



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“DETECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS Y COMPOSICIÓN
FISICOQUÍMICA DE LA LECHE DE PROVEEDORES DE
UNA QUESERÍA ARTESANAL”

**ARTÍCULO ESPECIALIZADO PARA PUBLICAR EN
REVISTA INDIZADA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA
PRESENTA:

CINDY MICHELLE HERNÁNDEZ GARCÍA

COMITÉ DE ASESORES

Dr. en C.A.R.N. Fernando Prospero Bernal

Dr. en C.A.R.N. Felipe López González

Ph. Dr. Carlos Manuel Arriaga Jordán

Toluca, Estado de México. Septiembre 2018.



A mis queridos padres por su apoyo incondicional, fe, comprensión, amor y tolerancia, por todas esas veces que me ayudaron a salir adelante en los momentos difíciles, mis pilares de la vida, por su amor.

A mi abuela, por ser mi ejemplo ha seguir y siempre amarme y cuidarme como una hija mas, por incitarme a seguir mis sueños sin importar las dificultades, a pesar de que no estuviste presente en esta parte de mi vida, sé que siempre seguiste mis pasos desde el cielo.

A mi abuelo, por mostrarme una forma diferente de amor, por motivarme a ser preceverante, gracias por cuidarme y ayudarme a ser la mujer profesionalista que soy hoy.

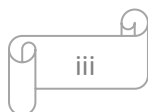
A esa persona especial que de manera indirecta siempre estuvo al pendiente de mi, escuchándome cuando tenia momento difíciles y alentándome a confiar en que, si podía, por su paciencia y compañía.

A mis asesores por compartir sus concocimientos, agradeciendo su gran paciencia, muy en especial a Carlos, Felipe y Fernando por que a través de ustedes logre apasionarme y le encuentre un sentido especial a esta carrera.

Gracias a todos lo que formaron parte esencial en mi vida sin ustedes no lo hubiera logrado.

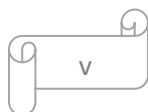
DEDICATORIA

Para todas las personas que contribuyeron a este artículo Científico, en especial a mis asesores por siempre estar presente, al Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales que me abrieron las puertas en todo momento, a mis profesores que me guiaron para ser médico veterinario zootecnista y amigos que formaron parte de mi vida durante esto 5 años de carrera, a mi casa de estudios la Universidad Autónoma del Estado de México y sobre todo a mi amada familia por su apoyo y amor incondicional.



	Página
INTRODUCCIÓN	1
CAP. I REVISIÓN DE LITERATURA	3
1.1. PRODUCCIÓN DE LECHE EN MÉXICO Y EN EL MUNDO	4
1.1.1. Estado de México	5
1.2. PRODUCCIÓN DE LECHE EN PEQUEÑA ESCALA	6
1.3. ACULCO COMO PRODUCTOR LECHERO	7
1.4. CÉLULAS SOMÁTICAS	8
1.5. MASTITIS	8
1.6. SALUD PÚBLICA	9
1.7. B-LACTÁMICOS	10
1.7.1. Penicilinas	10
1.7.2. Cefalosporinas	12
1.8. SUSPENSIÓN DEL FÁRMACO Y DESCARTE DE LECHE	12
1.9. COMPOSICIÓN DE LA LECHE	15
1.10 NMX-F -700-COFOCALEC -2012	16
1.11. DELVOTEST SP	18
CAP. II JUSTIFICACIÓN	20
CAP III OBJETIVOS	23
3.1. OBJETIVO GENERAL	24

CAP IV MATERIAL Y MÉTODOS	25
4.1. MATERIAL	26
4.2. MÉTODOS	26
4.2.1. Métodos Estadísticos	28
CAP V LÍMITE DE ESPACIO Y TIEMPO	29
CAP VI CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	31
CAP VII RESULTADOS	33
CONCLUSIONES	44
REFERENCIAS	46
GLOSARIO	50
ANEXO	51



ÍNDICE

	Página
Gráfica 1: PRINCIPALES PAISES PRODUCTORES DE LECHE	4
Gráfica 2: PRINCIPALES PRODUCTORES DE LECHE EN MÉXICO	5
Gráfica 3: PRINCIPALES PRODUCTORES DE LECHE EN EL ESTADO DE MÉXICO	6
Gráfica 4: PRODUCCIÓN GANADERA EN TONELADAS DEL 2016	7

	Página
Cuadro 1: SUSPENSIÓN Y DESCARTE DE LECHE DE PENICILINAS	13
Cuadro 2: SUSPENSIÓN Y DESCARTE DE LECHE DE CEFALOSPORINAS	13
Cuadro 3: RETIRO DE LECHE EN TRATAMIENTOS CON BETALÁCTAMICOS	14
Cuadro 4: COMPOSICIÓN DE LA LECHE	16
Cuadro 5: ESPECIFICACIONES EN GRASA EN LECHE CRUDA DE VACA	16
Cuadro 6: ESPECIFICACIONES EN PROTEÍNA EN LECHE CRUDA DE VACA	17
Cuadro 7: ESPECIFICACIONES EN LACTOSA EN LECHE CRUDA DE VACA	17
Cuadro 8: ESPECIFICACIONES EN SÓLIDOS EN LECHE CRUDA DE VACA	17
Cuadro 9: ESPECIFICACIONES EN CÉLULAS SOMÁTICAS EN LECHE CRUDA DE VACA	18
Cuadro 10: TABLA DE SENSIBILIDAD DELVOTEST SP NT	19

	Página
Figura 1: LECTURA DEL DELVOTEST SP NT.	18
Figura 2: RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	51
Figura 3: RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	51
Figura 4: ANÁLISIS DE MUESTRAS	51
Figura 5: ANÁLISIS DE MUESTRAS	51
Figura 6: ANÁLISIS DE MUESTRAS	51
Figura 7: REACTIVO DELVOTEST SP NT.	52
Figura 8: REACTIVO DELVOTEST SP NT.	52
Figura 9: REACTIVO DELVOTEST SP NT.	52
Figura 10: DELAVAL	52
Figura 11: DELAVAL	52
Figura 12: INCUBADORA BINDER	52
Figura 13: INCUBADORA BINDER	52
Figura 14: EKOMILK BOND STARTED	53
Figura 15: EKOMILK BOND STARTED	53
Figura 16: EKOMILK BOND STARTED	53



A nivel mundial, México se encuentra en la novena posición en cuanto a la producción de leche, con un valor equivalente a 11,807.556 miles de toneladas en el año 2017. El Estado de México ocupa el séptimo lugar a nivel nacional con una producción anual de 440.268 miles de toneladas, [1] y el municipio de Aculco es el sexto lugar a nivel Estado de México con una producción anual de 17,434.520 toneladas de leche. [2] La principal fuente de ocupación en este municipio es la producción de leche, quesos y derivados fabricados de forma artesanal. [3]

En la actualidad, no existen dependencias gubernamentales que constaten mediante procedimientos de inspección, que estos productos cumplan con las normas de calidad e inocuidad alimentaria vigentes en el país, ni la forma de ordeño o tratamiento farmacológico al ganado lechero. La leche y sus productos son considerados como alimentos de alto riesgo para la salud pública por su amplio consumo. [4] Uno de los problemas que contribuye a esta situación, es el uso indiscriminado de antibióticos, pues representa un riesgo para la salud pública debido a la resistencia bacteriana ya que cada vez es más complejo encontrar tratamientos a enfermedades comunes en humanos. [5] En el caso de animales ocasiona resistencia bacteriana en *Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli*, siendo más complicado dar tratamientos efectivos contra la mastitis u otras enfermedades. [6] Además, cuando estos antibióticos se encuentran en productos de origen animal y llegan al consumo humano, pueden crear problemas de hipersensibilidad, reacciones alérgicas en humanos e incluso la muerte. [3]

Para un mejor control es indispensable contar con pruebas específicas para la detección de estos antibióticos siendo el mejor aliado los kits comerciales de cultivos celulares, entre otros, para detener los efectos negativos y tener un mejor control con los procesos de la industria láctea. [7] El principal problema en la producción de leche en pequeña escala es el amplio uso y desconocimiento de los periodos de retiro de antibióticos para el tratamiento de la mastitis; considerada la principal enfermedad de las vacas lecheras y que causa pérdidas económicas. Se considera que la mastitis produce una pérdida económica promedio del 12%, ocasionando otro tipo de problemas como alteración en la calidad de la leche, reducción de la producción diaria, contaminación y aumento al costo/litro.

