINICIÓN DE MASTITIS	28
4.3.1	Etiología de la mastitis	29
4.3.2	Diagnóstico de la mastitis	29
4.3.2.1	Prueba de California Mastitis Test (CMT)	29
4.4	RELACIÓN DE CÉLULAS SOMÁTICAS CON MASTITIS	30
4.4.1	Células somáticas	30
4.4.2	Recuento de células somáticas (RCS)	32
4.4.3	Importancia de realizar recuentos de células somáticas	33
4.4.4	Factores que inciden en el recuento de células somáticas	33
4.4.4.1	Factores inherentes al personal	33
4.4.4.2	Factores inherentes al animal	34
4.4.4.3	Factores inherentes al ambiente	35

4.4.5	Pérdidas de leche asociadas a elevados RCS	36
4.5	MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA MASTITIS A TRAVÉS DEL RCS	37
4.5.1	Valoración genética del RCS	39
5	DISEÑO METODOLÓGICO	41
5.1	LOCALIZACIÓN	41
5.2	POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA	42
5.3	PROCESO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS	43
5.3.1	Prueba del CMT	44
5.3.2	Toma de muestras	45
5.3.3	Conservación de muestras	45
5.3.4	ANÁLISIS DE LABORATORIO	46
5.3.4.1	Recepción de Muestras	46
5.3.4.2	Preparación del Colorante	46
5.3.4.3	Preparación de Láminas y Muestras	47
5.3.4.5	Extendido	47
5.3.4.6	Tinción	48
5.3.4.7	Lectura	49
5.3.4.8	Cálculo del RCS	49
5.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	50
5.4.1	Transformación de datos	50
5.4.2	Construcción de Matriz de Datos	50
5.4.3	Modelo estadístico	51
6	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
6.1	INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DEL RCS	52
6.2	INFLUENCIA DE LA LACTANCIA EN EL VALOR DEL RCS	53
6.3	VALORACIÓN GENÉTICA DEL RCS EN EL TRÓPICO ALTO DE NARIÑO	54
6.3.1	Heredabilidad del RCS	54

6.3.2	Correlación entre producción y RCS	55
6.3.3	Habilidad de transmisión estandarizada (STA_RCS)	56
7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	57
7.1	CONCLUSIONES	57
7.2	RECOMENDACIONES	58
	BIBLIOGRAFÍA	64

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición de la leche (por cada 100 gramos)	26
Tabla 2. Variación porcentual de células somáticas en leche normal y afectada	32
Tabla 3. Pérdidas de leche por incremento del RCS	36
Tabla 4. Efecto de altos RCS en la composición de la leche	37
Tabla 5. Prototipos para reportar evaluaciones genéticas del RCS	40
Tabla 6. Número de animales muestreados por finca	42
Tabla 7. Criterios básicos para la interpretación del CMT	44
Tabla 8. Correspondencia entre la escala lineal y el RCS	50
Tabla 9. Recuento de células somáticas para la raza Holstein en el distrito lechero de Pasto	52
Tabla 10. Valores del índice habilidad de transmisión estandarizada del RCS (STA_RCS) para la raza Holstein en el Trópico Alto de Nariño	56

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Células blancas de origen sanguíneo presentes en la leche	31
Figura 2. Localización satelital del distrito lechero de Pasto dentro del Departamento de Nariño- Colombia	41
Figura 3. Flujograma para la determinación de RCS	43
Figura 4. Prueba de CMT individual	44
Figura 5. Recipiente utilizado para almacenamiento de la muestra	45
Figura 6. Homogenización de la leche en cantina	45
Figura 7. Laboratorio de diagnóstico. Clínica veterinaria. Universidad de Nariño.	46
Figura 8. Baño maría marca E&Q y reactivos para la preparación del colorante	46
Figura 9. Preparación de láminas	47
Figura 10. Extendido de la muestra	48
Figura 11. Filtración del colorante y tinción de la lámina	48
Figura 12. Imagen microscópica de las células somáticas en aumento 1000X	49
Figura 13. Formato de registro de RCS	49
Figura 14. Variación del RCS a través de la edad y número de lactancia	54

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Análisis de varianza de los efectos fijos del modelo animal	59
Anexo B. Promedio del RCS individual e información adicional de las hembras Holstein muestreadas en el distrito lechero de Pasto.	60
Anexo C. Lista de los animales pertenecientes al Trópico Alto de Nariño, con bajos STA_RCS.	62

GLOSARIO

CALIDAD HIGIÉNICA DE LA LECHE: condición que hace referencia a todas aquellas características microbiológicas y organolépticas presentes en la leche.

CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT): prueba útil para detectar mastitis. Consiste en agregar un detergente que causa la liberación de ADN de los leucocitos presentes en la leche y esta combinación forma una gelificación.

CÉLULAS SOMÁTICAS: células blancas propias del organismo que le sirven como defensa a la glándula mamaria de la vaca contra organismos patógenos.

CORRELACIÓN GENÉTICA: asociación que existe entre dos características, indica el cambio que se producirá en una variable cuando se seleccione por otra.

ETIOLOGÍA: en la medicina, es la rama que se ocupa exclusivamente de estudiar las causas de las distintas enfermedades que afectan a los seres vivos.

FENOTIPO: conjunto de propiedades de tipo morfológico, físico, bioquímico y de comportamiento que un organismo desarrolla por la acción de los genes y del ambiente.

HABILIDAD PREDICHA DE TRANSMISIÓN (HTP): o PTA por sus siglas en Inglés, es un medio del valor genético y se define como un estimado de la superioridad (o inferioridad) genética que un animal transmite a su descendencia.

HEREDABILIDAD (h^2): relación entre la variación aditiva genética y la varianza fenotípica. Los valores de este parámetro indican cuanto de las diferencias observadas entre los individuos, se deben al efecto aditivo de los genes para una característica en particular.

LEUCOCITOS: células blancas de la sangre y la linfa, que pueden trasladarse a diversos lugares del cuerpo con funciones defensivas. Se clasifican en granulosa (núcleo multilobulado) y no granulosa (núcleo redondeado). Los leucocitos granulosa o granulocitos incluyen los neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Los leucocitos no granulosa están formados por linfocitos y monocitos.

LINFOCITOS: grupo especial de glóbulos blancos; son las células de la sangre que intervienen en los mecanismos de defensa y en las reacciones inmunitarias del organismo. Los linfocitos participan en la lucha contra los microorganismos extraños y los tumores.

MASTITIS: inflamación de la glándula mamaria caracterizada por un incremento de células somáticas en la leche. Su etiología puede ser de origen infeccioso o traumático.

MEJORAMIENTO GENÉTICO: conjunto de metodologías que aplican principios biológicos, económicos y matemáticos, con el fin de encontrar estrategias óptimas para aprovechar la variación genética existente en una especie de animales en particular para maximizar su mérito.

MICROSCOPIA DIRECTA: Este método de Conteo Directo al Microscopio (CMD) permite determinar el número de células, por observación directa en el microscopio. Se basa en contar células, en una cantidad conocida de muestra utilizando frotis coloreados.

MODELO ANIMAL BLUP: herramienta con propiedades estadísticas, que permiten estimar los parámetros genéticos y la habilidad de transmisión predicha de todos los individuos incluidos en las evaluaciones.

MONOCITOS: células grandes capaces de fagocitar cuerpos extraños por lo cual son llamadas macrófagos. Su función es eliminar el tejido muerto de los procesos inflamatorios.

NEUTRÓFILOS: también denominados polimorfonucleares (PMN) por el polimorfismo de su núcleo. Son llamados primera línea de defensa o micrófagos porque tienen la capacidad de fagocitar pequeñas partículas como bacterias y hongos.

PAQUETES ESTADÍSTICOS: son programas informáticos de cálculo y análisis estadístico. Su utilización se dirige preferentemente a la realización de complejos y costosos cálculos que implica el desarrollo de la estadística actual.

RAZA: conjunto de individuos con caracteres morfológicos y fisiológicos propios transmisibles por herencia dentro de un margen de fluctuación conocido por los que se les distingue de otros de su misma especie.

RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (RCS): número de células por mililitro de leche. Es la medición más ampliamente utilizada para supervisar el estado inflamatorio de las glándulas mamarias.

UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC): indicador de la calidad higiénica de la leche cruda, hace referencia al recuento de bacterias mesófilas y aerobias totales.

VALOR GENÉTICO: valor promedio que tiene un individuo en todos sus genes para cualquier característica de herencia aditiva.

RESUMEN

El presente trabajo hace parte del Programa de Mejoramiento Genético que se desarrolla en convenio con el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, la Universidad de Nariño y la Cooperativa de Productos Lácteos - COLACTEOS. En este estudio, se obtuvo la información de 15 fincas localizadas en el distrito lechero de Pasto, entre los meses de junio y noviembre del año 2009. El objetivo fue determinar el recuento de células somáticas (RCS) en leche de vacas sanas en producción, previamente seleccionadas por el mérito genético para las características de tipo y producción. La información obtenida en el presente trabajo se incorporó a la base de datos general del programa, con la cual se efectuó la evaluación y valoración genética, donde el rasgo RCS fue incluido en el análisis conjunto con las otras características evaluadas en el programa.

Para determinar el recuento, en primer lugar se realizó la prueba denominada California Mastitis Test (CMT) y las muestras fueron tomadas únicamente en los animales que resultaron negativos a dicha prueba; en total se efectuaron dos muestreos por animal en el ordeño de la tarde, con un intervalo de 15 días. Las muestras se procesaron en el laboratorio de diagnóstico de la clínica veterinaria de la Universidad de Nariño, mediante la técnica de microscopía directa bajo la Norma ISO 13366-1.

Para el análisis estadístico de la información obtenida en todos los distritos lecheros, fue necesario realizar una transformación logarítmica de los datos de RCS ($y = \text{Log}_2(\text{RCS}/100.000) + 3$), para ajustarlos a una distribución normal y con los datos transformados se procedió a realizar la evaluación genética de este rasgo, utilizando un modelo animal mixto en el que se incluyeron los efectos fijos hato-año-época, número de lactancia y la covariable edad y como efecto aleatorio se consideró el animal. Los paquetes estadísticos utilizados fueron SAS, versión 9.2 y MTDFREML, debidamente licenciados para el Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño.

El valor promedio de RCS, para los 71 animales del distrito lechero de Pasto, fue de 76.711 cél/ml, apreciándose claramente, que la muestra objeto de estudio presentó un buen estado sanitario de la ubre, de acuerdo con el valor antes indicado, lo que a su vez refleja que por tratarse de un grupo seleccionado genéticamente por otros rasgos, la conformación y salud de la ubre son aspectos de importancia para los propietarios de este grupo de vacas. La heredabilidad estimada para toda la población Holstein del Trópico Alto de Nariño fue de 0.14 ± 0.09 lo que indica que el 14% del comportamiento de este rasgo en esta región se atribuye al efecto aditivo de los genes; la correlación del RCS con producción de leche fue de 0.046 ± 0.04 , lo que significa que el RCS tiene una baja asociación

genética con producción. En cuanto a los valores de PTA (Predicted Transmitting Ability), que se expresa como un medio del valor genético, en el programa se decidió presentarlos mediante las cifras del índice habilidad de transmisión estandarizada (PTA-STA, por sus siglas en inglés). Encontrándose un rango entre -0.11 a 0.12 y a partir de estos valores se seleccionó un grupo de 59 animales distribuidos en los distritos de Pasto, Pupiales y Guachucal, que presentaron cifras de PTA-STA_RCS entre -0.012 a -0.11, que indican que la progenie en promedio reduciría los contenidos de células somáticas y por ende aumentaría la resistencia a la mastitis.

Adicionalmente los resultados de la valoración genética para RCS se incorporaron en un análisis general, que incluyó los rasgos productivos, reproductivos y de conformación anatómica, que permitieron que en el Programa de mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño se construyera un índice de merito total, con sus correspondientes cargas factoriales y énfasis.

ABSTRACT

The present work was carried out in 15 farms in Pasto - Nariño, between June and November of 2009, with the objective of determining the Somatic Cell Score (SCS) in healthy cows' milk.

The results of this analysis showed an average in SCS of 76,711 cell/ml due to the good sanitary state; the inheritability was 0.14 ± 0.09 is considered moderately, indicating that the additive effect of the genes is responsible of the 14% of the SCS behavior in Pasto district; the correlation with production was of 0.046 ± 0.04 , meaning that a low SCS does not impact in the decreasing of milk production in this region and the PTA obtained was expressed through the standardized transmission ability index (STA) in a range between -0.11 and 0.12; knowing this, 59 animals were selected with a low STA_SCS (-0.012 to -0.11), because they will transmit less SCS to their descendants, reducing mastitis incidents in the herds.

The results of the SCS were incorporated in a general analysis; which included the reproductive, productive and anatomical conformation characteristics, allowing the Genetic Improvement Program in the University of Nariño to build a total merit index.

INTRODUCCIÓN

Según el Observatorio Agrocadenas¹, la leche fresca ó cruda se produce aproximadamente en el 82% de los países que hay en el planeta. Europa es el principal productor, ya que participa con más del 40% del total mundial, seguido por América, Asia, Oceanía y África con una participación de 29%, 20%, 5% y 4%, respectivamente.

El principal productor mundial de leche fresca es Estados Unidos, con una producción total de 75 millones de toneladas en el año 2002. En el mismo año, Brasil, Argentina y Colombia fueron los productores más importantes de leche fresca en Suramérica, con volúmenes de 10.5, 8,2 y 5,7 millones de toneladas en su orden.