Existen 3 tipos de mastitis, siendo la subclínica la más frecuente con 40% de los casos, por eso es importante el conteo de células somáticas, ya que si existe un conteo mayor de 500000 células somáticas es indicio de proceso inflamatorio. [8]

En los sistemas de producción de leche en pequeña escala, las condiciones de manejo de higiene y sanitario frecuentemente no son los adecuados, lo que contribuye al desarrollo de la mastitis, lo que lleva al productor al uso de productos antibióticos para tratar la mastitis. Sin embargo, muchas veces utilizan los productos de manera indiscriminada, lo que posteriormente ocasiona resistencia a ciertos medicamentos, sin que se lleve un control del uso de estos medicamentos.

Bajo ese contexto el presente trabajo se llevará a cabo la detección de antibióticos y su prevalencia en leche proveniente de sistemas de producción en pequeña escala utilizada para la elaboración de quesos artesanales.



CAPÍTULO 1

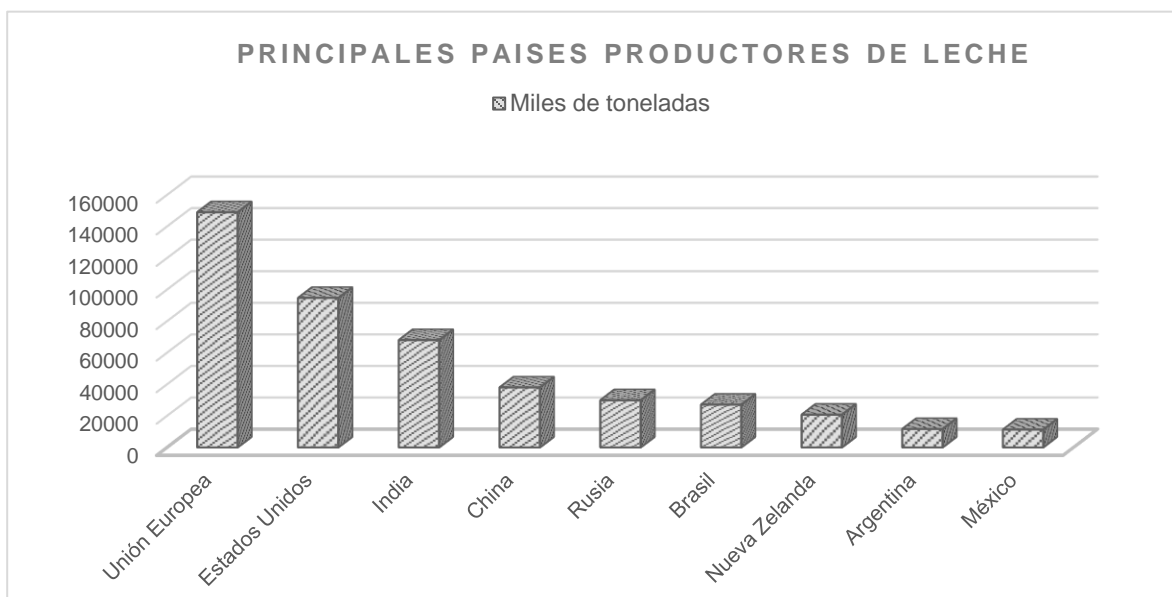
REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. PRODUCCIÓN DE LECHE EN MÉXICO Y EN EL MUNDO

El arte del ordeño se remonta a 6000 años donde utilizaron leche de vaca, cabra, oveja, yegua y camella, alimento predilecto para niños por su aporte balanceado 50% Agua, 24% Grasa, 21% Proteína y 3% minerales. [9] En la actualidad no ha cambiado la necesidad del consumo de lácteos formando parte esencial de la alimentación básica para el consumo humano, con una producción anual mundial de 769 millones de toneladas de leche fluida. [10]

La unión Europea es el mayor productor de leche de vaca a nivel mundial con 149,000 miles de toneladas, en segundo lugar se lo lleva Estados Unidos con 94,710 miles de toneladas, tercer lugar india con 68,000 miles de toneladas, cuarto lugar China con 38,000 miles de toneladas , quinto lugar Rusia con 29,890 miles de toneladas, sexto Brasil con 27,100 miles de toneladas, séptimo lugar Nueva Zelanda con 20,745 miles de toneladas, octavo lugar Argentina con 11,650 miles de toneladas, siguiendo en la novena posición México con 11,267 miles de toneladas de leche de vaca.

GRÁFICA 1: PRINCIPALES PAISES PRODUCTORES DE LECHE

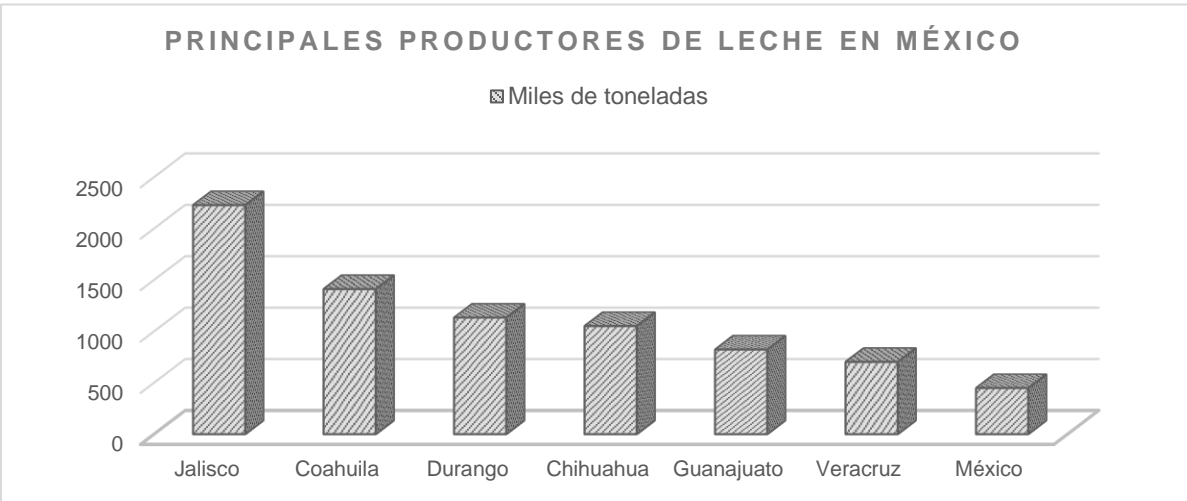


Gráfica demostrativa del porcentaje de producción de leche, de los principales 9 países a nivel mundial, excepto unión europea que contempla todos sus países, expresado en miles de toneladas de producto. "Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera." [11]

México cuenta con una producción Anual de 11,807.556 miles de toneladas de leche de vaca, siendo Jalisco el estado con mayor producción, el segundo lugar Coahuila, en tercer lugar, Durango, cuarto lugar Chihuahua, quinto lugar Guanajuato, sexto lugar Veracruz, y la séptima posición Estado de México que produce 440.268 miles de toneladas anualmente.

A pesar de que es mínima la cantidad exportada de la leche producida, se exportan 6.015 miles de toneladas con valor cercano a los cuatro millones de dólares; pero México importa grandes cantidades de leche descremada en polvo pues la producción no satisface la demanda nacional. [1]

GRÁFICA 2: PRINCIPALES ESTADOS PRODUCTORES DE LECHE EN MÉXICO



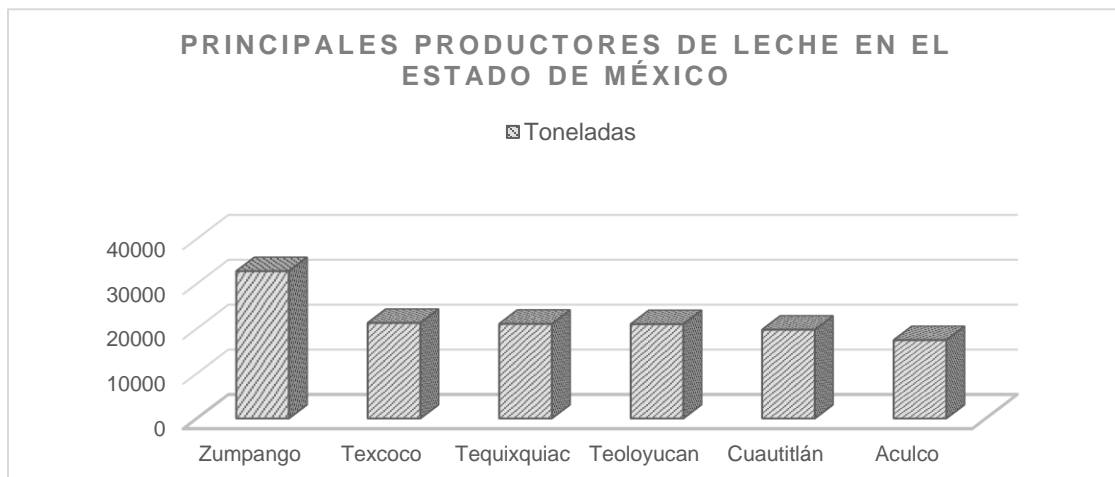
Principales 7 Estados de México, productores de leche expresado los valores en miles de litros. “Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.” [1]