En Colombia, el Centro de Investigación en Economía y Competitividad Internacional (CIECI)², menciona que la producción de leche, se concentra en las siguientes zonas: Atlántica (40%), Occidental (17%), Central (34%) y Pacífica (9%), con el predominio de importantes cuencas lecheras como el Altiplano Norte de Antioquia, Cordón de Ubaté, la Sabana de Bogotá y el departamento de Nariño.

El departamento de Nariño está incluido en la región lechera número cuatro, de acuerdo con lo establecido en la resolución 000012 de enero de 2007 por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural³. Del total de la producción de esta región, en el año 2001 el distrito lechero de Pasto participó con el 10.01 %, que corresponde a 50.598 litros/día.

En la cadena agroalimentaria de la leche bovina, el aseguramiento total de la calidad, hace necesario que el sector lácteo mejore los aspectos higiénicos y composicionales de la leche para alcanzar estándares que le permitan ser competitivos y posibilite con éxito la comercialización de este producto.

¹ OBSERVATORIO AGROCADENAS. Segundo informe de coyunturas de leche. [En línea]. Bogotá, D.C. Ministerio de Agricultura y desarrollo Rural, Diciembre 2006 [Citado 22 junio de 2009] Disponible en Internet: <www.agrocadenas.gov.co>.

² CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD INTERNACIONAL (CIECI). Promoción y bases para el desarrollo social y Competitivo de la cadena láctea en el Departamento de Nariño: caracterización de la cadena láctea en el departamento de Nariño. Pontificia Universidad Javeriana. Cali, octubre de 2003. p. 36.

³ COLOMBIA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, resolución número 000012 del 2007 "regiones lecheras en Colombia". 12 de enero 2007.

Actualmente, el indicador de la sanidad de la ubre y de la calidad sanitaria de la leche es el Recuento de Células Somáticas (RCS), el cual proporciona información indirecta sobre las modificaciones en la composición físico – química, por lo que se ha convertido en una herramienta ampliamente aceptada para evaluar el estado sanitario de los animales y de los hatos.

Por otra parte, se ha establecido que hay una estrecha relación entre la presencia de mastitis y el RCS, motivo por el cual es posible hacer seguimiento a la incidencia de esta enfermedad, que genera pérdidas de producción y altos costos para su control .

Adicionalmente, Shook and Schutz⁴, consideran al RCS como un rasgo útil para seleccionar indirectamente y mejorar genéticamente la resistencia a mastitis, ya que existe una correlación genética razonablemente alta entre RCS y mastitis clínica, además la heredabilidad es más alta para RCS, que para presencia de mastitis.

En la presente investigación se efectuó el RCS en hembras sanas de raza Holstein pertenecientes al grupo genético de mayor mérito para los rasgos relacionados con la producción, en el distrito lechero de Pasto y posteriormente esta información se incorporó a la base de datos de toda la población del Trópico Alto de Nariño, con el fin de estimar la heredabilidad de este rasgo e identificar los individuos de mayor valor genético, lo que facilita la formulación de recomendaciones para dirigir los apareamientos a favor de la resistencia a mastitis.

Este estudio se llevó a cabo en el Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño en convenio con la Cooperativa de Productos Lácteos de Nariño – Colácteos y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, cuyo objetivo es la selección de los individuos más apropiados para las condiciones de esta región, donde uno de los criterios a tener en cuenta es el RCS, como indicativo de la salud de la ubre.

⁴ SHOOK, E. y SCHUTZ, M. Selection on Somatic Cell Score to Improve Resistance to Mastitis in the United States. En: Journal Dairy Science 1994. Vol., 77:648_658. p.p.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El objetivo principal del mejoramiento genético es aumentar el mérito económico total de los animales, por tal razón, en el ganado lechero se han incluido diferentes rasgos en los procesos de la selección de animales, con el objetivo de incrementar la producción, evitar el descarte prematuro, mejorar la calidad de la leche y la salud de las vacas. En este último aspecto, la mastitis es uno de los rasgos que se ha considerado como preponderante, por ser una enfermedad de alta incidencia en los hatos y que ocasiona detrimentos, tanto de la producción como del estado sanitario y composicional de la leche. En consecuencia, el mejoramiento genético para reducir la incidencia de esta enfermedad, no sólo es una estrategia para el control de la misma, sino una necesidad para mantener la viabilidad del sector lácteo, en las ganaderías mundiales, nacionales y regionales.

Según Fernández *et al*⁵, ante la presencia de mastitis, el contenido de células somáticas se incrementa en la leche; por consiguiente, el RCS es un indicador del estado sanitario de la ubre, y una herramienta de selección indirecta, ya que la correlación genética entre el RCS y la presencia de la enfermedad se ha calculado en un rango que oscila entre el 0.30 y 0.97, aunque la heredabilidad para el rasgo propiamente dicho (RCS) presenta valores bajos que van de 0.10 a 0.17. Por estas razones la selección indirecta para resistencia a mastitis, es cada vez más frecuente en los países de Norteamérica y Europa.

Actualmente, Estados Unidos cuenta con una base de datos nacional del ganado lechero llamada DHI (Dairy Herd Improvement), en la cual se registra la información de los hatos de ese país, incluyendo los resultados de RCS, con el fin de valorar genéticamente esta característica. Según Eraso y Zambrano⁶, en Colombia la mejora genética es un campo con escaso desarrollo, situación que puede explicarse por la ausencia de un sistema nacional de registros, altos costos en los programas de selección, falta de articulación entre las entidades oficiales con el sector productivo y las universidades para formular y desarrollar programas de mejora genética.

⁵ FERNANDEZ *et al*. Estudio del carácter velocidad de ordeño y recuento de células somáticas en primera lactación en la población 00019 del país vasco. 2000. Producción Animal, Vol. 96, Nº 3: 270-276

⁶ ERAZO, M y ZAMBRANO, G. Relación entre los genotipos de la kappa caseína, el contenido proteico total de la leche y el rendimiento en cuajada de los bovinos Holstein en el Trópico Alto de Nariño. San Juan de Pasto, 2009. 48 – 54 p.p. Trabajo de Grado (Zootecnista). Universidad De Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia.

Por las razones antes mencionadas, en el Trópico Alto de Nariño no existe un programa de selección y tampoco se han definido los criterios y metas evaluables y alcanzables para mejorar la calidad higiénica y composicional de la leche, a pesar que este problema se ha identificado como uno de los mayores limitantes del desarrollo de la ganadería.

La falta de seguimiento del estado sanitario en los hatos a través del RCS, muestra claramente la debilidad en los sistemas de producción especializados en la región Nariñense, ya que según Cerón *et al*⁷, los estándares establecidos de RCS en tanque para Estados Unidos y la Unión Europea son 750.000 cel/ml y 400.000 cel/ml respectivamente. Al comparar estos valores con el promedio de RCS de 1`486.386,48 cel/ml, determinado por Benavides y Pito⁸, en siete plantas procesadoras del Municipio de Pasto, se evidencia una gran deficiencia en la calidad de la leche, disminuyendo las posibilidades de competir eficientemente en los mercados nacionales e internacionales.

⁷ CERÓN, M; AGUDELO, E y MALDONADO, J. Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba CMT en dos fincas lecheras del departamento de Antioquia (Colombia). En : Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Antioquia. Vol. 20, No. 4, Oct/Dic. 2007; 472 – 483. p.p.

⁸ BENAVIDES, W y PITO, H. Utilización del recuento de células somáticas para determinar la calidad de la leche en plantas procesadoras y/o enfriadoras del Municipio de Pasto. San Juan de Pasto, 2002., p.49. Trabajo de Grado (Zootecnista). Universidad De Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Los valores genéticos promedio del RCS en hembras Holstein del Trópico Alto de Nariño permiten utilizar este rasgo como herramienta para mejorar la resistencia a mastitis?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar el recuento de células somáticas en la leche de hembras clasificadas genéticamente como bovinos elite, para incorporar este criterio en los índices de selección del Trópico Alto de Nariño.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

3.2.1 Seleccionar muestras de leche de vaca con glándula mamaria sana, mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT).

3.2.2 Realizar el RCS por microscopia directa, siguiendo la técnica descrita en la Norma ISO 13366-1.

3.2.3 Realizar la valoración genética del RCS, con la ayuda de los paquetes estadísticos del Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño.

3.2.4 Formular recomendaciones sobre la inclusión del RCS en la dirección de los apareamientos apropiados para la zona.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 GENERALIDADES DE LA RAZA HOLSTEIN

Asoholstein (Asociación Holstein de Colombia)⁹, menciona que la principal característica de la raza Holstein son los altos volúmenes de producción, que le permiten ser una de las razas más lecheras del mundo, alcanzando en algunos países desarrollados hasta el 95% de la población total.

Actualmente, puede asegurarse que en el territorio colombiano se cuenta con aproximadamente 200.000 animales de raza Holstein distribuidos en hatos de las siguientes regiones: Cundinamarca, Boyacá, Antioquia, Quindío, Risaralda, Valle del Cauca, Nariño y Cauca. De los departamentos antes mencionados, se destacan los tres primeros como zonas donde predomina la producción de leche especializada.

En cuanto a la producción Holmann *et al*¹⁰, indica que el sector lechero colombiano en su conjunto se ha vuelto más competitivo, al comparar la evolución de éste sector con estudios de 12 años atrás se aprecia que la actividad en la lechería especializada se ha incrementado en un 14%.

4.1.1 Características fenotípicas. Según la descripción de la Asoholstein¹¹, la vaca Holstein es grande, elegante y fuerte con un peso promedio de 650 kilos y una alzada aproximada de 1.50 m. Se caracteriza por su pelaje blanco y negro o blanco y rojo; esta última coloración es preferida para climas cálidos pues representa adaptabilidad. Su vientre, patas y cola deben ser blancos.

La edad al primer parto, en condiciones normales, está alrededor de los tres años. Puede permanecer en el hato durante más de cinco lactancias (equivalente a 305 días) y en algunos casos producir hasta 27.445 Kg en 365 días. En Colombia, la mayor producción la ha logrado una Holstein, con 17.610 Kilos en 305 días.

⁹ COLOMBIA ASOHOLSTEIN. Disponible en Internet: < www.holstein.com.co >

¹⁰ HOLMANN, F; RIVAS, L; CARULLA, J; RIVERA, B; GIRALDO, L; GUZMÁN, S; MARTÍNEZ, M; MEDINA, A y FARROW, A. producción de leche y su relación con los mercados; caso colombiano. En : SEMINARIO DE PASTOS Y FORRAJES (10o.: 2006: Bogotá). Memorias del 10 seminario de pastos y forrajes .Bogotá: 2006. p. 149

¹¹ COLOMBIA ASOHOLSTEIN. Op. Cit., p. 2.

4.1.2 Genética. En la producción lechera bovina, el mejoramiento genético del hato es una estrategia para incrementar el volumen de leche y/o mejorar su composición. Moro y Ruiz¹², sostienen que desde principios de siglo, los criadores de ganado Holstein comenzaron a poner mayor énfasis en el mejoramiento genético del rendimiento en leche, basándose en criterios de selección, apoyados por sistemas de registro de información y la generación de la teoría de mejoramiento animal, éste ha dado como resultado que en los últimos 30 años el incremento de la producción de leche de la raza Holstein sea de casi 3000 Kg de leche, de los cuales 2500 Kg se atribuyen al efecto de la selección.

4.2 CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE

4.2.1 Composición básica de la leche. De acuerdo a Hurley;

La leche es uno de los líquidos más complejos que se conocen, pues combina propiedades de emulsión, suspensión y solución acuosa. En el primer caso dada por la dispersión de los glóbulos de grasa, en segundo lugar por la suspensión coloidal de las micelas de caseína, proteínas globulares y partículas lipoproteínas y por último, debido a la disolución en agua de la lactosa, proteínas solubles minerales, vitaminas y otros componentes¹³ (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de la leche (por cada 100 gramos)

Nutriente	Cantidad
Agua (g)	88.0
Energía (kcal)	61.0
Proteína (g)	3.2
Grasa (g)	3.4
Lactosa (g)	4.7
Minerales (g)	0.72
Fuente: Wattiaux ¹⁴	

¹² MORO, J y RUIZ, F. mejoramiento genético de características de conformación en ganado Holstein. En : Vet. Mex., Vol. 29, No 4, 1998; p.386.

¹³ HURLEY, W.L. Lactation biology, citado por Erazo, M y Zambrano, G. Op. cit., p. 27.

¹⁴ WATTIAUX, Michel A. Principios de selección. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera [En línea], 2009. [Citado 24 Agosto 2009]. Disponible en internet: <http://babcock.cals.wisc.edu/?q=es/node/183>

4.2.2 Aspectos sanitarios e higiénicos de la leche. Para producir leche de buena calidad, Cabrera *et al*¹⁵, considera que en toda explotación pecuaria se deben tener en cuenta principios básicos como: animales de buena calidad, alimentación adecuada, buen manejo y estricta sanidad. Los dos primeros influyen directamente en la calidad nutricional o composición y los otros dos en la calidad higiénica.

Según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural¹⁶, en la resolución número 000012 del 2007, resuelve en el capítulo I “la definición de calidad estándar de la leche, la cual corresponde a los parámetros mínimos para la calidad higiénica, composicional y sanitaria, relacionados directamente con el precio competitivo, que debe cumplir la leche cruda entregada por el productor a un agente económico comprador de la misma de acuerdo con cada región”.

Al respecto De la Vega¹⁷, indica que a nivel de laboratorio el análisis de unidades formadoras de colonias (UFC) hace referencia a la calidad higiénica y el RCS determina la sanidad del producto obtenido en el hato.