1.1.1. Estado de México

El Estado de México tiene una producción anual de 440.268 miles de toneladas siendo Zumpango el principal municipio productor, segundo lugar Texcoco, tercer lugar Tequixquiac, cuarto lugar Teoloyucan, quinto lugar Cuautitlán, y sexto lugar Aculco con 1,743.452 miles de toneladas. [1-2]

La producción de leche es considerada una fuente de empleo primordial para el Noroeste del Estado de México. [2-3]

GRÁFICA 3: PRINCIPALES MUNICIPIOS PRODUCTORES DE LECHE EN EL ESTADO DE MÉXICO



Principales 6 productores de leche en el Estado de México, expresado los resultados en toneladas de leche. "Secretaría de Desarrollo Agropecuario." [2]

1.2. PRODUCCIÓN DE LECHE EN PEQUEÑA ESCALA

En México el sector rural ha disminuido por el paso de los años, en 1950 el 57% de la población pertenecía al sector agropecuario, pero en el 2010 disminuyó hasta llegar al 22% de la población, siendo la mayoría de la producción para autoconsumo. [12]

Los sistemas de producción de leche en pequeña escala se caracterizan por fincas de pequeñas extensiones con hatos entre 3 a 40 vacas pudiendo contar o no con parcelas propias. [13] En la actualidad esta práctica es relevante ya que contribuye a 37% de la producción a nivel nacional. [14]

La agroindustria es una actividad económica que comprende la producción, transformación y comercialización de productos agropecuarios para la satisfacción

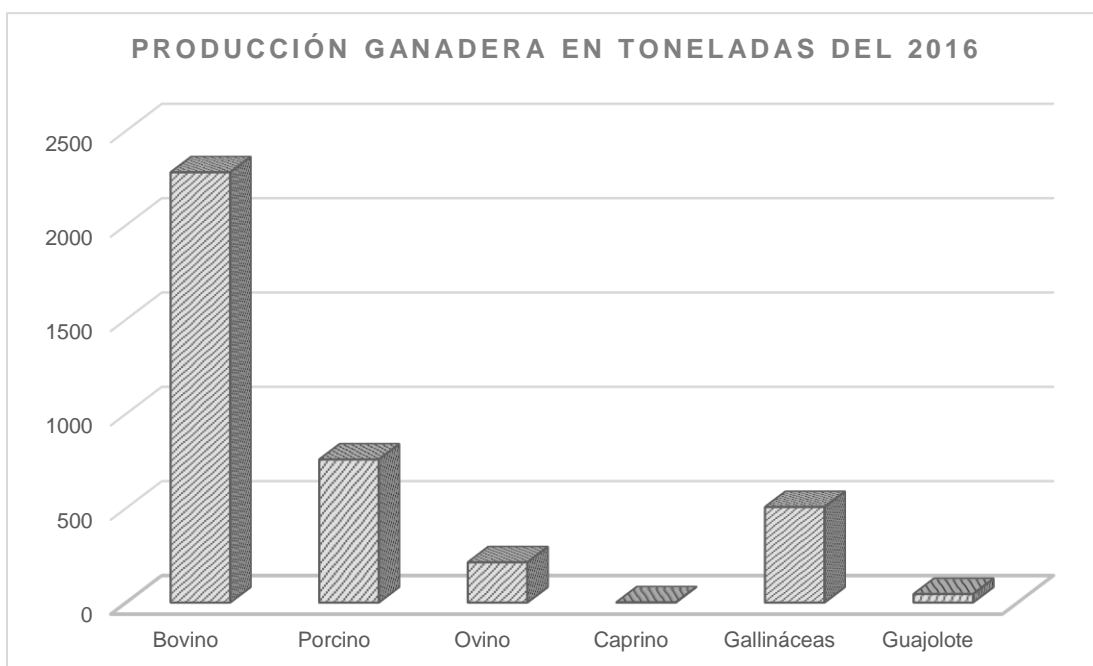
de necesidades alimentarias, manejando los recursos rurales utilizando hatos lecheros de estabulación y semiestabulación. [15]

1.3. ACULCO COMO PRODUCTOR LECHERO

La principal actividad primaria en el municipio de Aculco es la producción de leche de vaca en pequeña escala y la elaboración de productos de origen animal como chorizo, queso, crema, yogurt como actividades secundarias de gran importancia. [16] La principal producción ganadera del municipio es la producción de leche de vaca. [17]

Las queserías desempeñan un papel muy importante para la vida económica de las familias, subiendo la plusvalía de la leche. Existen alrededor de 60 talleres productores de quesos artesanales donde se calcula un uso al día de 150 toneladas de leche, y una producción semanal de 43.209 toneladas de queso. [17-18]

GRÁFICA 4: PRODUCCIÓN GANADERA DE ANIMALES DOMÉSTICOS EN TONELADAS DEL 2016



Producción ganadera de animales domésticos, utilizados para la transformación de productos, expresado los resultados en toneladas de peso. "Aculco y Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera." [2-17]

1.4. CÉLULAS SOMÁTICAS

Las células somáticas que se encuentran en la leche son consideradas células epiteliales en descamación, formadas por 2% de tejidos epitelial y 98% de leucocitos. Su conteo en leche es un parámetro para identificar enfermedades en la ubre (mastitis), teniendo mayor incidencia en épocas de lluvias o por prácticas de mala higiene. [8] La norma que regula la cantidad de células somáticas permitida en leche cruda en México tiene un límite de 400.000 células somáticas /mL. Cuando hay una infección en la ubre existe una descamación aproximada 800.000 células somáticas /mL. [8-19]

Existe una estrecha relación entre la mastitis con el conteo de células somáticas, la mastitis es considerada la principal causa de pérdidas económicas en la lechería con un promedio anual del 12%, ocasionando otro tipo de problemas como, alteración de la leche, reducción de la producción diaria, contaminación y aumento al costo de producción. Existen 3 tipos de mastitis siendo la subclínica la más frecuente con un 40% de los casos. En el conteo de células somáticas, si existen más de 500.000 células somáticas /mL. refieren a un proceso inflamatorio. [8]

1.5. MASTITIS

La mastitis se considera una reacción inflamatoria de la glándula mamaria con origen infeccioso (bacteriano por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Pasteurella spp.* y coliformes, o micótico), traumático, o toxico, teniendo un conteo mayor de 250.000 células somáticas/mL. de leche (98% leucocitos y 2% células epiteliales).

Es considerada de las enfermedades más comunes, presentando un aumento de incidencia en épocas de lluvias por una mala higiene al momento del ordeño, máquinas de ordeño defectuosas, lesión en pezones o úlceras mamarias. [20-21]

Es de gran importancia en el ámbito de la producción láctea, por los costos tan elevados que tiene el tratamiento y su prevalencia. Se puede prevenir desde el nacimiento de los terneros, controlando el factor predisponente como la sobre alimentación de las vacas en la finalización de la preñez, ya que crea un gran depósito de grasa en la ubre ocasionando edemas mamarios. Es esencial contar con instalaciones secas en los partos y ordeñas, control de lactación, una correcta asepsia antes y después del ordeño.

Las fases de la mastitis son:

1. Peraguda: Presenta en la glándula mamaria tumefacción, calor, dolor, secreción anormal, fiebre, trastornos sistémicos.
2. Aguda: Presenta tumefacción, calor, dolor, secreción anormal de la glándula mamaria, fiebre moderada y trastornos sistémicos.
3. Subaguda: No presenta cambios sistémicos y los cambios en la glándula mamaria, son poco notorios.
4. Subclínica: Presenta inflamación mamaria, se descubre solo con pruebas de laboratorio. [22]

1.6. SALUD PÚBLICA

Los antibióticos usados en tratamientos del hato lechero son eliminados a través de los fluidos corporales como leche y orina. Cuando no existe un descarte adecuado de la leche contaminada, llegando a su venta y consumo, pueden producir reacciones alérgicas a personas susceptibles al antibiótico, resistencias bacterianas, o deficiencias en la fermentación de la leche para la producción de queso. [23]

Es por lo tanto de interés veterinario, y de la salud pública a nivel mundial, el uso cuidadoso y racional de antibióticos en animales para consumo. Hoy en día cada vez la población se encuentra expuesta a más resistencias bacterianas o a zoonosis, por ejemplo, con casos de *Salmonella typhimurium* o *Escherichia coli*, entre otras. Por estas resistencias, cada día es más difícil encontrar antibióticos oportunos para sus tratamientos. [24]

La situación es aún más compleja en los sistemas de producción de leche en pequeña escala en el centro de México pues en la actualidad no existen programas de control de residuos de leche contaminada con antibióticos en estos sistemas.