Novoa¹⁸, expresa que la valoración del UFC se realiza por el recuento total de bacterias RTB (mesófilas aerobios totales) el cual indica el nivel de higiene mediante el cual se obtiene y manipula la leche. En Colombia los estándares para el RTB está entre 200.000 y 700.000 UFC/ml dependiendo de la región, mientras que para la leche pasteurizada está entre 40.000 y 80.000 UFC/ml. Para obtener un buen recuento de bacterias en leche las principales herramientas son la higiene, la refrigeración y la minimización del tiempo de almacenamiento.

¹⁵ CABRERA, M; VILLA, J; MURILLO, G y SUÁREZ L. Como obtener leche de buena calidad. En : Centro de Investigación de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA TURIPANÁ. [En línea], Córdoba 2005. Disponible en internet: < <http://www.turipana.org.co/leche.htm>>.

¹⁶ COLOMBIA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, resolución número 000012 del 2007 “definición de la calidad estándar de la leche”. 12 de enero 2007.

¹⁷ DE LA VEGA, A. Leche de calidad higiénica sanitaria adecuada. En: Publicaciones Facultad de Agronomía y Zootecnia/ Universidad Nacional de Tucumán UNT [En línea], Argentina 2001. Disponible en internet: <www.faz.unt.edu.ar>.

¹⁸ NOVOA, C. Consideraciones sobre la calidad de la Leche. En : Publicaciones Tecnolácteos/Universidad Nacional de Colombia UNAL. [En línea], Bogotá 2003. Disponible en internet: <www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/home/.../carlos-novoa.pdf>.

En cuanto al RCS Cerón *et al*¹⁹, afirma que consiste en el conteo de células somáticas que se encuentran en la leche para evaluar el estado sanitario de la ubre, principalmente mastitis. En varios países se han estandarizado valores límites, como en el caso de la Unión Europea con 400.000 cel/ml y en Estados Unidos el valor permitido por la *Nacional Mastitis Council* es de 750.000 cel/ml.

4.3 DEFINICIÓN DE MASTITIS

De acuerdo con Miller G. y Bartlett P;

La mastitis bovina, es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria y produce alteraciones físicas y químicas en la leche, aumento del número de células somáticas por la presencia de microorganismos patógenos y finalmente la pérdida en la funcionalidad de la ubre. Esta reacción inflamatoria ocurre como consecuencia de la respuesta de los tejidos a lesiones traumáticas, a sustancias irritantes o a la presencia de agentes infecciosos y sus toxinas que han logrado colonizar el tejido secretor²⁰.

Philpot y Saran²¹, afirman que desde el punto de vista de su sintomatología la mastitis se divide en clínica y subclínica. En la mastitis clínica, el cuarto afectado se inflama, hay dolor y edema, la leche se torna amarilla o rojiza por la presencia de pus o de sangre y aparecen coágulos y grumos; en casos severos hay aumento de la temperatura y del pulso, decaimiento, pérdida del apetito y descenso en la producción. La forma subclínica se caracteriza por la ausencia de signos clínicos en la ubre y la apariencia normal de la leche. El mayor efecto económico se da en las formas subclínicas ya que los diferentes agentes etiológicos aumentan el número de las células somáticas.

¹⁹ CERÓN, M; AGUDELO, E y MALDONADO, J. Op. cit., p. 475.

²⁰ MILLER G. y BARTLETT P. Economic effects of mastitis prevention strategies for dairy producers, citados por CALDERÓN Alfonso y RODRÍGUEZ Virginia. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Antioquia. Vol. 21, Nov. 2008; p. 583.

²¹ PHILPOT, Nickerson. Ganando la lucha contra la mastitis y SARAN, Chaffer. Mastitis y calidad de Leche, citados por *Ibid.*, p. 583.

4.3.1 Etiología de la mastitis. Según Philpot: “Con base en su etiología infecciosa, la mastitis bovina se divide en contagiosa y ambiental. La primera es causada por microorganismos como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma spp* y sus reservorios son la glándula mamaria y la leche de vacas infectadas”²². Smith, H. establece que: “la mastitis ambiental es producida por gérmenes, Gram-negativos, habitantes normales del ambiente como, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Pseudomonas spp* y *Proteus spp*, y algunas bacterias Gram-positivas como: *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*”²³.

4.3.2 Diagnostico de la mastitis

4.3.2.1 Prueba de California Mastitis Test (CMT). Blowey y Edmondson, expresan que: “El CMT es una prueba sencilla, útil para detectar la mastitis subclínica y para valorar superficialmente el recuento de células somáticas en la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso”²⁴.

Para Smith, Medina y Montaldo²⁵, el CMT es una prueba de campo de fácil manejo, se fundamenta en la capacidad que tiene el detergente (alquil auril sulfonato de sodio) para reaccionar con el ADN celular produciendo viscosidad proporcional al número de células somáticas en la leche. La elevada presencia de células libera una gran concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación de la gelatina, sobre la cual se basa la lectura e interpretación del resultado.

²² PHILPOT N, y NICKERSON S. Ganando la lucha contra la mastitis, citados por Ibíd. p., 584.

²³ SMITH, B. Environmental mastitis, citado CALDERÓN Alfonso y RODRÍGUEZ Virginia. Op. cit., p 33.

²⁴ BLOWEY y EDMONDSON. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche, citados por HERNÁNDEZ, Juan y BEDOLLA, José. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET [En línea], México. 2008, Vol. IX, N. 9. Available from internet: < <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090808/090904.pdf> >. ISSN 1695-7504.

²⁵ MEDINA, C. y MONTALDO, V. El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para mastitis, citados por HERNÁNDEZ, Juan y BEDOLLA, José. Op. Cit., p. 35.

En cuanto a las ventajas del CMT Báez²⁶, menciona que es fácil de realizar y que el material extraño (pelo, partículas o sustancias) no interfiere en la prueba, además no necesita de un equipo costoso. Sin embargo existen algunos inconvenientes, ya que los resultados pueden ser interpretados de forma subjetiva y pueden presentarse falsos positivos en leche de animales con menos de diez días después del parto o en vacas próximas a secarse.

4.4 RELACIÓN DE CÉLULAS SOMÁTICAS CON MASTITIS

4.4.1 Células somáticas. Wolter y Kloppert²⁷, denominan células somáticas a aquellas células propias del cuerpo presentes en la leche. Estas provienen de la sangre y del tejido de la glándula mamaria. Su contenido en la producción láctea nos permite conocer datos claves sobre la función y el estado de salud de la glándula mamaria y debido a su cercana relación con la composición de la leche es un criterio muy importante de calidad higiénica.

Quintana²⁸, afirma que las células somáticas entre 93% y 98% son leucocitos o células blancas de origen sanguíneo, tales como macrófagos, linfocitos, neutrófilos y polimorfo nucleares (Figura 1), cuyas funciones en la glándula mamaria son combatir a los microorganismos infectantes mediante un proceso llamado fagocitosis e intervenir en la reparación del tejido secretor que ha sido dañado por alguna infección ó lesión. Del 2% al 7% restante se denominan células de descamación que provienen del epitelio de los conductos de la glándula mamaria.

²⁶ BÁEZ, G. Estudio epidemiológico de mastitis subclínica bovina en el sector II de Téjaro, Michoacán, citado por *Ibíd.*, p. 34.

²⁷ WOLTER y KLOPPERT. Interpretación de los resultados del conteo celular y de la aplicación de la terapia citados por *Ibíd.* p.12.

²⁸ QUINTANA, Alberto. Las Células Somáticas en la calidad de la leche. *Revista Virbac al día* [Online]. 2006, Vol. 8, N° 10. Disponible en internet: <<http://www.webveterinaria.com/virbac/news8/bovinos.pdf>>.

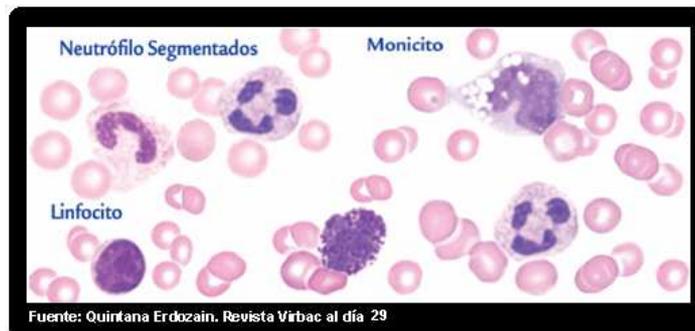


Figura 1. Células blancas de origen sanguíneo presentes en la leche.

García establece que;

Las bacterias que invaden el canal del pezón pueden clasificarse en contagiosas o ambientales. Las bacterias contagiosas se diseminan entre los pezones de una vaca o entre diferentes vacas de un hato como resultado de prácticas de manejo inadecuadas al momento del ordeño. Las bacterias ambientales están presentes en el medio ambiente de la vaca, en su piel, establo, aguas estancadas, etc. y penetran en la ubre cuando se dan determinadas condiciones. Una vez que las bacterias ingresan al interior de la glándula mamaria, la respuesta inmunitaria del organismo es enviar glóbulos blancos de la sangre para neutralizar a los agentes invasores. Debido a que las células somáticas sufren cambios cuantitativos durante el desarrollo de infecciones intramamarias, son un indicador de presencia de mastitis.³⁰

Como se observa en la Tabla 2, el incremento de neutrófilos es notable cuando se presentan episodios infecciosos, ya que son los primeros migrantes hacia el sitio de inflamación.

²⁹ QUINTANA, Alberto. *Ibíd.*, p. 3.

³⁰ GARCÍA, A. Células somáticas y alto recuento bacteriano. ¿Cómo controlarlo?, citado por HERNÁNDEZ, Juan y BEDOLLA, José. *Op. cit.* p.14.

Tabla 2. Variación porcentual de células somáticas en leche normal y afectada.

Tipos	Leche normal %	Leche afectada %
Neutrófilos	0 – 11	90
Macrófagos	66 – 88	2 - 10
Linfocitos	10 – 27	
Células epiteliales	0 – 7	0 – 7
Fuente: Lee <i>et al.</i> ³¹		

4.4.2 Recuento de células somáticas (RCS). Blowey y Edmondson³², afirman que el recuento de células somáticas es el número de células por mililitro de leche. Al respecto Philpot³³, considera que la determinación del contenido de células somáticas, es el medio auxiliar de diagnóstico más importante para juzgar el estado de salud de la ubre de un hato. Con los resultados de las células somáticas se corrobora la calidad de la leche, lo que le garantiza a la población consumir productos de buena calidad y de buena presentación, y al ganadero obtener una mayor producción al tener su hato sano y por lo tanto, mayores ingresos por venta.

De acuerdo con lo anterior, el RCS es un procedimiento que puede ser realizado en vacas individuales, cuartos individuales, en el hato completo y/o tanque enfriador, permitiendo conocer la presencia o ausencia de infecciones y por lo tanto mantener monitoreada la incidencia de mastitis.

Con respecto a la salud de la ubre Wolter³⁴, expresa que no se han definido límites muy estrictos. No obstante en la leche de una vaca sana se pueden encontrar hasta 100.000 células somáticas/ml como un nivel fisiológico normal, sin ninguna alteración patológica en la glándula mamaria.

³¹ LEE, C; WOODING, F and KEMP, P. 1980. Identification properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrums and milk from normal cows, citados por RUEGG, Pamela. *Secreción de Leche y Estándares de Calidad*. [En línea]. Universidad de Wisconsin, Madison. 2001 [Citada 7 Febrero 2009]. Disponible en Internet: <<http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/milksecretionandqualitys>>.

³² BLOWEY y EDMONDSON. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche, citados por HERNÁNDEZ, Juan y BEDOLLA, José. Op. Cit. p.15.

³³ PHILPOT. Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que la afectan, citados por *Ibíd.*, p.15.

³⁴ WOLTER, W; CASTAÑEDA, H; KLOPPERT, B y SCHÖCK, M. Mastitis bovina. Prevención, diagnóstico y tratamiento, citados por *Ibíd.*, p.16.

4.4.3 Importancia de realizar recuentos de células somáticas. El Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural³⁵, estableció en la resolución N° 000012 de enero de 2007, el sistema de pago de leche cruda al productor y debido a esto las diferentes empresas lácteas en Colombia pagan la bonificación correspondiente al estado sanitario, lo que genera un evidente interés por el control de la mastitis, motivando al ganadero a producir leche de calidad, aplicando programas de sanidad y salud animal.

García³⁶, afirma que si bien las pérdidas de premios por calidad son significativas, las pérdidas inaparentes de producción de leche tienen también un gran impacto económico.

Efectuar RCS representa para el productor:

- Aumento de la producción de leche.
- Disminución de costos por reemplazo de vacas.
- Menos descarte de leche.
- Reducción en el costo de medicamentos y de veterinario.

4.4.4 Factores que inciden en el recuento de células somáticas. Acevedo³⁷, menciona que el RCS es un valor dinámico que puede presentar variaciones naturales por factores como:

4.4.4.1 Factores inherentes al personal. El operario a través del correcto manejo puede bajar el número de células somáticas, como también puede ser generador de aumentos, sino cumple con las pautas mínimas de bioseguridad. Las principales medidas que se deben tomar son:

- **Máquina de ordeño e instalaciones.** Si el equipo de ordeño no está correctamente calibrado o el control y mantenimiento son deficientes, se convierten en factores que contribuyen en gran medida a la incidencia de mastitis.

³⁵ COLOMBIA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Op. cit.

³⁶ GARCÍA, S. Células somáticas una advertencia sin darnos cuenta, citado por HERNÁNDEZ, Juan y BEDOLLA, José. Op. Cit. p. 16 - 18.

³⁷ ACEVEDO, V. M. Mastitis: afecta la producción y la calidad de la leche. Intervet Ecuador S.A. 2005. Disponible en <http://www.intervet.com.ec/Binaries/63_74032.doc>. Consulta: [02-10-2005].

- **Higiene en el ordeño.** El objetivo es ordeñar pezones limpios, secos y bien estimulados, por lo tanto se deben lavar los pezones y secarlos con toallas individuales.
- **Organización de los ordeños.** Es conveniente ordeñar en primer lugar las vacas sanas y al final las vacas en tratamiento para impedir la diseminación de infecciones y agilizar la rutina de ordeño.
- **Sellado de pezones.** Después del ordeño, el canal del pezón queda abierto por un tiempo que varía entre 30 minutos y 2 horas. La aplicación de productos antisépticos confiables es una buena medida preventiva para disminuir las infecciones intramamarias. Ésta es la medida más efectiva y económica dentro del plan de control de mastitis.
- **Hato.** Se pueden realizar prácticas sencillas para reducir la exposición de los pezones a los microorganismos patógenos al contar con un medio ambiente lo más higiénico y seco posible, evitando que las vacas atraviesen lugares con lodo en las dos horas post-ordeño. Para ello se debe tener comederos a su disposición o ser trasladadas a un terreno limpio.
- **Control de vacas crónicas.** Es considerada una vaca crónica aquella que presenta más de dos casos clínicos en la misma lactancia y dichos casos se presentan con un intervalo de por lo menos quince días. Estas vacas cuando son tratadas pasan de una mastitis clínica a una subclínica y luego nuevamente vuelven al primer estado, ocasionando pérdidas económicas y son las principales fuentes de contagio.
- **Terapia de secado.** Se debe realizar dos meses antes de la fecha esperada del parto, con el fin de sanar una mastitis subclínica presente en el transcurso de la lactancia y prevenir una mastitis clínica en el periodo seco. De esta manera se obtiene bajos recuentos de células somáticas después del parto.
- **Estrés en las vacas.** El manejo inadecuado de los animales por parte del personal encargado, los acarreos rápidos y otras situaciones adversas hacen que se incremente el número de células somáticas.

4.4.4.2 Factores inherentes al animal

- **Edad.** El valor del RCS puede incrementarse con la edad, debido a que las ubres de las vacas viejas tienen más tiempo de exposición a organismos incrementando con ello las posibilidades de tener una infección crónica. Cabe aclarar que las vacas viejas pueden presentar conteos celulares bajos, sobre todo si no han estado expuestas a infecciones constantes.

- **Tercio de lactancia.** Un elevado recuento de células somáticas en leche de la primera semana después del parto puede considerarse normal por la producción de calostro, ya que éste tiene un alto recuento celular (millones) debido a la descamación de las células epiteliales que en vacas sanas se normaliza a los cinco días de empezar a ordeñarlas.

Cuando la vaca llega al período final de la lactancia hay un aumento de células somáticas, ya que en este periodo se disminuye el volumen de producción, de manera que el número normal de células se concentra en una cantidad menor de leche.

- **Raza.** Se ha encontrado mayor variabilidad en animales de la misma raza que en animales de diferentes razas. Al respecto un estudio realizado por Comerón *et al*³⁸, demostró que la raza jersey presenta valores de RCS mayores a los encontrados en la raza Holstein.

- **Alimentación.** Deficiencias en la alimentación ó errores en la misma, se manifiesta en vacas débiles susceptibles a infecciones en la ubre. Así mismo, un déficit energético en el pico de la lactancia ó un suministro inadecuado de vitaminas, minerales, etc., genera depresión del sistema inmunológico, lo que facilita la colonización de agentes patógenos en la glándula mamaria.

4.4.4.3 Factores inherentes al ambiente

- **Agentes patógenos.** La mastitis clínica y subclínica son producidas por varios microorganismos, siendo los más importantes los patógenos contagiosos *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*. Especialmente este último produce una elevación violenta de células somáticas en la leche de tanque aunque la cantidad de vacas infectadas sean pocas. A pesar de ello este microorganismo puede ser erradicado del establecimiento si se realizan los tratamientos antibióticos adecuados.

Según Ruiz³⁹, otras variaciones del RCS pueden estar influenciadas por:

- **Variaciones diurnas.** En hatos ordeñados dos veces al día el RCS es mayor en el ordeño de la tarde, lo que indica que durante el día ocurren más factores que pueden afectar el RCS, entre estos: estrés de las vacas, su movimiento, la luminosidad, etc.

³⁸ COMERÓN, E; ROMERO, L; ARONNA, M; CHARLON, V; QUAINO, O y VITULICH, C. Producción y composición química de la leche. En : publicaciones del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuario INTA Rafael [En línea]. Argentina 2000. Disponible en internet: < www.inta.gov.ar/leche/info/documentos/.../AAPA_Sanidad.pdf >.

³⁹ RUIZ, Hedilberto. Interpretación de la cuenta de células somáticas en la leche de bovinos. En: Congreso Nacional de Buiatría XXVI (2002 Acapulco). México., p. 4.

- **Estación del año.** En los meses de verano, por el estrés calórico, la producción de leche baja y por lo tanto aumenta el recuento de células somáticas.

4.4.5 Pérdidas de leche asociadas a elevados RCS. Cotrino⁴⁰, afirma que universalmente es aceptado que una finca que produzca leche con menos de 200.000 células somáticas por ml, tiene una producción óptima. El incremento de cada 100.000 células sobre esta cifra, significa una disminución en la producción del 2.5%, es decir, que una finca que tenga 500.000 células por ml, pierde el 7.5 % de su producción total. Como se aprecia en la Tabla 3, a medida que se incrementa el RCS aumentan las pérdidas en la producción por lactancia ajustada.

Tabla 3. Pérdidas de leche por incremento del RCS.

Recuento de células somáticas (cél/ml)	Primera lactancia ajustada a 305 días (Kg.)	Lactancias siguientes ajustadas a 305 días (Kg.)
12.500	0	0
25.000	0	0
50.000	0	0
100.000	91	182
200.000	182	363
400.000	273	545
800.000	363	726
1.600.000	454	908

Fuente: Monardes y Barria⁴¹.

Respecto a las pérdidas ocasionadas por ésta enfermedad, Monardes y Barria⁴², afirman que la mastitis es la tercera de las principales causas de descarte de vacas, después de la baja producción de leche y de los problemas reproductivos. Las pérdidas causadas por la mastitis se representan principalmente por la menor producción de leche (65%), leche descartada (15%), costo de reposición (10%), costo de los medicamentos (5%), gastos de veterinario (3%) y trabajo adicional (2%).

⁴⁰ COTRINO, Victor. La Calidad Higiénica y Sanitaria de la Leche Paga. Laboratorio Medico Veterinario [Online], 2004 [Citada 24 Enero 2009]. Disponible en internet: <[www.http://lmv/lda.com](http://lmv/lda.com)>.

⁴¹ MONARDES, Humberto y BARRIA, Nelson. Artículos técnicos. Recuento de Células Somáticas y Mastitis. Rev. Agrovetermarket. [En línea], Marzo 2008. Disponible en internet: <<http://www.agrovetermarket.com/TechnicalArticlesUI.aspx>>.

⁴² *Ibíd.*, p. 4.

A nivel industrial, la mastitis afecta la calidad de la leche y sus subproductos causando rancidez, aroma y gusto indeseable durante la conservación. Se ha proyectado una disminución del 10% en la producción de queso, cuando se elabora con leche que supera el 1.000.000 cél/ml.

Como se observa en la Tabla 4, las alteraciones de los componentes de la leche asociados con altos RCS, presentan disminución de la lactosa, grasa y caseína, y aumento de las proteínas séricas, cloruro y sodio.

Tabla 4. Efecto de altos RCS en la composición de la leche

Componente	Leche normal (%)	Leche con alto RCS
Agua	86.6	Aumenta
Materia seca	13.4	Disminuye
Proteína	3.5	Ligera disminución
Suero Proteínico	0.6	Aumenta
Grasa	4.4	Disminuye
Otras proteínas	0.1	Ligera disminución
Minerales	0.8	Aumenta cloruro/sodio Disminuye calcio/potasio
Lactosa	4.6	Disminuye
Enzimas, vitaminas	0.1	Aumenta
Caseína	2.8	Disminuye
Fuente: Revista Veepro ⁴³		

4.5 MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA MASTITIS A TRAVÉS DEL RCS

Montaldo y Barria⁴⁴, señalan que el mejoramiento genético animal consiste en aplicar principios biológicos, económicos y matemáticos, con el fin de encontrar estrategias óptimas para aprovechar la variación genética existente en una especie de animales en particular para maximizar su mérito. Esto involucra tanto la variación genética entre los individuos de una raza, como la variación entre razas y cruza.

⁴³ La mastitis causa grandes pérdidas económicas [en línea]. Arnhem. Veepro dairy management Vol. 63, Nov. 2006 [citada 7 octubre 2008]. Disponible en internet: <www.veepro.nl>

⁴⁴ MONTALDO, H y BARRÍA, N. Mejoramiento Genético de Animales. En: Revista Ciencia al día. [En línea]. Sept. 1998. Vol. 1, No 2. [Citado 7 marzo 2009]. Disponible en <<http://www.ciencia.cl/CienciaAlDia/volumen1/numero2/articulos/articulo3.html>>

Así mismo Requena⁴⁵, considera que el mejoramiento genético para aumentar los niveles de resistencia a mastitis puede efectuarse a través de selección directa usando registros de mastitis clínica o selección indirecta, empleando rasgos que se correlacionan genéticamente o ambos.

La selección indirecta para Shook and Shutz⁴⁶, es un concepto bien establecido en la genética cuantitativa, que se basa en seleccionar un rasgo indicador para realizar la mejora genética de un rasgo de mayor importancia. Para que la selección indirecta sea efectiva, debe existir una alta correlación entre el rasgo indicador y la característica a mejorar debido a que indica el cambio que se producirá en una variable cuando se seleccione por otra; además el rasgo indicador debe cumplir con las ventajas de alta heredabilidad, menores costos y que sea apreciable en ambos sexos.

De acuerdo con lo anterior, el RCS es el rasgo sobre el cual se fundamenta la selección para la mejora genética de la resistencia a mastitis, debido a que su correlación genética con la mastitis esta alrededor del 60 a 80%, lo que indica una fuerte asociación genética entre estos dos rasgos.

Según Ochoa⁴⁷, la heredabilidad (h^2) se define como la relación entre la variación aditiva genética y variación fenotípica. Los valores de este parámetro indican cuanto de las diferencias observadas entre los individuos, en promedio se transmiten a la progenie, para una característica en particular. Una heredabilidad relativamente alta, indica mayor importancia para la genética y menor importancia del manejo y del medio ambiente en la variabilidad entre los fenotipos. En general, cuanto más alta es la heredabilidad de un rasgo, más alta es la exactitud de selección y mayor es la posibilidad de obtener una ganancia genética por medio de la selección.

Con respecto a la estimaciones de heredabilidad para la mastitis, estudios recientes de Rupp y Boichard⁴⁸, indican que es muy variable (2 a 6%) y para RCS encontraron una cifra de 17%.

⁴⁵ REQUENA, Francisco, REQUENA Fernando y AGÜERA, Buendía Estrella. Aspectos genéticos de la mastitis en el bovino frisón. En: Revista Electrónica de Veterinaria REDVET® [Online]. Dic, 2003 – [Citado 15 Ago, 2008]. Available from internet: <www. Comunidad Virtual Veterinaria.org.>. ISSN 16957504.

⁴⁶ SHOOK, E. y SCHUTZ, M. Op. Cit., p. 648.

⁴⁷ OCHOA, G. Mejoramiento genético del ganado bovino productor de leche, citado por SOLARTE, C; ROSERO, C; ERASO, M y ZAMBRANO, G. En : Caracterización y evaluación genética de la población bovina lechera del trópico alto de Nariño para la conformación de núcleos de selección / Universidad de Nariño No. 2. San Juan de Pasto, 2009. 59 p.

⁴⁸ RUPP, R and BOICHARD, D. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, Production, Udder Type Traits, and Milking Ease in First Lactation Holsteins. En : Journal Dairy Science 1999 . Vol., 82:2198. p. 2204.

4.5.1 Valoración genética del RCS. Como menciona Solarte *et al*⁴⁹, el proceso de la evaluación genética del RCS comienza con la recolección de los datos fenotípicos en campo, su revisión, caracterización estadística básica y finalmente la modelación lineal que permite calcular en la totalidad de individuos incluidos en la evaluación los parámetros genéticos requeridos y posteriormente el valor de cría o valor genético, el cual se define como el valor promedio que tiene un individuo en todos sus genes para cualquier característica de herencia aditiva.

El valor genético de RCS se obtiene mediante el modelo animal BLUP, desarrollado a partir de los trabajos teóricos de Henderson⁵⁰, que logró implementarse en la práctica como consecuencia de los avances en el desarrollo de software y la construcción de hardware. El modelo animal BLUP posee propiedades estadísticas que lo han convertido en una poderosa herramienta para llevar a cabo trabajos de aplicación en mejoramiento genético.

Una vez identificado el valor genético del RCS de una población es posible mejorar la resistencia a mastitis seleccionando animales con valores de PTA (Predicted Transmitting Ability) bajos. Wattiaux⁵¹, define el PTA como el promedio del valor genético para ciertos rasgos que un animal transmite a su descendencia. Por esa razón resulta crucial en el proceso productivo, lograr dicha identificación con la mayor precisión posible, ya que el PTA de éste rasgo permitirá la selección de toros cuyas hijas tienen menos casos de mastitis.

⁴⁹ SOLARTE, C; ROSERO, C; ERASO, M y ZAMBRANO, G. Op. cit., p. 54.