1.7. B-LACTÁMICOS

El uso de antibióticos en forma terapéutica ha permitido disminuir la morbilidad y mortalidad tanto de la población humana como el animal. Con el paso del tiempo, ha sido necesario utilizar otro tipo de terapias para evitar la resistencia a ellos. [25]

Los B-Láctamicos son los antibióticos más numerosos y utilizados con mayor frecuencia, siendo el más popular la penicilina, seguido por las cefalosporinas, carbapenémicos para tratamiento de infecciones nosocomiales, son antibióticos de acción lenta, que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, poco tóxicos, ayuda a la efectividad de la penicilina en afecciones causadas por producción de B-Lactamasa. [22-26]

1.7.1 Penicilinas

Las penicilinas son ácidos orgánicos poco solubles, inestables, sensibles al calor, luz, pH, metales pesados, agentes oxidantes y reductores, se deteriora con el agua, considerado como el primer antibiótico natural. Existen 4 penicilinas naturales F, G, X, K y dos sintéticas O y V. [22-26]

Se clasifican en 5 especies:

1. Penicilina de espectro reducido, sensible a la B-Lactamasa: Activa contra bacterias Gram-positivas y algunas Gram-negativas, con sensibilidad al hidrolisis por B-Lactamasa (Penicilinas), se componen por; Penicilina G natural (Bencilpenicilina), Penicilina V (Fenoximetilpenicilina), Feneticilina (Fenoximetilpenicilina).
2. Penicilina de espectro reducido, resistente a la B-Lactamasa: Con actividad contra bacterias Gram-negativas excepto *Pseudomonas* y establece la B-Lactamasa, se compone por; Isoxazolilpenicilinas, Oxacilina, Cloxacilina, Dicloxacilina, Flucloxacilina, Meticilina, Nafcilina, Temocilina.
3. Penicilina de amplio espectro sensible a la B-Lactamasa: Derivadas semisintético de 6-APA y tiene actividad contra Gram-positivas y Gram-negativas, destruidas fácilmente por B-Lactamasa, administrada vía oral o parenteral, usada para problemas gastrointestinales excepto *Proteus*, se compone por; Aminopenicilinas, Ampicilina, Amoxicilina, Hetacilina, Pivampicilina y Talampicilina
4. Penicilina de amplio espectro, sensible a B-Lactamasa, con espectros amplios (nueva generación): Actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, algunas *Proteus*, cepas de *Klebsiella*, *Shigella* y *Enterobacteriaceae*, se componen por; Carbenicilina, Ticarcilina, Ureidopenicilinas (Azlocilina y Mezlocilina) y Piperacilina
5. Penicilinas de amplio espectro protegidas contra B-Lactamasa (Penicilinas Potenciadas): Compuestos naturales y semisintéticos, inhiben algunas enzimas B-Lactamasa producida por bacterias resistentes a la penicilina, se componen por; Amoxicilina, Ticarcilina + Clavulanato y Ampicilina + Sulbactam. [22]

1.7.2. Cefalosporinas

Forman parte de los B-Lactámicos, derivados del ácido 7-aminocefalosporánico con acción parecida a la penicilina, pero a un alto costo, y son más resistentes a los cambios de temperatura y pH.

Por su espectro de acción las cefalosporinas se dividen en 3 generaciones:

1. Primera generación: Activa contra microorganismos Gram-positivos, moderadamente con Gram-negativos y relativamente sensible B-Lactamasa, en este grupo se encuentra la Cefalotina, Cefaloridina, Cefapirina, Cefazolina, Cefalexina, Cefaclor, Cefradina, Cefadroxilo.
2. Segunda generación: Activos contra Gram-positivas y Gram-negativas, relativamente resistentes a B-Lactamasa, compuestas por; Cefamandol, Cefoxitina (Cefamicina), Cefotiam, Cefuroxima, Ceforanida.
3. Cefalosporinas de tercera generación: Actividad moderada contra Gram-positivas pero muy activas contra Gram-negativas y muy resistentes a B-Lactamasa, en este grupo encontramos a la Ceftriaxona, Cefsulodina, Cefotaxima, Cefoperazona, Moxalactam. [22]

1.8. SUSPENSIÓN DEL FÁRMACO Y DESCARTE DE LECHE

El tiempo de retiro después de administrar B-Lactámicos antes del sacrificio o uso de la leche y el tiempo que debe transcurrir entre esa suspensión y la posibilidad de sacrificar al animal o utilizar su leche, como lo muestra el cuadro 1-3.

Se rige por las normas de cada país y especificaciones de cada antibiótico.

CUADRO 1: SUSPENSIÓN Y DESCARTE DE LECHE DE PENICILINAS

Penicilina	Suspensión antes del sacrificio (DÍAS)	Descarte de leche (DÍAS)
Penicilina G Procaínica (IM)	10	3
Penicilina G Benzatínica (IM)	30	
Ampicilina (IM)	6	
Amoxicilina (IM)	30	2

Manual Veterinario de Merck. [22]

En el caso de las cefalosporinas, es difícil que queden residuos durante periodos prolongados de uso, como se muestra en el cuadro 2 y 3. [22]

CUADRO 2: SUSPENSIÓN Y DESCARTE DE LECHE DE CEFALOSPORINAS

Cefapirina	Período de suspensión	Descarte de leche
Cefapirina Sódica (Intramamario)	4 días antes del sacrificio	4 días
Cefapirina Benzatínica (Tx. vaca loca)	42 días después de la última infusión	3 días después de parir
Sulfato de Cefquinome (MSD, 2015)		1 día

Manual Veterinario de Merck. [22]

CUADRO 3: RETIRO DE LECHE EN TRATAMIENTOS CON B-LÁCTAMICOS

Antibióticos	Periodo de retiro en leche (DÍAS)
<u>INTRAMAMARIO</u>	
Amoxicilina	2 – 3
Cefacetilum	4 – 5
Cefalexina Monohidrato	1 – 2
Cloxacilina Sódica	3
Hetacilina Potásica	3
Pirlimicina	1 – 2
<u>INYECTABLE</u>	
Amoxilina Trihidrato	4
Ampicilina Trihidrato	2
Cefquinoma	7
Eritromicina	3
Espiramicina	7
Oxitetraciclina Hidrocloruro	3
Oxitetraciclina L.A. 200	4
Oxitetraciclina L.A. 300	6
Penicilina G Procaínica	2 – 3

ARZALUZ REYES J.I.[3]

1.9. COMPOSICIÓN DE LA LECHE

La leche es considerada como la secreción de la glándula mamaria, consta de más de 100 sustancias siendo las principales agua, energía, proteína, grasa, lactosa y minerales, como se muestra en el cuadro 4.

La proteína constituye del 3% al 4% de la leche, se compone de 20 aminoácidos. Es importante por su estrecha relación con la grasa, a mayor cantidad de grasa mayor cantidad de proteína, se conforma de dos grupos: caseína que representa el 80% y proteína sérica (albúmina) el 20%.

La grasa es esencial en leche ya que contiene ácidos grasos, grasas insaturadas (oleico) y grasas polinsaturadas (linoleico y linolenico), en algunos países pagan más la leche con altos contenidos de grasa, estos valores varían según sea su raza o alimentación. Una vaca alimentada con una dieta muy alta en concentrado disminuirá su porcentaje de grasa (2% – 2.5%) en comparación de una vaca con una dieta de forraje y ensilados que contendrá un porcentaje de (3.4%), Normalmente el contenido de grasa varía entre 3.5 y 6% de la composición de la leche.

El otro componente principal de la leche es el disacárido lactosa, mejor conocida como el azúcar de la leche. [27] Además, contiene minerales, vitaminas y sustancias solubles.