⁵⁰ HENDERSON, C. Comparison of alternative sire evaluation methods, citado por SOLARTE, C; ROSERO, C; ERASO, M y ZAMBRANO, G. Op. cit., p. 54.

⁵¹ WATTIAUX, Michel A. Habilidad de Transmisión Predicha y Confiabilidad. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera [En línea], 2009. [Citado 30 Agosto 2009]. Disponible en <<http://babcock.cals.wisc.edu/?q=es/node/183>>.

Para presentar los resultados de la evaluación genética del RCS Shook and Shutz⁵², mencionan que además del PTA, se han considerado otros prototipos, como se indican en la Tabla 5.

Tabla 5. Prototipos para reportar evaluaciones genéticas del RCS

Índice	Calculo	Rango de valores
Recuento de células somáticas	PTA_RCS – PTA Base*	-0.3 a 0.3
Índice de células somáticas	(PTA_RCS – PTA Base) x 10 + 5	2 a 8
Índice de resistencia a mastitis	(PTA_RCS – PTA Base) x (-100) + 50	80 a 20
Habilidad de transmisión estandarizada	(PTA_RCS – PTA Base) / SD de RCS	-2.0 a 2.0
Índice del conteo de células somáticas	100 x (2 ^{PTA_RCS – PTA Base+1})	160 a 260
Índice del porcentaje de cambio	2 ^{PTA_RCS – PTA Base}	0.8 a 1.25
Índice de susceptibilidad a mastitis	100 (e ^y / 1 + e ^y) Donde: y=(PTA_RCS – PTA Base) x 1 – 1.1	20 a 31%
Fuente: Shook and Shutz ⁵³		

* La base es el promedio de la evaluación genética, en un año determinado generalmente en un espacio de cinco años, que corresponde a la media del intervalo generacional de los bovinos.

⁵² SHOOK, E. y SCHUTZ, M. Op. Cit., p. 655.

⁵³ Ibid., p. 656.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el distrito lechero de Pasto, del departamento de Nariño (Figura 2), república de Colombia, que según la evaluación de los recursos forestales mundiales⁵⁴, corresponde a la zona de vida de Bosque húmedo montano (bh-M) y páramo sub-andino (p-SA) caracterizado por la presencia de pastos naturales y bosque secundario.

De acuerdo con el IGAC: “El municipio de Pasto presenta una altura de 2527 m.s.n.m y una temperatura promedio de 14°C, se encuentra localizado a 1°, 12', 41" Latitud norte y 77°, 16', 52" Longitud oeste, con respecto al meridiano de Greenwich”⁵⁵.

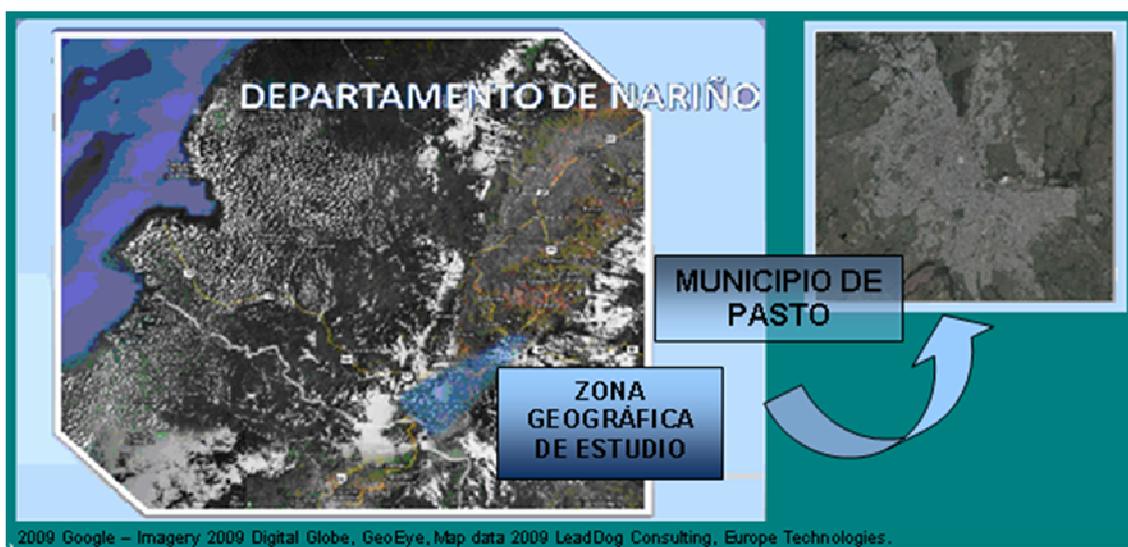


Figura 2. Localización satelital del distrito lechero de Pasto dentro del departamento de Nariño- Colombia.

⁵⁴Evaluación de los recursos forestales mundiales. Informe Principal. 2000. Disponible en: <www.fao.org/docrep/005/y1997s/y1997s00.htm>.

⁵⁵ INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI (IGAC). COLOMBIA.

5.2 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA

En la base de datos del Programa de Mejoramiento Genético se encuentra registrado un archivo de pedigrí con la información de 11696 animales de la raza Holstein, de los cuales 2326 son vacas que tienen registrada por lo menos una lactancia; de ese grupo únicamente 464 resultaron aptas para clasificación y sobre ese núcleo se realizaron las mediciones periódicas de las variables relacionadas con la calidad de la leche y la sanidad de la ubre. La distribución por distrito corresponde a la siguiente estructura: 217 en Pasto, 33 en Pupiales y 214 en Guachucal.

En esta investigación se tuvo en cuenta los 217 animales pertenecientes al distrito lechero de Pasto, de los cuales se selecciono un grupo élite conformado por 71 hembras provenientes de 15 fincas (Tabla 6), que previamente fueron valoradas para los rasgos de producción, sanidad de la ubre y conformación anatómica cumpliendo con las siguientes condiciones: producción de leche ajustada a 305 días mayor o igual a 6.000 litros, puntaje total de tipo superior o igual a 80 puntos, intervalo entre partos de 420 días y prueba de CMT negativa.

Tabla 6. Número de animales muestreados por finca

FINCA	CODIGO FINCA	Nº DE ANIMALES
Alaska	00001	7
Arrayanes	00018	5
Betania	00020	2
Kurikingas	00043	5
Chachatoy	00023	8
Frisona	00019	3
Gualcala	00007	1
La guaira	00021	5
Loma linda	00033	4
Praga	00040	6
Rincón	00009	7
San francisco	00038	5
San José	00004	9
Villa Rosario	00045	2
Zarsal	00301	2
TOTAL		71

5.3 PROCESO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Como se puede apreciar en la Figura 3, para determinar el recuento de células somáticas individual se consideraron sólo aquellos animales libres de mastitis. En la misma figura se detalla desde la selección de animales y el proceso de laboratorio hasta el cálculo realizado para obtener el RCS.

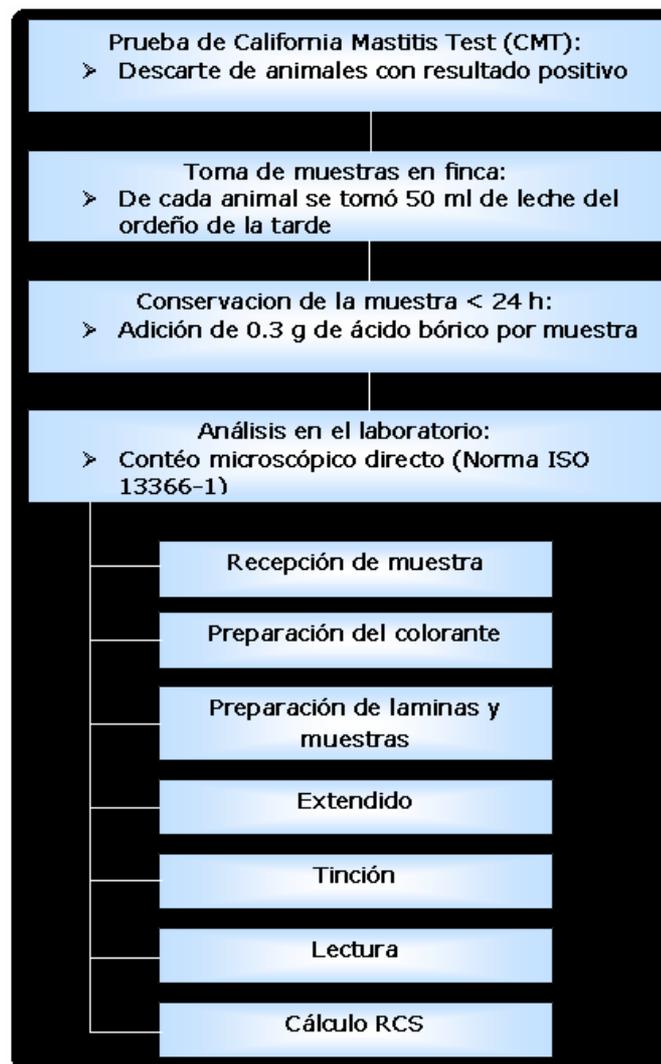


Figura 3. Flujograma para la determinación de RCS.

Para realizar la Prueba de CMT se tuvo en cuenta el procedimiento reportado por Blowey y Edmonson⁵⁶, descrito a continuación:

1. Se eliminó la leche del despunte.
2. Se tomó uno o dos chorros de leche de cada cuarto de la ubre y se depositó en las posas de la paleta, tal como se aprecia en la Figura 4. Cada posa representa un cuarto de la ubre.
3. En la paleta se añadió el alquil-aril sulfonato de sodio, reactivo que al mezclarse con la leche forma una gelificación, que como se describe en la Tabla 7, de acuerdo al grado de viscosidad de la mezcla se le atribuye un valor de cél/ml y por ende se determina la presencia de mastitis.



Tabla 7. Criterios básicos para la interpretación del CMT

Grado	Tipo de Relación	Células / ml
Negativo	Mezcla se mantiene líquida	< 200.000
Trazas	Ligera viscosidad	200.000 - 500.000
1	Mezcla viscosa no adherida al fondo	400.000 -1.500.000
2	Mezcla viscosa que se adhiere al fondo	800.000 - 5.000.000
3	Mezcla muy viscosa fuertemente adherida que forma un sólo grumo.	>5.000.000
Fuente: Cotrino, Víctor ⁵⁷ .		

⁵⁶ BLOWEY, R. y EDMONDSON, P. 1995. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche, citados por HERNÁNDEZ, Juan y BEDOLLA, José. Op. cit., p. 33.

⁵⁷ COTRINO, Víctor. Op. cit., p.5.

5.3.2 Toma de muestras. Las hembras seleccionadas en este estudio, fueron muestreadas dos veces con un intervalo superior a 15 días entre cada toma de muestras.

Los recipientes plásticos utilizados para almacenar las muestras, fueron debidamente identificados con nombre del animal, finca y fecha (Figura 5).



Figura 5. Recipiente utilizado para almacenamiento de la muestra.

De la producción de cada animal, se tomó un volumen de 50 ml de leche cruda, correspondiente al ordeño de la tarde, realizando previa homogeneización de la leche a muestrear en la cantina (Figura 6), con el fin de evitar la concentración de las células somáticas en la parte superior y en las capas inferiores.



Figura 6. Homogenización de la leche en cantina.

5.3.3 Conservación de muestras. Dado que las muestras no se podían procesar dentro de las 6 horas posteriores al muestreo, se consideró necesario adicionar ácido bórico como conservante a una concentración de 0.3 g/ 50ml. Estas muestras se preservaron en una nevera portátil a una temperatura inferior a los 6 °C por un periodo menor a 24 horas.

5.3.4 ANÁLISIS DE LABORATORIO

5.3.4.1 Recepción de Muestras. Las muestras se llevaron hasta el laboratorio de diagnóstico de la Clínica Veterinaria Carlos Alberto Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño (Figura 7) para realizar el análisis mediante la técnica de microscopía directa bajo la norma ISO 13366-1⁵⁸.



Figura 7. Laboratorio de diagnóstico. Clínica veterinaria. Universidad de Nariño.

5.3.4.2 Preparación del Colorante. Se mezcló 54 ml de etanol al 95% con 40 ml de xilol en un frasco ámbar que se llevó a baño maría para calentarlo a 65°C; enseguida se retiró el frasco y se agregaron lentamente 0.6 g de azul de metileno mezclándolo cuidadosamente. Luego se refrigeró a 4°C por 30 minutos. Posteriormente se adicionó 6 ml de ácido acético glacial homogenizando la solución, la cual fue filtrada y depositada en un frasco ámbar de cierre hermético y protegido de la luz. En la Figura 8 se muestra el equipo de baño maría y los distintos reactivos utilizados para la elaboración del azul de metileno.



Figura 8. Baño maría marca E&Q y reactivos para la preparación del colorante.

⁵⁸ SISTEMA NACIONAL DE ANALISIS DE LECHE FRESCA SISLAC – Recuento De Células Somáticas Y Detección De Inhibidores En Leche. Técnica de referencia – Norma ISO 13366-1. Técnica recuento de células somáticas en leche. Convenio SENA – CNLM. 2006

5.3.4.3 Preparación de Láminas y Muestras. Las muestras se ingresaron en la incubadora (marca Quincy Lab. Inc. Model 12-140), con el fin de regular la temperatura dado que se conservaron en refrigeración. Luego se homogenizó cada muestra por inversión aproximadamente 25 veces.

Se prepararon dos láminas por muestra, a cada una se le agregó un recorte de papel milimetrado con dimensiones de 1.5 * 2.0 cm, en el cual se resaltó una área de extendido de 0.5 * 2.0 cm. Las láminas se humedecieron con etanol y después se flamearon una a una como se observa en la Figura 9.

Posteriormente se dejaron enfriar, con el fin de evitar la destrucción celular al momento de realizar el extendido.



Figura 9. Preparación de láminas.

5.3.4.5 Extendido. Se midió 10 ul de leche con una micropipeta (marca BIOH Proline) y se procedió a extender de manera uniforme en el área delimitada de la lámina (Figura 10). Para garantizar la esterilidad del procedimiento fue necesario contar con un mechero. Posteriormente las láminas se incubaron entre 37 y 40°C, hasta que se secaron totalmente.

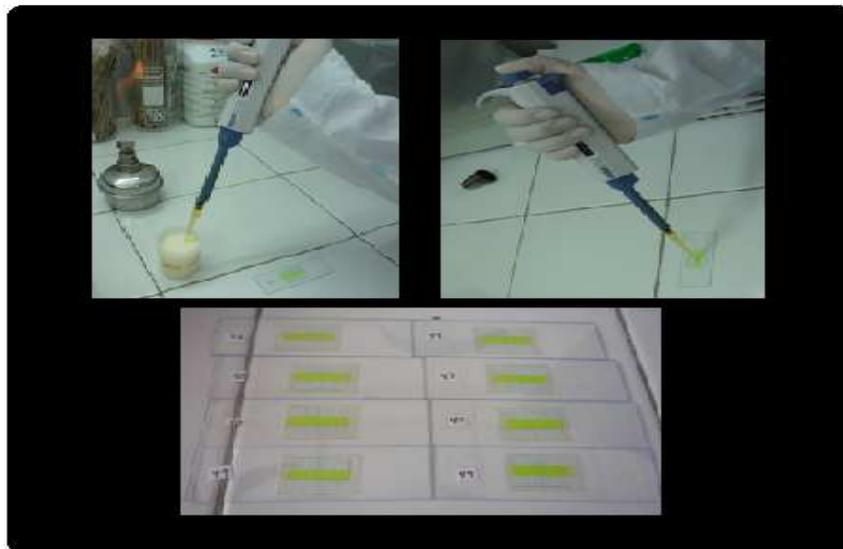


Figura 10. Extendido de la muestra.

5.3.4.6 Tinción. Para efectuar la coloración de la muestra se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

Antes de usar el colorante se filtró como se indica en la Figura 11. Las láminas fueron cubiertas con el azul de metileno por 10 minutos, luego se eliminó el exceso de colorante y se dejó secar de un día para otro. Posteriormente, se procedió a limpiar las láminas con agua usando un frasco lavador, sin ejercer presión, para evitar el desprendimiento de las células, finalmente se dejaron secar con el fin de realizar la lectura correspondiente.

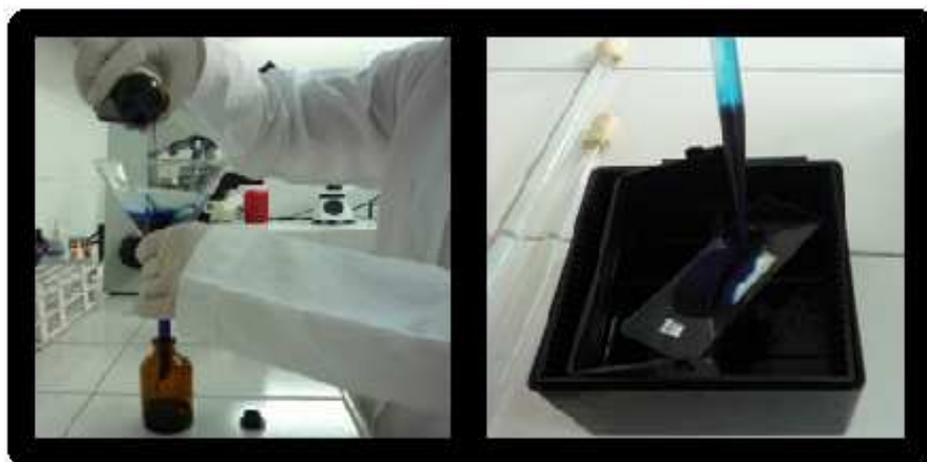


Figura 11. Filtración del colorante y tinción de la lámina.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

5.4.1 Transformación de datos. Los valores calculados de RCS de los 71 animales, fueron transformados mediante la expresión logarítmica en base 2, con el procedimiento indicado por Shook y Wiggans⁵⁹, que se expresa en la siguiente fórmula:

$$RCST = \log_2 [RCS / 100.000] + 3$$

Este procedimiento permite convertir el RCS original a una escala lineal denominada logaritmo de RCS (LogRCS) que va de 0 a 9 (Tabla 8), con el fin de conseguir una distribución homogénea de los datos, en el modelo de evaluación y obtener la valoración genética de los animales.

Tabla 8. Correspondencia entre LogRCS y RCS.

LogRCS	Valor cel/ml
0	12.500
1	25.000
2	50.000
3	100.000
4	200.000
5	400.000
6	800.000
7	1`600.000
8	3`200.000
9	6`400.000

Fuente: Fernández, M.⁶⁰

5.4.2 Construcción de Matriz de Datos. Los valores del LogRCS, se incluyeron en la base de datos junto con la información de cada individuo, que se encuentra almacenada en el centro operador del Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño.

Los correspondientes análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SAS, versión 9.2 y MTDFREML, debidamente licenciados por dicho Programa.

⁵⁹ SHOOK, G. E. y WIGGANS, G. R. A Lactation Measure of Somatic Cell Count. En: Journal Dairy Science. 1987. Vol., 70:2666-2672 p.p.

⁶⁰ FERNANDEZ, Perea. Valoración genética de caracteres relacionados con la sanidad de la ubre: recuento de células somáticas (I). En: Revista Frisona [En línea]. 2 Agosto 2006. [Citado 21 Febrero 2009]. Disponible en internet: http://www.portalechero.com/ver_items_descrip.asp?wVarItem=450

5.4.3 Modelo estadístico. La evaluación genética, se llevó a cabo mediante un modelo lineal mixto descrito por Mrode y Thompson⁶¹, en el que se incluyeron el efecto aleatorio del animal y los efectos fijos hato-año-época, número de lactancia y la covariable edad del animal. En el anexo A se detalla en análisis de varianza de estos factores, los cuales resultaron estadísticamente significativos y por esta razón se incluyeron en el modelo que se represento de acuerdo con la siguiente expresión algebraica:

$$Y = X_b + Z_a + E$$

Donde:

$y = n \times 1$ vector de observaciones; n =numero de registros

$b = p \times 1$ vector de efectos fijos; p =numero niveles de efectos fijos

$a = q \times 1$ vector de efectos aleatorios del animal; q =numero de niveles por efecto aleatorio.

$e = n \times 1$ vector de efecto residual aleatorio

X = matriz diseño de orden $n \times p$, que relaciona los registros con los efectos fijos

Z = matriz diseño de orden $n \times q$, que relaciona los registros del efecto aleatorio del animal.

⁶¹ MRODE, R and THOMPSON, R. Linear models for the prediction of animal breeding values. Second edition. 2005. p. 344.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DEL RCS

La estadística descriptiva de los valores del RCS y su transformación a la escala logarítmica en base 2 se indican en la Tabla 9.

Tabla 9. Recuento de células somáticas para la raza Holstein en el distrito lechero de Pasto.

RCS	Media	Desv. Std.	Mínimo	Máximo
Log	2.43	0.69	1.39	4.19
Cél/ml	76.711	44.599	32.806	229.573

El promedio del LogRCS de las hembras Holstein muestreadas en esta región fue de 2.43. Esta cifra es concordante con otras evaluaciones realizadas en Estados Unidos para la raza Holstein. Así, Dechow *et al*⁶², reportaron un valor de 2.44; mientras que Welper y Freeman⁶³, reseñan una cifra de 2.85 y Boettcher *et al*⁶⁴, en una investigación en 6 condados diferentes encontraron un rango entre 2.56 a 3.14 para la tercera lactancia.

Para la misma raza en dos fincas de Antioquia (Colombia) Cerón *et al*⁶⁵, determinó un valor promedio de LogRCS de 2.5, durante el ordeño de la tarde.

El valor medio del RCS fue de 76.711 cél/ml., lo que permite apreciar claramente que las 71 vacas objeto de estudio presentaban un buen estado sanitario de la ubre, ya que de acuerdo con Cotrino⁶⁶, la leche en vacas sanas tiene menos de 100.000 cél/ml. Al respecto Philpot⁶⁷, expresa que las glándulas mamarias que nunca se han infectado normalmente tienen RCS de 20.000 a 50.000 cél/ml.

⁶² DECHOW, C; NORMAN, H and PELENSKY, C. Short Communication: Variance Estimates Among Herds Stratified by Individual Herd Heritability. En: Journal Dairy Science 2008. Vol., 91. 1648-1651 p.p.

⁶³ WELPER, R and FREEMAN, A. Genetic Parameters for Yield Traits of Holsteins. En : Journal Dairy Science 1992. Vol., 75. 1342-1348 p.p.

⁶⁴ BOETTCHER, P; HANSEN, L; VanRADEN, P and ERNEST, C. Genetic evaluation of Holstein bulls for somatic cell in milk of daughters. En: Journal Dairy Science 1992. Vol., 75. 1027-1037 p.p.

⁶⁵ CERÓN, M; AGUDELO, E y MALDONADO, J. Op. cit., p. 478.

⁶⁶ COTRINO, Víctor. Op. cit., p.4.

⁶⁷ PHILPOT, Nickerson. Ganando la lucha contra la mastitis, citado por Op. cit., p. 583.

Dado que los resultados de esta investigación corresponden a RCS individuales de vacas sanas, no sería apropiado compararlos con estudios regionales realizados en diferentes condiciones; sin embargo, para efectos de información se demuestra que en estudios hechos por Benavides y Pito⁶⁸, en siete plantas procesadoras de leche en el municipio de Pasto y por Cadena *et al*⁶⁹, en 19 fincas del municipio de Guachucal, los valores promedio de RCS fueron de 1`486.386 cél/ml y 425.316 cel/ml, respectivamente. En este punto conviene formular una precisión importante, en cuanto al método utilizado para el análisis, ya que en el presente trabajo la medición fue hecha individualmente, vaca por vaca, previa realización del CMT, a diferencia de el procedimiento de los citados autores que fue en tanques donde se mezclaba la leche de animales sanos y enfermos.

A nivel nacional Cotrino⁷⁰, reporta un RCS de 431.711 cél/ml para la Sabana de Bogotá, los valles de Ubaté y Chiquinquirá, mientras que Calderón *et al*⁷¹, indica un RCS de 383.300 cél/ml para la misma región. Así mismo Cerón *et al*⁷², en dos fincas del departamento de Antioquia, determinó un promedio de RCS individual de 205.020 cél/ml correspondiente al ordeño de la tarde.

En síntesis, el valor promedio de este rasgo, estimado en esta investigación permite establecer el RCS que presentan las mejores hembras Holstein bajo las condiciones del distrito lechero de Pasto y en ausencia de infecciones intramamarias.

6.2 INFLUENCIA DE LA LACTANCIA EN EL VALOR DEL RCS

Al analizar la variación del RCS de las 71 hembras del distrito lechero de Pasto, con respecto al numero de lactancias (Figura 14) se puede apreciar que la edad es un factor que influye en el aumento del RCS, al respecto Acevedo⁷³, indica que vacas de edad avanzada tienden a elevar los recuentos, por efecto de mayor tiempo de exposición a infecciones intramamarias.

⁶⁸ BENAVIDES, W y PITO, H. Op. cit., p. 70.

⁶⁹ CADENA, E; GALVIS, G y ARCINIEGAS, W. Identificación de agentes causales de mastitis subclínica y su relación con las condiciones de ordeño, en hatos lecheros del municipio de Guachucal, Nariño, entre los meses de enero y marzo de 2007. San Juan de Pasto, 2009., p. 81. Trabajo de grado (Especialista en salud y Producción sostenible del Hato Lechero). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

⁷⁰ COTRINO, V. Impacto Económico de la Mastitis Bovina, citado por *Ibid.*, p. 50.

⁷¹ CALDERÓN, A; DONADO, P; BOTERO, J y GARCÍA, G. Determinación del recuento de las células somáticas en fincas elites en la producción de leche en dos microrregiones del trópico alto colombiano, citados por *Ibid.*, p. 51.

⁷² CERÓN, M; AGUDELO, E y MALDONADO, J. Op. cit., p. 479.

⁷³ ACEVEDO, V. M., Op. cit., p. 4.

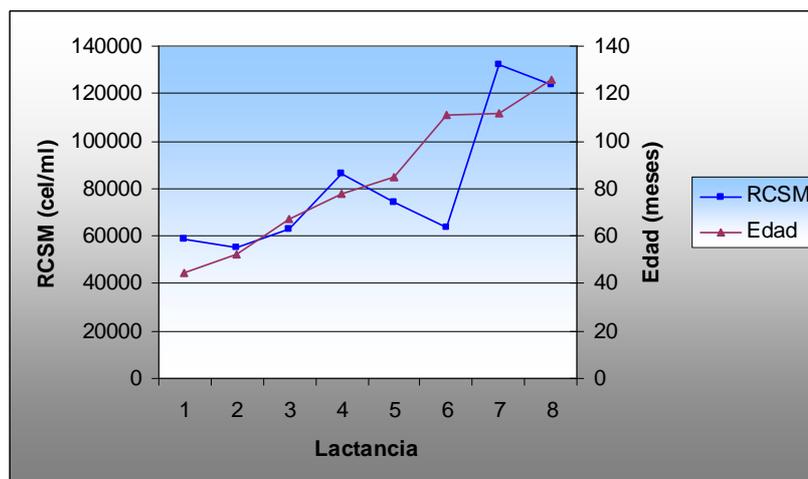


Figura 14. Variación del RCS a través de la edad y número de lactancia.