Los sólidos totales son importantes para la calidad de leche. Se conforman por grasa, lactosa, proteína y minerales, composición que se relaciona directamente por el porcentaje de grasa. [27-28]

CUADRO 4: COMPOSICIÓN DE LA LECHE

Nutriente	Valor en vaca (100g)
Agua/g	88
Energía/kcal	61
Proteína/g	3.2
Grasa/g	3.4
Lactosa/g	4.7
Minerales/g	.72

WATTIAUX M. & HOWARD T. [27]

1.10 NMX-F-700-COFOCALEC-2012

La NMX-F -700-COFOCALEC -2012 establece las especificaciones de calidad de la leche cruda de vaca y los métodos de prueba usados para su evaluación. regulariza parámetros de calidad alimentaria de la leche cruda de vaca, indica los contenidos requeridos de grasa mostrados en el cuadro 5, proteína mostrados en el cuadro 6, lactosa mostrados en el cuadro 7, solidos mostrados en el cuadro 8, Células somáticas mostrados en el cuadro 9 y agentes externos considerados como contaminantes. [19]

CUADRO 5: ESPECIFICACIÓN GRASA EN LECHE CRUDA DE VACA

Parámetro	Especificación
Clase A	➤ 32
Clase B	31mín.
Clase C	30mín

COFOCALEC. [19]

CUADRO 6: ESPECIFICACIÓN PROTEÍNA EN LECHE CRUDA DE VACA

Parámetro	Especificación
Clase A	> 31
Clase B	30 a 30.9
Clase C	28 a 29.9

COFOCALEC. [19]

CUADRO 7: ESPECIFICACIÓN LACTOSA EN LECHE CRUDA DE VACA

Parámetro	Especificación
Lactosa g/L	43 a 50

COFOCALEC. [19]

CUADRO 8: ESPECIFICACIÓN SÓLIDOS EN LECHE CRUDA DE VACA

Parámetro	Especificación
Sólidos no grasos g/L	83 mín.

COFOCALEC. [19]

CUADRO 9: PARÁMETROS DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LECHE CRUDA DE VACA

Parámetro	Especificación
Clase 1	< 400000
Clase 2	401000 – 500000
Clase 3	501000 – 749000
Clase 4	750000 – 1000000

COFOCALEC. [19]

1.11. DELVOTEST SP NT.

El Delvotest es una forma económica y efectiva para identificar la presencia de antibióticos en leche. El kit consta de reactivos con *Bacillus stearothermophilus*, susceptible principalmente a las penicilinas y cefalosporinas. [29,30,31]

El cuadro 10 presenta la sensibilidad del Delvotest en su variante SP NT.

FIGURA 1: LECTURA DEL DELVOTEST



CUADRO 10: TABLA DE SENSIBILIDAD DELVOTEST SP NT.

ANTIBIÓTICOS	DERIVADOS	LMR UE
Penicilinas	➤ Amoxicilina	➤ 4
	➤ ampicilina	➤ 4
	➤ cloxacilin	➤ 30
	➤ dicloxacilina	➤ 30
	➤ penicilina	➤ 4
	➤ nafcilina	➤ 30
Cefalosporinas	➤ Cefalonio	➤ 20
	➤ Cefoperazona	➤ 50
	➤ Cefquinoma	➤ 20
	➤ Cefalexina	➤ 100
Aminoácidos	➤ Dihidroestreptomicina	➤ 200
	➤ neomicina	➤ 1500
	➤ estreptomicina	➤ 200
Macrólidos	➤ Eritromicina	➤ 40
	➤ Lincomicina	➤ 150
	➤ Novobiocina	➤ 50
	➤ Rifaximina	➤ 60
	➤ Espiramicina	➤ 200
	➤ Tilosina	➤ 50
Tetraciclinas	➤ Tetraciclina	➤ 100
	➤ Oxitetraciclina	➤ 100
Sulfonamidas	➤ Sulfadiazina	➤ 100
	➤ Sulfadoxina	➤ 100
	➤ Sulfatiazol	➤ 100
Otros	➤ Bacitracina	➤ 100

LMR UE: LÍMITE RESIDUAL ESTABLECIDO POR LA UNION EUROPEA. DELVOTEST SP NT.

[29,30,31]



CAPÍTULO 2

JUSTIFICACIÓN

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) considera los productos lácteos como alimentos de alto riesgo por su gran consumo.

La falta de mecanismos y seguimiento sobre el control de calidad de leche proveniente de sistemas en pequeña escala es un problema a nivel mundial. El principal problema es que no se respeta el tiempo de retiro de leche en el ganado vacuno con tratamiento de antibióticos utilizados para tratamientos profilácticos para la mastitis u otras enfermedades, para su transformación a subproductos de base láctea.

En México, existen normas que regulan la calidad de la producción de leche que son aplicables sobre todo en unidades de producción a gran escala, o aquellas que son a mediana escala, se encuentran vinculadas con empresas de transformación de leche que cuentan con los mecanismos de vigilancia y control de la leche de sus proveedores. Sin embargo, para los sistemas de producción de leche en pequeña escala del centro de México no existe ningún organismo oficial que se dedique a regularizar estos sistemas de producción o los talleres de elaboración artesanal de quesos.

En pequeñas localidades como es el caso del municipio de Aculco de Espinoza, la leche podría tener residuos de antibióticos, lo cual es un problema de salud pública al ser distribuida mediante diversos mecanismos de comercio informal para su transformación en quesos. El proceso de transformación para queso como el tipo Oaxaca, requiere de temperaturas cercanas a los 38°C. No obstante, no logra la eliminación de antibióticos, provoca pérdidas económicas, absorción de antibióticos en los mantos friáticos por medio de la orina del bovino contaminando agua de uso de riego o consumo personal por la deficiencia de la trata del agua, disminución de producción del queso; pero más importante, problemas de hipersensibilidad, resistencia bacteriana y hasta la muerte en humanos.

El problema del uso indiscriminado de antibiótico se contrarresta teniendo un manejo zootécnico adecuado, controlando la higiene al momento del ordeño y manejo adecuado en el hato lechero.

Con el presente trabajo, se detectó la presencia de antibióticos B-Lactámicos en la leche de 16 proveedores de una quesería artesanal, utilizada para la producción de quesos artesanales en el noroeste del Estado de México, se observó si existe una relación con el número de células somáticas, además se identificó si las muestras cumplieron con las características fisicoquímicas establecidas en la NMX-F-COFOCALEC-700-2012.



CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

1. Detectar la presencia de antibióticos en leche de 16 proveedores de una quesería artesanal.
2. Verificar si la leche de los proveedores cumple con las especificaciones fisicoquímicas de la NMX-F-COFOCALEC-700-2012.



CAPÍTULO 4

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en cinco períodos de muestreo durante los meses de Agosto, Septiembre y Octubre. Se recolectó muestras de leche cruda de 16 proveedores de una quesería artesanal en el Noroeste del Estado de México.

4.1. MATERIAL

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Leche de 16 productores que proveen una quesería artesanal

MATERIAL PARA CAMPO:

- Contador de células somáticas
- Hielera

MATERIAL PARA EL LABORATORIO:

- Incubadora
- Kit comercial Delvotest SP NT.
- Ekomilk Bond Standard

MATERIAL PARA CONSULTA

- Internet
- Computadora
- Artículo Científicos
- Programas Microsoft Office Excel, Word
- Libro de Bioestadística: Principios y Procedimiento (Steel, Robert George Douglas Torrie, James Hiram, et al. 1987. Ed McGraw-Hill México DF.)

4.2 MÉTODOS

Se recolectó 16 muestras de leche, provenientes de 16 productores de pequeña escala. Se muestreó leche fresca sin pasteurizar, la cual se depositó inicialmente

en cubetas de plástico y acero inoxidable, pertenecientes a la comunidad de San José Gunyo, localidad de Aculco de Espinosa, Estado de México.

El muestreo se realizó cada 15 días, recolectando 50 mL. de cada muestra de leche cruda fresca, utilizando frascos de plástico esterilizados, se trasportaban al laboratorio en un contenedor de plástico con hielos durante 2 horas para garantizar que se mantenga una temperatura estable a 4°C, se ingresó al refrigerador a 4 °C. Las muestras se llevaron al laboratorio del Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (ICAR), en el área de análisis lácteos, perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de México ubicado en el Campus UAEM El Cerrillo, en la comunidad de El Cerrillo Piedras Blancas. [32]

Todas las muestras de leche se examinaron mediante la técnica DeLaval, que consiste en agarrar 0.1mL de leche en cartuchos especiales, para después insertarlo en el Contador de Células Somáticas DCC marca DeLaval (2003), para obtener el conteo de células somáticas por mL de leche. La determinación se realizó al momento de la toma de la muestra leche para evitar variaciones en los datos.

Para la detección de Antibiótico, se utilizó el kit comercial Delvotest SP NT, para el análisis de leche cruda y determinar la presencia de residuos de antibióticos. El kit contiene 100 tubos con cultivos *B. Stearothermophilus*, a cada cultivo se tiene que agregar 0.1mL de leche y realizar muestras control. En esta prueba, se utilizará una incubadora Binder para incubar el cultivo durante 3 horas a 64 °C., la interpretación de los resultados se basa en 3 coloraciones Amarilla (Negativa), Morada (Positiva), Verde (Limite Residual), como lo indica el manual Delvotest SP NT.

Se realizó un análisis fisicoquímico a la leche cruda, utilizando un determinador de composición química de la leche por ultra sonido (Ekomilk Bond Standard), determinando el contenido de proteína, grasa, sólidos no grasos y lactosa, solo se agrega una muestra de 25 mL para obtener el resultado final.

4.2.1. Métodos Estadísticos

El análisis de la prevalencia de residuos en leche cruda se realizó aplicando una prueba de Chi-cuadrada. Para comprobar la composición fisicoquímica y número de células somáticas se utilizó un método de Diseño Experimental de Parcelas Divididas.

El método estadístico Diseño de Bloques Completamente al Azar se utilizó para los parámetros de células somáticas, y análisis de contenidos de grasa, sólidos, proteína y lactosa en leche, basándose en el modelo:

$$Y = \mu + B + tx + e$$

Y=Variable Respuesta

μ = Media General

B= Efecto debido a los proveedores de leche

tx= Efecto del periodo de muestreo

e= Variación residual

Para el análisis de datos sobre presencia de antibióticos se utilizó el método estadístico de Chi-cuadrada, para explicar la prevalencia de antibióticos:

$$\chi^2 = \sum \frac{(fo - ft)^2}{ft}$$

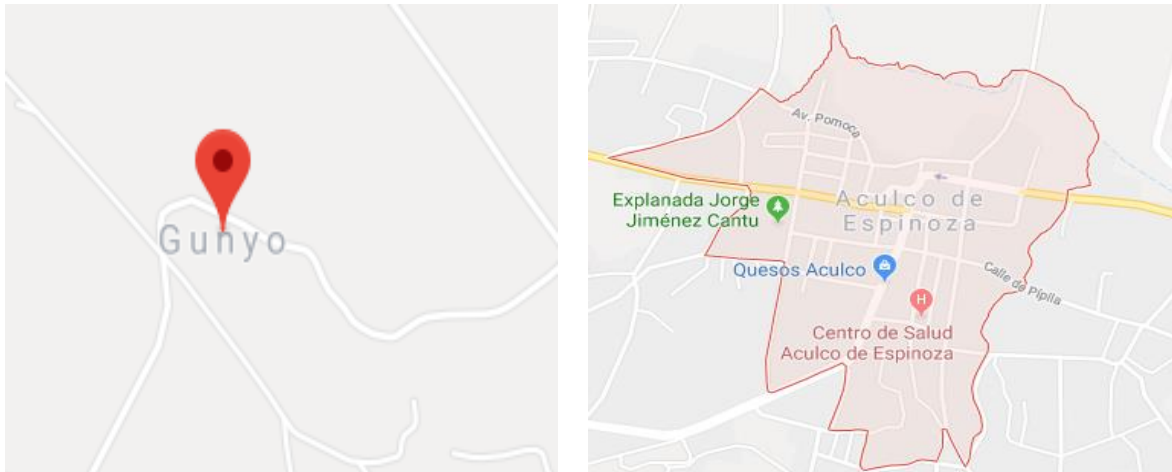
fo=Frecuencia de tratamientos
ft= Frecuencia de períodos



CAPÍTULO 5

LÍMITE DE ESPACIO Y TIEMPO

El estudio se realizó en el municipio de Aculco de Espinoza, en la localidad de San José Gunyo, ubicada en el Noroeste del estado de México, perteneciente a la región de Jilotepec. El municipio de Aculco colinda al norte con el Estado de Querétaro y Polotitlán, al sur con Acambay y Timilpan, al este con Jilotepec y al oeste con el Estado de Querétaro, cuenta con una superficie de 453.26 kilómetros cuadrados que corresponden 41,886 hectáreas a 2,460 metros sobre el nivel del mar. [3-33]



Los periodos de recolección de muestras fueron durante la estación del año verano y el inicio otoño (18 de agosto al 20 de octubre de 2017), con la finalidad de abarcar dos épocas climatológicas en la región de estudio. Los muestreos de leche y conteo de células somáticas fueron:

- 18 de Agosto.
- 01 de Septiembre.
- 22 de Septiembre
- 06 de Octubre.
- 20 de Octubre.

Se realizó el trabajo de laboratorio, se identificó la presencia de B-Lactámicos, perfil fisicoquímico de muestras de leche cruda en el laboratorio, se realizó revisión bibliográfica y análisis de información en las instalaciones del Instituto de ciencias Agropecuarias y rurales (ICAR).



CAPÍTULO 6

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE
18/08/18: Se recolectó la leche de 16 proveedores de una quesería artesanal.	01/09/18: Se recolectó la leche de 16 proveedores de una quesería artesanal.	06/10/18: Se recolectó leche de 16 proveedores de una quesería artesanal.
18/08/18: Se realizó el conteo de células somáticas.	02/09/18: Se realizó el conteo de células somáticas y perfil fisicoquímico de las 16 muestras.	07/10/18: Se realizó conteo de células somáticas y perfil fisicoquímico de 16 muestras.
20/08/18: Se explicó el modo de uso del Ekomilk Bond Standard. Se utilizó para la realizar perfil fisicoquímico de 16 muestras.	03/09/18: Se realizó detección de antibióticos con la prueba Delvotest SP NT.	08/10/18: Se realizó detección de antibióticos con la prueba Delvotest SP NT.
21/08/18: Se asesoró en el uso de la Incubadora Binder y kit comercial Delvotest SP NT. Se utilizaron en la detección de antibióticos.	22/09/18: Se recolectó leche de 16 proveedores de una quesería artesanal. 23/09/18: Se realizó conteo de células somáticas y perfil fisicoquímico de 16 muestras	20/10/18: Se recolectó leche de 16 proveedores de una quesería artesanal. 21/10/18: Se realizó conteo de células somáticas y perfil físico químico de 16 muestras.
	24/09/18: Se realizó detección de antibióticos con la prueba Delvotest SP NT.	22/10/18: Se realizó detección de antibióticos con la prueba Delvotest SP NT.



CAPÍTULO 7

RESULTADOS

ANTIBIOTIC DETECTION AND PHYSICOCHEMICAL COMPOSITION OF MILK FROM SUPPLIERS OF AN ARTISANAL DAIRY

Hernández-García Cindy Michelle, López-González Felipe*, Prospero-Bernal Fernando, Espinoza-Ortega Angélica, Arriaga-Jordán Carlos Manuel

Antibiotic detection and physicochemical composition were ascertained in milk from 16 suppliers of an artisanal dairy (small-scale cheese factory) located in northwestern State of Mexico. Samples of raw milk were collected from the daily parlors in sterile jars, they were transported at a temperature of 4°C, for 5 periods of 15 days. The commercial kit Delvotest SP NT was utilized in the detection of commercial antibiotics; DeLaval for the count of somatic cells; and Ekomilk Bond Standard to assess fat, protein, solids and lactose. The parameters established by NMX-F-700-COFOCALEC-2012 were observed. Antibiotic incidence is (81.25 percent) of the total samples; the physicochemical profile does not present significant differences ($P < 0.05$), (32.5 percent) presented high counts of somatic cells.

Key words: Delvotest, Milk, Quality, Antibiotics.

Introduction

Mexico has an annual production of 287 thousand tons of cheese, raking tenth at global level. There are more than 40 types of cheese, being notable fresh cheese (17%), panela (14%), double cream (13%), Oaxaca (6%), Chihuahua (11%), Manchego (9%), American (13%), cream (9%), among others (8%). Mexico holds the eighth place at global level in cheese consumption, with an average of 400 thousand tons. [1]

The main employment source in northwestern State of Mexico is small-scale dairy production and artisanal cheesemaking; there are about 1300 microenterprises engaged in the transformation, [2] most of their production is sold locally, being this their main source of income.