Así mismo Fernández⁷⁴, afirma que el RCS se incrementa conforme aumentan las lactancias, es decir, a mayor edad de la vaca se espera un mayor RCS.

En el anexo B, se detalla el RCS, LogRCS, lactancia y edad de cada una de las 71 hembras muestreadas en el distrito lechero de Pasto.

6.3 VALORACION GENÉTICA DEL RCS EN EL TRÓPICO ALTO DE NARIÑO

Para efectuar la valoración genética del RCS del Trópico Alto de Nariño, la información obtenida del RCS de los 71 animales en el distrito lechero de Pasto, se incorporó a la base de datos general que contiene registro en el pedigrí de 11696 animales Holstein, y las hembras con registro de RCS distribuidas en distritos de Pasto, Pupiales y Guachucal. Con toda esta información se estimó la heredabilidad y las correlaciones del RCS. Los valores de PTA para la característica se expresaron como STA.

6.3.1 Heredabilidad del RCS. La heredabilidad del RCS obtenida en este estudio fue de 0.14 ± 0.09 , lo que indica que el 14% del comportamiento de este rasgo en el Trópico Alto de Nariño se atribuye al efecto aditivo de los genes. Según la escala reportada por Wattiaux⁷⁵, este valor se considera moderado y permite seleccionar animales que sean más resistentes a la presencia de mastitis, aunque genéticamente los resultados se esperan a mediano y largo plazo, por efecto del intervalo generacional de los bovinos para leche.

⁷⁴ FERNANDEZ, Perea. Op. cit., p. 5.

⁷⁵ WATTIAUX, Michel A. Principios de selección. Op. cit., p. 2.

La heredabilidad, para esta investigación se encuentra dentro de los rangos indicados en Estados Unidos por varios autores; entre ellos Boettcher *et al*⁷⁶, quienes encontraron un promedio de 0.11; mientras que Rupp y Boichard⁷⁷, registran un valor de 0.17 y Shook and Schutz⁷⁸, señalan una cifra de 0.10.

6.3.2 Correlación entre producción y RCS. La correlación genética entre producción de leche y RCS fue de 0.046 ± 0.04 , su cercanía a cero sugiere que bajos RCS no inciden en el incremento o disminución de la producción láctea. Esta cifra es similar a las reportadas por Koivula *et al*⁷⁹, en Finlandia, donde se demostró que la correlación genética entre los rasgos producción y RCS son positivos en la primera lactancia (0.17) y cercanos a cero (0.08) para la segunda lactancia. El mismo autor afirma también que en lactancias posteriores, la selección para RCS más bajos no se traduce necesariamente en una menor productividad y al mismo tiempo, el RCS puede ser utilizado como una herramienta indirecta para seleccionar animales con resistencia a mastitis.

En Estados Unidos, el estudio realizado por Schutz *et al*⁸⁰, presenta un valor positivo equivalente a 0.06 en la tercera lactancia. Sin embargo en el estudio de Boettcher *et al*⁸¹, se indican valores mas altos, que van desde 0.05 hasta 0.26 y al respecto afirman que este valor tiende a ser positivo para la primera lactancia y declina en lactancias posteriores. Además, señalan que aunque las correlaciones genéticas entre estos rasgos son pequeñas, son positivas y por lo tanto la intensidad de selección para producción deben ser atenuadas para dar lugar al RCS en los programas de selección, por considerarse económicamente justificable.

Las condiciones del Trópico Alto de Nariño, se determinó que la correlación genética entre RCS y producción de leche es de 0.046 ± 0.04 , indicando que RCS bajos no inciden en la disminución de la producción de leche en ésta región.

⁷⁶ BOETTCHER, P; HANSEN, L; VanRADEN, P and ERNEST, C. Op. Cit., p.1029.

⁷⁷ RUPP, R and BOICHARD, D. Op. cit., p. 2206.

⁷⁸ SHOOK, E. y SCHUTZ, M. Op. Cit., p. 648.

⁷⁹ KOIVULA, E; MANTYSAARI, E; NEGUSSIE, E and SERENIUS, T. genetic and fenotipic relationships among milk yield and somatic cell count before and after clinical mastitis. En: Journal Dairy Science 2005. Vol., 88. 827-833. p.p.

⁸⁰ SCHUTZ, M; HANSEN, L; STEUERNAGEL, G; RENEAU, J and KUCK, A. Genetic Parameters for Somatic Cells, Protein, and Fat in Milk of Holsteins. Journal Dairy Science 1990. Vol., 73. 434-502 p.p.

⁸¹ BOETTCHER, P; HANSEN, L; VanRADEN, P and ERNEST, C. Op. Cit., p.1030.

6.3.3 Habilidad de Transmisión Estandarizada (STA_RCS)

Tabla 10. Habilidad de transmisión estandarizada del RCS (STA_RCS) para la raza Holstein en el Trópico Alto de Nariño.

Índice	Media	Desv. Estándar	Mínimo	Máximo
STA_RCS	0.0033	0.013	-0.11	0.12

En este trabajo investigativo, pionero de la evaluación genética del RCS, se obtuvo resultados para toda la población que posee algún grado de parentesco con los individuos que presentan valor de RCS, ya que el modelo incluye la información del pedigrí. De esta forma se estimó una valoración genética para el Trópico Alto de Nariño, que para efectos de ésta investigación se expresó mediante el prototipo habilidad de transmisión estandarizada (STA, por sus siglas en inglés), presentando un rango de -0.11 a 0.12, como se indica en la tabla 10.

El índice de STA presenta valores entre -2.0 a 2.0 y es usada por la Asociación Holstein Americana y otras asociaciones. El cálculo de éste índice se obtuvo aplicando la siguiente fórmula referenciada por Shook and Shutz⁸²:

$$STA = \frac{PTA \text{ RCS} - \text{Base}}{SD \text{ de RCS}}$$

De los resultados de STA_RCS, se identificó un grupo de 59 animales pertenecientes al Trópico Alto de Nariño (Anexo C) que presentan valores entre -0.012 a -0.11, es decir, estas vacas transmitirán RCS menores a su prole reduciendo el LogRCS con respecto a la media poblacional y si además se apoya con un buen programa de apareamientos, escogiendo toros con bajos PTA de RCS, se podrá lograr una disminución de la incidencia de mastitis en los hatos.

Los valores de STA_RCS estimados para el Trópico Alto de Nariño presentan un rango estrecho, porque la valoración genética en esta región fue realizada en una población pequeña, a diferencia de las evaluaciones genéticas que se hace a los toros a través de sus hijas en distintos hatos y con un gran número de animales, en donde el rango es más amplio como lo reportan Boettcher *et al*⁸³, en Estados Unidos quienes en un estudio obtuvieron un rango de STA_PTA entre -0.5 a 0.56. Las cifras señaladas de STA_RCS en esta investigación no pueden compararse con experimentos nacionales, ya que se carece de referentes que permitan establecer la existencia de similitudes y/o diferencias, por lo tanto la evaluación genética del rasgo RCS tienen valor informativo para la región y el país.

⁸² SHOOK, E. y SCHUTZ, M. Op. Cit., p. 648.

⁸⁰ BOETTCHER, P; HANSEN, L; VanRADEN, P and ERNEST, C. Op. Cit., p.1031.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- En las 71 hembras Holstein del distrito lechero de Pasto, se determinó un promedio de RCS individual de 76.711 cél/ml, lo que indica un buen estado sanitario de la ubre en las vacas previamente seleccionadas por su desempeño productivo, reproductivo y conformación anatómica.
- La evaluación genética del RCS, es un hecho sin precedentes en la región, por lo tanto fue incorporada como característica importante al momento de establecer el índice de producción en Nariño (IPN), con el fin de conformar un núcleo de selección genética y de apareamientos dirigidos, para mejorar genéticamente las características relacionadas con la salud de la ubre, calidad de la leche y permanencia productiva de las vacas en los hatos de la región.
- La heredabilidad moderada del RCS estimada, indica que este rasgo puede utilizarse como criterio de selección genética en el Trópico Alto de Nariño para mejorar la resistencia a mastitis.
- El valor obtenido de la correlación genética entre RCS y producción de leche, indica que valores de RCS bajos, no afectan la producción de leche.
- Los resultados de STA_RCS constituyen una herramienta idónea para la orientación de los programas de apareamiento en la raza Holstein del Trópico Alto de Nariño, en función de mejorar la calidad higiénica de la leche y la sanidad de la ubre en el hato.
- La incorporación del RCS en los programas genéticos, no reducirá totalmente la mastitis, por lo tanto, las medidas higiénicas y las prácticas apropiadas en el ordeño son fundamentales como método de prevención a la mastitis.

7.2 RECOMENDACIONES

- Ampliar este estudio, incluyendo un mayor número de muestras por animal, con el fin de conocer el comportamiento del RCS durante la lactancia.
- Monitorear la presencia de mastitis subclínica, mediante el RCS, con el fin de llevar un registro que permita identificar los animales con menor incidencia a esta enfermedad en el hato.
- Divulgar los resultados obtenidos en esta investigación y la importancia de realizar RCS, para identificar vacas con mejores características sanitarias de la ubre y obtener leche de mayor calidad higiénica, permitiendo a los productores ser más competitivos y sostenibles en el mercado.
- Fortalecer las prácticas de manejo en el hato, para controlar los factores ambientales que inciden en gran medida al incremento del RCS.
- La dirección de los apareamientos, debe enfocarse a mejorar la calidad sanitaria de la leche, seleccionando toros con PTA's bajos para RCS y complementarse con un adecuado manejo animal y balance nutricional.
- Incorporar la característica de RCS, en el índice de selección, con el fin de aumentar la eficiencia económica en la producción láctea, convirtiéndose en una herramienta eficiente para mejorar la salud de la ubre en los hatos del Trópico Alto de Nariño.

ANEXO A. Análisis de varianza de los efectos fijos del modelo animal

FV	CMC	FC	P > f
Lacta	0.78475286	28.23	0.0113*
HYS	0.39528206	14.22	0.0280*
Edad	1.11826491	40.22	0.0079*

* Diferencias estadísticas significativas

** Diferencias estadísticas altamente significativas

ANEXO B. Promedio del RCS individual e información adicional de las hembras Holstein muestreadas en el distrito lechero de Pasto.

ANIMAL	FINCA	Nº PARTOS	EDAD (meses)	RCS (cel/ml)	LOGRCS
034	00021	1	38	39378	1,65548
046	00040	1	37	33839	1,302851
013	00020	1	57	83333	2,73696
033	00021	1	59	56996	2,188933
032	00021	1	53	60404	2,272716
037	00033	1	36	67498	2,432927
071	00301	1	34	70897	2,503796
007	00001	2	47	40136	1,682987
060	00004	2	46	53771	2,104914
067	00004	2	46	49594	1,988252
049	00009	2	60	35027	1,48656
052	00009	2	50	40891	1,709873
009	00018	2	52	35665	1,512601
011	00018	2	49	49748	1,99271
008	00018	2	48	33122	1,316007
018	00023	2	53	82237	2,71786
042	00040	2	59	101645	3,023539
041	00040	2	59	83449	2,738975
025	00043	2	59	55759	2,242267
053	00009	2	49	40439	1,693819
061	00004	3	65	65669	2,393295
063	00004	3	66	61806	2,30583
059	00004	3	62	103296	3,046784
066	00004	3	66	59436	2,249409
031	00007	3	69	61896	2,307918
047	00009	3	85	46116	1,883339
051	00009	3	65	37686	1,59212
029	00019	3	60	130841	3,38782
021	00023	3	76	77538	2,632975
016	00023	3	72	53697	2,102913
043	00040	3	69	37820	1,597221
044	00040	3	57	32806	1,392054
024	00043	3	50	59142	2,242267
026	00043	3	65	37948	1,602096
070	00301	3	78	75935	2,602846
064	00004	4	80	34122	1,448774

ANIMAL	FINCA	Nº PARTOS	EDAD (meses)	RCS (cel/ml)	LOGRCS
062	00004	4	74	42105	1,752063
065	00004	4	85	104592	3,064779
050	00009	4	75	33894	1,208842
010	00018	4	74	112895	3,174982
030	00019	4	89	74458	2,574508
014	00020	4	77	80364	2,684621
015	00023	4	71	207510	4,053184
005	00001	5	92	207310	4,619697
002	00001	5	82	46508	1,895551
048	00009	5	87	127597	3,3516
012	00018	5	89	36593	1,089118
020	00023	5	77	91208	2,867232
039	00033	5	83	114823	3,199418
068	00045	5	84	42773	1,774789
054	00038	5	85	38862	1,207268
055	00038	5	80	52136	2,060366
057	00038	5	79	52692	2,075656
058	00038	5	91	47018	1,9113
035	00021	5	86	34069	1,446532
006	00001	6	107	50805	2,023042
004	00001	6	99	52750	2,077257
023	00043	6	100	66418	2,409646
027	00043	6	123	33096	1,314801
056	00038	6	110	78508	2,650921
017	00023	6	108	67191	2,42634
036	00021	6	121	72008	2,526229
040	00033	6	117	71669	2,519431
069	00045	6	112	77761	2,637119
001	00001	7	104	229573	4,19895
003	00001	7	111	78604	2,652675
038	00033	7	121	89069	2,833003
022	00023	8	127	55330	2,146134
019	00023	8	125	106409	3,089627
028	00019	8	126	134206	3,424449
045	00040	8	127	198076	3,986054

ANEXO C. Lista de los animales pertenecientes al Trópico Alto de Nariño, con bajos STA_RCS.