There are Mexican norms which specify the physicochemical quality and quantity of acceptable antimicrobial residues (NMX-F-700-COFOCALEC-2012); they are only

applicable to macro-enterprises, which makes that microenterprises go unnoticed by governmental offices which verify that foods are innocuous and healthful.

Milk and its byproducts are considered a food with high risk for public health as they are widely consumed. [3] The main causes of contamination in milk utilized in cheesemaking are aerobic mesophilic bacteria, total coliforms, fecal coliforms, unhygienic production processes, unsuitable production places, production with unpasteurized milk, among others. [2]

Antibiotics from treatments for dairy cattle are excreted in body fluids such as urine and milk, forcing the producer to wait for a withdrawal time from 1 to 8 days, if they fail to meet the regulations they cause problems in public health such as hypersensitivity reactions, allergies, bacterial resistance mainly from gram-negative bacteria, zoonosis, shortage of treatments against diseases such as gonorrhoea, pneumonia and tuberculosis, [4,5,6] plus bacterial resistance from *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, decreased performance of milk in cheese production and fermentation problems. [7]

Mastitis is the main disease in the milk herd, where 47% of the cases are clinical mastitis from etiological agents *Escherichia coli* and *Staphylococcus uberis*, while 61% of the cases are subclinical mastitis produced by environmental organisms and *Escherichia coli*, affecting 47% of the cows, leading to economic losses and milk contamination from poor milking practices, prophylactic misuse of antibiotics, fail to withdraw milk established by its prophylactic use, among others. [8,9,5]

It is necessary to control the inadequate and indiscriminate use of antibiotics to solve the health problems of dairy cattle, being influential the season, zootechnical function, sex, physiological stage, among others. [10]

Only a third of the milk is rejected, while the other two thirds are utilized to feed calves, an alternative use of antibiotics is as growth promoters [11-9]

The goal is to detect the presence of antibiotics in the milk utilized in cheesemaking, identify a relation between the amount of somatic cells and the use of antimicrobials and whether the physicochemical specifications of NMX-F-COFOCALEC-700-2012 to preserve public health are met.

Material and methods

Location of the experimental site

Sixteen milk suppliers of an artisanal dairy were assessed, located in San José Gunyo, part of Aculco de Espinoza, in northwestern State of Mexico, belonging to the Jilotepec region; composed of six municipalities, it neighbors to the north with the State of Queretaro and Polotitlán, to the south with Acambay and Timilpan, to the east with Jilotepec and to the west with the State of Queretaro. It has a surface of 453,26 km², which correspond to 41,886 hectares at 2,460 m.a.s.l., [12] its main employment source is milk production and its transformation into cheeses and related products.

Collection method

We collected samples from 16 producers with milking herds of 1-4 cows on average, unpasteurized fresh milk was sampled. Milk is delivered in plastic and stainless-steel buckets, samples were obtained every 15 days for five periods over the months of August, September and October on: August 18th, 2017; September 1st, 2017; September, 22nd, 2017; October 6th, 2017; and, October 20th, 2017. 50 ml were collected from each sample of raw milk using sterilized plastic jars, they were transported to the laboratory in ice at 4°C for 2 hours.

Laboratory methods

The eighty samples collected over the five periods were examined at recollection so as not to have variations in the count of somatic cells, using the DeLaval cell counter DCC.

In order to detect antibiotic residues in milk, we utilized the commercial kit Delvotest SP NT with solid agar substrate *Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis*, nutriments for growth and bromocresol purple with sensibility to penicillin G 2 ng/g and sulfadiazine 150 ng/g, incubating the trial for 3 hours at 64 degrees centigrade, performing control samples. [13]

The physicochemical analysis of raw milk was carried out using Ekomilk Bond Standard detecting the amount of protein, fat, solid and lactose.

NMX-F-700-COFOCALEC-2012 was resorted to as a parameter and for comparison of milk quality.

Statistical analysis

The prevalence of antibiotic residues in raw milk was obtained with the chi-squared test:

$$\chi^2 = \sum \frac{(fo - ft)^2}{ft}$$

fo = frequency of treatments
ft = frequency of periods

The statistical analysis used to express the amount of somatic cells (transformed to Logarithm base 10) was totally-at-random, using the following mathematical model:

$Y = \mu + tx + e$, where: Y = response variable, μ = general mean, tx = effect to the period, e = residual variation

For the analysis of data for percentage of fat, solid, lactose and protein, a split-plot design will be used [14], for on-site experiments where repetitions are limited, considering the following model: $Y_{ijk} = \mu + T_i + E_j + P_k + T_{pjk} + e_{ijk}$, where: Y_{ijk} = response variable; μ = general mean; T_i = effect from the producers (Large Plot); E_j = residual term for Large Plots; P_k = effect of experimental periods (Small Plot); T_{pjk} = effect of the interaction between treatments and experimental period; e = residual term for Small Plots.

Results

Chemical analysis and somatic cells count

Table 1 shows the results of the chemical analyses of milk from various production units, in which we notice there are no significant differences ($P > 0.05$) for fat, finding on average an amount of fat of 34 g/kg.

The amount of protein in milk had a mean of 32 g/kg, with no significant differences between producers ($P > 0.05$) as noticed in table 1. Lactose did not present significant differences between periods ($P > 0.05$).

TABLE 1: percentage of fat, protein, lactose and solids over the 5 periods

Variable	Period					Mean	SEM
	I	II	III	IV	V		
Fat (g/kg)	35	34	35	35	35	34	0.53 ^{NS}
Protein (g/kg)	32	33	33	33	33	32	0.51 ^{NS}
Lactose (g/kg)	47	48	48	48	52	48	0.08 ^{NS}

SEM = Standard error of the mean

Antibiotics in milk

Table 2 displays the values of the chi-squared test applied to detect antibiotics by period, in which there are no significant differences between assessment periods ($P > 0.05$). In this table it is also noticed that 44% of the samples evaluated are positive for antibiotics in milk.

Table 2: Results and assessment of Delvotest SP NT by means of chi-squared

Parameter	Period					Total
	I	II	III	IV	V	
Positive	5.81	7.72	0.89	2.81	5.81	23.05
Negative	0.32	0.32	3.57	0.32	0.57	5.11
LMR	6.13	8.00	2.00	3.13	4.50	23.75
Total	12.26	16.04	6.46	6.26	10.88	51.90

LMR= Limit maximum residual

For the count of somatic cells, we noticed statistically significant differences between producers ($P < 0.05$), with a mean of 5.4 colony-forming units.

TABLE 3: Averages of SCC over the 5 periods

Variabl	PERIOD					MEAN	SEM
	1	2	3	4	5		
SCC	34706	39387	298000 ^b	58681	58293	441737	1039
	2 ^b	5 ^b		2 ^a	7 ^a		

SEM = Standard error of the mean; SCC = somatic cells

Discussion

The chemical composition of milk presented significant differences between producers, the values for fat in milk are within the ranges established by the official Mexican norm for raw milk (NMX-F-700-COFOCALEC-2004). In a study in Los Altos de Jalisco on small-scale dairy production units, Cervantes et al. (15) mention that the amount of fat in this sort of systems must be 34 g/L, which is slightly over the result of the present work. Values for fat are similar to those by Bernal et al. (16) and Celis-Alvarez et al. (17), who report values for fat of 33.9 g/L and 34 g/L, respectively. Furthermore, Perez-Prieto [18-19] reports values superior to the ones of the present work (37.2 g/kg and 43.3 g/kg).

The mean for protein in milk in this work was 33.6 g/kg with significant differences between production units, contents of crude protein are within the range established by the official Mexican norm (NMX-F-700-COFOCALEC-2004). In Brazil, Miguel et al. (20) reports similar results for crude protein (3.01%). Results for protein in milk are lower than those obtained by, [21,22] who report results of 35.8 g/kg and 38.6 g/kg, respectively.

The amount of lactose presented significant differences, the results of this work are similar to those reported by Kennedy [23] and Vance, [24] who report results for lactose of 48.9 g/kg and 46 g/kg, respectively.

An increased number of somatic cells indicates the possibility of finding rooms infected by mastitis, which brings about a reduction of 6% in milk production. [25] There is subclinical mastitis and inflammatory processes in the udder. There is a relation between the amount of somatic cells and mastitis, the existence of more than 500,000 somatic cells indicates a health problem of the udder [10], which causes important economic losses for the dairy and producers, as their daily production decreases. In the results of the present work, in the periods 1, 2, and 3, they remained below 500,000 somatic cells, increasing in the periods 4 and 5, this is to say, by the end of rainy season.