NOMBRE	ID_MEG	FINCA	STA_RCS
BRITANIA	0001300112	00013	-0,0123
MARSIA	0003400018	00034	-0,0123
NATACHA	0021600069	00216	-0,0123
ADRIANA	0001300017	00013	-0,0128
BASTILLA	0001300106	00013	-0,0128
BANDERILLA	0001300131	00013	-0,0128
DOLLY	0001300332	00013	-0,0128
TORONJA	0001300333	00013	-0,0128
MARIA	0001300343	00013	-0,0128
TALENTOSA	0001300347	00013	-0,0128
VILMA	0001300471	00013	-0,0128
CALENIA	0001900005	00019	-0,0128
CANOSA	0001900026	00019	-0,0128
CALENIA	0001900097	00019	-0,0128
GAVIOTA	0002000038	00020	-0,0128
FLOR	0002900016	00029	-0,0128
MARINELA	0003300018	00033	-0,0128
SAMANTA	0003300026	00033	-0,0128
PAMELA	0003400017	00034	-0,0128
VELETA	0003400041	00034	-0,0128
SILVANA	0004000009	00040	-0,0128
MINERVA	0004000022	00040	-0,0128
FUFURUFA	0004000026	00040	-0,0128
ZULEMA	0004000027	00040	-0,0128
VIAJERA	0004000034	00040	-0,0128
MIRLA	0006800059	00068	-0,0128
TERESA	0006800061	00068	-0,0128
ANDINA	0010200002	00102	-0,0128
IMBABURENIA	0010200048	00102	-0,0128
MENTA	0016800143	00168	-0,0128
ESPINA	0019400066	00194	-0,0128
FACUNDA	0019400073	00194	-0,0128
FERCHA	0019400076	00194	-0,0128
GAITA	0019400084	00194	-0,0128
JUDY	0019900018	00199	-0,0128
CAMPESINA	0021600019	00216	-0,0128
DINA	0021600112	00216	-0,0128
ALPINA	0022700057	00227	-0,0128

NOMBRE	ID_MEG	FINCA	STA_RCS
PEQUENIA	0023800066	00238	-0,0128
NORA 154	0026100040	00261	-0,0128
NADIR	0000100144	00001	-0,0133
KRITSIA	0000100089	00001	-0,0138
LINDA	0003300000	00033	-0,0148
NICOLASA	0003300020	00033	-0,0148
CARLINA	0004000064	00040	-0,0148
GITANA	0000400002	00004	-0,0163
BONITA	0000400061	00004	-0,0168
PANCHA	0000900005	00009	-0,0228
RONDA	0000900014	00009	-0,0228
CHAVELA	0000900016	00009	-0,0228
ARIANA	0000100033	00001	-0,0258
MARAVILLA	0003300017	00033	-0,0263
LOURDES	0000100035	00001	-0,0288
MELBA	0002300007	00023	-0,0408
KAREN	0000100088	00001	-0,0673
CLAUSEN	0004000024	00040	-0,0698
MAJESTAD	0000400006	00004	-0,0953
SIRENA	0000900010	00009	-0,1028
GRISELDA	0000100060	00001	-0,1153

BIBLOGRAFÍA

- ACEVEDO, V. M. Mastitis: afecta la producción y la calidad de la leche. Intervet Ecuador S.A. 2005. Disponible en http://www.intervet.com.ec/Binaries/63_74032.doc. Consulta: [02-10-2005].
- BENAVIDES, W y PITO, H. Utilización del recuento de células somáticas para determinar la calidad de la leche en plantas procesadoras y/o enfriadoras del Municipio de Pasto. San Juan de Pasto, 2002., p.49. Trabajo de Grado (Zootecnista). Universidad De Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia.
- BOETTCHER, P; HANSEN, L; VanRADEN, P and ERNEST, C. Genetic evaluation of Holstein bulls for somatic cell in milk of daughters. En: Journal Dairy Science 1992. Vol., 75. 1027-1037 p.p.
- CABRERA, M; VILLA, J; MURILLO, G y SUÁREZ L. Como obtener leche de buena calidad. En : Centro de Investigación de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA TURIPANÁ. [En línea], Córdoba 2005. Disponible en internet: < <http://www.turipana.org.co/leche.htm>>.
- CADENA, E; GALVIS, G y ARCINIEGAS, W. Identificación de agentes causales de mastitis subclínica y su relación con las condiciones de ordeño, en hatos lecheros del municipio de Guachucal, Nariño, entre los meses de enero y marzo de 2007. San Juan de Pasto, 2009., p. 81. Trabajo de grado (Especialista en salud y Producción sostenible del Hato Lechero). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.
- CALDERÓN Alfonso y RODRÍGUEZ Virginia. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Antioquia. Vol. 21, Nov. 2008; p. 583.
- CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD INTERNACIONAL (CIECI). Promoción y bases para el desarrollo social y Competitivo de la cadena láctea en el Departamento de Nariño: caracterización de la cadena láctea en el departamento de Nariño. Pontificia Universidad Javeriana. Cali, octubre de 2003. p. 36.

- CERÓN, M; AGUDELO, E y MALDONADO, J. Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba CMT en dos fincas lecheras del departamento de Antioquia (Colombia). En : Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Antioquia. Vol. 20, No. 4, Oct/Dic. 2007; 472 – 483. p.p.
- COLOMBIA ASOHOLSTEIN. Disponible en Internet: < www.holstein.com.co>
- COLOMBIA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, resolución número 000012 del 2007 “definición de la calidad estándar de la leche”. 12 de enero 2007.
- _____, resolución número 000012 del 2007 “regiones lecheras en Colombia”. 12 de enero 2007.
- COMERÓN, E; ROMERO, L; ARONNA, M; CHARLON, V; QUAINO, O y VITULICH, C. Producción y composición química de la leche. En : publicaciones del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuario INTA Rafaela [En línea]. Argentina 2000. Disponible en internet:< www.inta.gov.ar/leche/info/documentos/.../AAPA_Sanidad.pdf >.
- COTRINO, Victor. La Calidad Higiénica y Sanitaria de la Leche Paga. Laboratorio Medico Veterinario [Online], 2004 [Citada 24 Enero 2009]. Disponible en internet: <[www.http://lmvltada.com](http://lmvltada.com)>.
- DE La VEGA, A. Leche de calidad higiénica sanitaria adecuada. En: Publicaciones Facultad de Agronomía y Zootecnia/ Universidad Nacional de Tucumán UNT [En línea], Argentina 2001. Disponible en internet: <www.faz.unt.edu.ar>.
- DECHOW, C; NORMAN, H and PELENSKY, C. Short Communication: Variance Estimates Among Herds Stratified by Individual Herd Heritability. En: Journal Dairy Science 2008. Vol., 91. 1648–1651 p.p.
- ERAZO, M y ZAMBRANO, G. Relación entre los genotipos de la kappa caseína, el contenido proteico total de la leche y el rendimiento en cuajada de los bovinos Holstein en el Trópico Alto de Nariño. San Juan de Pasto, 2009. 48 – 54 p.p. Trabajo de Grado (Zootecnista). Universidad De Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia.
- Evaluación de los recursos forestales mundiales. Informe Principal. 2000. Disponible en: <www.fao.org/docrep/005/y1997s/y1997s00.htm>.

- FERNANDEZ *et al.* Estudio del carácter velocidad de ordeño y recuento de células somáticas en primera lactación en la población frisona del país vasco. 2000. Producción Animal, Vol. 96, Nº 3: 270-276 p.p.
- FERNANDEZ, Perea. Valoración genética de caracteres relacionados con la sanidad de la ubre: recuento de células somáticas (I). En: Revista Frisona [En línea]. 2 Agosto 2006. [Citado 21 Febrero 2009]. Disponible en <http://www.portalechero.com/ver_items_descrip.asp?wVarItem=450>
- HERNÁNDEZ, Juan y BEDOLLA, José. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET [En línea], México. 2008, Vol. IX, N. 9. Available from internet: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090808/090904.pdf>>. ISSN 1695-7504.
- HOLMANN, F; RIVAS, L; CARULLA, J; RIVERA, B; GIRALDO, L; GUZMÁN, S; MARTÍNEZ, M; MEDINA, A y FARROW, A. producción de leche y su relación con los mercados; caso colombiano. En : SEMINARIO DE PASTOS Y FORRAJES (10^o.: 2006: Bogotá). Memorias del X seminario de pastos y forrajes .Bogotá: 2006. p. 149
- INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI (IGAC). COLOMBIA.
- KOIVULA, E; MANTYSAARI, E; NEGUSSIE, E and SERENIUS, T. genetic and fenotipic relationships hmong milk yield and somatic cell count befote and alter clinical mastitis. En: Journal Dairy Science 2005. Vol., 88. 827-833. p.p.
- La mastitis causa grandes pérdidas económicas [en línea]. Arnhem. Veepro dairy management Vol. 63, Nov. 2006 [citada 7 octubre 2008]. Disponible en internet: <www.veepro.nl>
- MONARDES, Humberto y BARRIA, Nelson. Artículos técnicos. Recuento de Células Somáticas y Mastitis. Rev. Agrovvetmarket. [En línea], Marzo 2008. Disponible en internet: <<http://www.agrovvetmarket.com/TechnicalArticlesUI.aspx>>.
- MONTALDO, H y BARRÍA, N. Mejoramiento Genético de Animales. En : Revista Ciencia al día. [En línea]. Sept. 1998. Vol. 1, No 2. [Citado 7 marzo 2009]. Disponible en <http://www.ciencia.cl/CienciaAlDia/volumen1/numero2/articulos/articulo3.html>
- MORO, J y RUIZ, F. mejoramiento genético de características de conformación en ganado Holstein. En : Vet. Mex., Vol. 29, No 4, 1998; p.386.
- MRODE, R and THOMPSON, R. Linear models for the prediction of animal breeding values. Second edition. 2005. p. 344.

- NOVOA, C. Consideraciones sobre la calidad de la Leche. En : Publicaciones Tecnolácteos/Universidad Nacional de Colombia UNAL. [En línea], Bogotá 2003. Disponible en internet: <www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/home/.../carlos-novoa.pdf>.
- OBSERVATORIO AGROCADENAS. Segundo informe de coyunturas de leche. [online] 2006. Disponible en internet: www.agrocadenas.gov.co.
- QUINTANA, Alberto. Las Células Somáticas en la calidad de la leche. Revista Virbac al día [Online]. 2006, Vol. 8, N° 10. Disponible en internet: <<http://www.webveterinaria.com/virbac/news8/bovinos.pdf>>.
- Recuento de Células Somáticas y Mastitis [En línea]. Lima (Peru): Agrovvet Market S.A, Marzo 2008 [citado 7 Febrero 2009]. Disponible en internet:<<http://www.agrovvetmarket.com/TechnicalArticlesUI.aspx?.language=1&article=37>>.
- REQUENA, Francisco, REQUENA Fernando y AGÜERA, Buendía Estrella. Aspectos genéticos de la mastitis en el bovino frisón. En: Revista Electrónica de Veterinaria REDVET® [Online]. Dic, 2003 – [Citado 15 Ago, 2008]. Available from internet: <[www. Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.ComunidadVirtualVeterinaria.org)>. ISSN 16957504.
- RUEGG, Pamela. Secreción de Leche y Estándares de Calidad. [En línea]. Universidad de Wisconsin, Madison. 2001 [Citada 7 Febrero 2009]. Disponible en Internet: <<http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/milksecretionandqualitys>>.
- RUIZ, Hedilberto. Interpretación de la cuenta de células somáticas en la leche de bovinos. En: Congreso Nacional de Buiatría XXVI (2002 Acapulco). Méx., p. 4.
- RUPP, R and BOICHARD, D. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, Production, Udder Type Traits, and Milking Ease in First Lactation Holsteins. En : Journal Dairy Science 1999 . Vol., 82:2198. p. 2204.
- SCHUTZ, M; HANSEN, L; STEUERNAGEL, G; RENEAU, J and KUCK, A.Genetic Parameters for Somatic Cells, Protein,and Fat in Milk of Holsteins. Journal Dairy Science 1990. Vol., 73. 434-502 p.p.
- SHOOK, G. y SCHUTZ, M. Selection on Somatic Cell Score to Improve Resistance to Mastitis in the United States. En: Journal Dairy Science 1994. Vol., 77:648_658. p.p.
- SHOOK, G. y WIGGANS, G. A Lactation Measure of Somatic Cell Count. En: Journal Dairy Science. 1987. Vol., 70:2666-2672 p.p.

- SISTEMA NACIONAL DE ANALISIS DE LECHE FRESCA SISLAC – Recuento De Células Somáticas Y Detección De Inhibidores En Leche. Técnica de referencia – Norma ISO 13366-1. Técnica recuento de células somáticas en leche. Convenio SENA – CNLM. 2006.
- SOLARTE, C; ROSERO, C; ERASO, M y ZAMBRANO, G. En : Caracterización y evaluación genética de la población bovina lechera del trópico alto de Nariño para la conformación de núcleos de selección / Universidad de Nariño No. 2. San Juan de Pasto, 2009. 59 p.
- WATTIAUX, Michel. Habilidad de Transmisión Predicha y Confiabilidad. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera [En línea], 2009. [Citado 30 Agosto 2009]. Disponible en <<http://babcock.cals.wisc.edu/?q=es/node/183>>.
- _____, Principios de selección. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera [En línea], 2009. [Citado 24 Agosto 2009]. Disponible en <<http://babcock.cals.wisc.edu/?q=es/node/183>>
- WELPER, R and FREEMAN, A. Genetic Parameters for Yield Traits of Holsteins. En: Journal Dairy Science 1992. Vol., 75. 1342-1348 p.p.