The relation there exists between the count of somatic cells and the presence of antibiotics is a consequence of the failure of the milk producers or collectors to respect the withdrawal of the milk from the prophylactic treatment, they sell it

contaminated. This relation has been previously described by a number of authors such as Ruegg and Saville [26-27] in the United States and Sargeant [28] in Canada. As a conclusion, it is necessary that the population realizes the importance of the adequate use of antibiotics and raise the awareness of producers about the consequences of not keeping good milking practices and not withdrawing contaminated milk adequately, giving rise to bacterial resistance, allergies, hypersensitivity, among others [29].

There are proposals to reduce the incidence of antibiotic use such as monthly visits by a veterinary, reduce the use of antibiotics in dairy cattle, mark animals under treatment, keep a log on the treatments by animal, respect the established withdrawal time for milk, separate milk with and without antibiotics, do not feed calves with contaminated milk, resort to holistic medicine [11]

It is necessary to look for alternatives to use contaminated milk so that there are no economic losses for the producers, as it is their main income source, sensitize governmental offices in order to carry out audits on small producers regarding milk quality and their products in order to reduce the indiscriminate use of antibiotics, prevent microbial resistance and obtain good public health.

Acknowledgments

We are grateful to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the funding of the project 129449 CB-2009 Assessment of sustainability of small-scale dairy production systems. The support from the artisanal dairy and from the milk suppliers who took part in this assessment.

References

1. SIAP. Boletín de leche enero-marzo de 2017. http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/boletin_leche_enero-marzo_2017.pdf. 29 December 2017.
2. FONTES C, VERA E, ORTEGA O, *et al.* Microbiological quality of artisan-made Mexican botanero cheese in the central Highlands. *J Food Safety* 2008;830:40-50.

3. MÁTTAR S, CALDERÓN A, SOTELO D, *et al.* Detecting antibiotics in milk: a public health problem. *J Public Health* 2009;11:579-90.
4. LAHUERTA-MARIN A, MUÑOZ-GOMEZ V, HARTLEY, *et al.* A survey on antimicrobial resistant escherichia coli isolated from unpasteurized cows' milk in Northern Ireland. *Vet Rec* 2017;180:426-28.
5. RAMÍREZ S. Prevalence and predisposing factors for subclinical mastitis in dairy farms in the province of Trujillo. *CEDAMAZ* 2015;5:12-22.
6. Who. Antibiotic Resistance. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/>. 2 February 2018.
7. ALOMIRAH H, AL-MAZEEDI H, AL-ZENKI S, *et al.* Prevalence of antimicrobial residues in milk and dairy products in the state of Kuwait. *J Food Qual* 2007;30:745–63.
8. BRADLEY A, LEACH K, BREEN J, *et al.* Survey of the incidence and a etiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Vet Rec* 2007;160:253-58.
9. BRUNTON L, DUNCAN D, COLDHAM N, *et al.* A survey of antimicrobial usage on dairy farms and waste milk feeding practices in England and Wales. *Vet Rec* 2012;171:280-96.
10. TAN X, HUANG, JIANG Y, HU Y. Persistence of oxytetracycline residues in milk after the intrauterine treatment of lactating cows for endometritis. *Vet Rec* 2007;161:585-87.
11. GUARDABASSI I. Sixty years of antimicrobial use in animals: What is next? *Vet Rec* 2013;173:599-03.
12. INAFED. Aculco. <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/emm15mexico/municipios/15003a.html>. 25 January 2018.
13. DSM Food Specialties BV. Instruction for use. <https://nelsonjameson.com/content/wp-content/uploads/2015/08/delvotest-spnt-photo-instructions.pdf>. 26 January 2018.

14. STROUP WW, HILDEBRAND PE, FRANCIS CA. Farmer participation for more effective research in sustainable agriculture. *Technologies for Sustainable Agriculture in the Tropics*. (Eds) Regland J and Rattan L. Soil Science Society of America, Inc., Madison (WI): American Society of Agronomy, Inc. and Crop Science Society of America, Inc, 1993;153–86.
15. CERVANTES EF, SANTOYO CH, ÁLVAREZ MA. *Lechería familiar. Factores de éxito para el negocio*. México DF: ed. Plaza y Valdez S. A. de C. V, 2001.
16. BERNAL-MARTÍNEZ LR, ROJAS-GARDUÑO MA, VÁZQUEZ-FONTES C, et al. Determinación de la calidad fisicoquímica de la leche cruda producida en sistemas campesinos en dos regiones del Estado de México. *Vet Méx* 2007;38(4), 395-07.
17. CELIS-ALVAREZ MD, LÓPEZ-GONZÁLEZ F, MARTÍNEZ-GARCÍA CG, et al. Oat and ryegrass silage for small-scale dairy systems in the highlands of central Mexico. *Trop Anim Health Prod* 2016;48:1129-34.
18. PÉREZ-PRIETO LA, PEYRAUD JL, DELAGARDE R. Pasture intake, milk production and grazing behaviour of dairy cows grazing low-mass pastures at three daily allowances in winter. *Lives Sci*. 2011;137: 151-60
19. PÉREZ-PRIETO LA, PEYRAUD JL, DELAGARDE R. Does pre-grazing herbage mass really affect herbage intake and milk production of strip-grazing dairy cows? *Grass Forage Sci* 2013;98: 93-09.
20. MIGUEL MF, RIBEIRO-FILHO H, MENDONÇA NA, DE ANDRADE EG, MORAES TC, DELAGARDE R. Pasture intake and milk production of dairy cows grazing annual ryegrass with or without corn silage supplementation. *Anim Prod Sci* 2014;54:1810-16.
21. BAUDRACCO J, LOPEZ-VILLALOBOS N, ROMERO L, et al. Effects of stocking rate on pasture production, milk production and reproduction of supplemented crossbred holstein–jersey dairy cows grazing lucerne pasture. *Anim Feed Sci Technol* 2011;168:131-43.

22. BRYANT R, DALLEY D, GIBBS J, *et al.* Effect of grazing management on herbage protein concentration, milk production and nitrogen excretion of dairy cows in mid-lactation. *Gras Forage Sci* 2013;69:644-54.
23. KENNEDY AE, O'DONOVAN AM, DELABY DI, *et al.* Effect of herbage allowance and concentrate supplementation on dry matter milk balance of early lactating dairy cows. Elsevier BV 2008;117:275-86.
24. VANCE E, FERRIS C, ELLIOTT C, *et al.* Food intake, milk production, and tissue changes of holstein-friesian and jersey x holstein-friesian dairy cows within a medium-input grazing system and a high-input total confinement system. *J Dairy Sci* 2012;95:1527-44.
25. COTRINO V. (2001): diagnóstico de mastitis, universidad nacional de Colombia. Available at <http://lmutda.com/programas/ar16.html>. 24 October 2005.
26. RUEGG PL, TABONE TJ. The relationship between antibiotic residue violations and somatic cell counts in Wisconsin dairy herds. *J Dairy Sci* 2000;83:2805-09.
27. SAVILLE WJA, WITTUM TE, SMITH KI. Association between measures of milk quality and risk of violative antimicrobial residues in grade a raw milk. *Javma* 2000;217:541-45.
28. SARGEANT JM, SCHUKKEN YH, LESLIE KE. Ontario bulk milk somatic cell count reduction program: progress and outlook. *J Dairy Sci* 1998;81:1545-1554.
29. BCVA Best practices to prevent medicine residues in milk. www.epruma.eu/component/downloads/downloads/18.html. 2 April 2018.



CONCLUSIONES

Se identificó la presencia de antibióticos en leche utilizada para producción de quesos. Se hace necesario incentivar iniciativas que apoyen la aplicación de medidas para el manejo de la leche con y sin antibióticos, tales como: Marcar los animales en tratamiento, separación de productos, desinfección adecuada de los cuartos antes y después del ordeño, con la finalidad de reducir el uso de antibióticos y crear estrategias para su correcto manejo, para evitar que esta leche llegue al consumidor final, dado que la presencia de antibióticos en leche puede generar resistencia bacteriana, alergias, hipersensibilidad, etc.

Se identificó para los períodos cuatro y cinco un aumento en la cantidad de células somáticas, sobrepasando el límite establecido por la norma oficial Mexicana de Leche Cruda NMX-F-700-COFOCALEC-2004.

Las células somáticas son indicadores de una posible afección en cuartos de la ubre de mastitis subclínica y proceso inflamatorio, lo que trae como consecuencia una disminución de hasta el 6% de la producción de leche, ocasionando pérdidas económicas importantes para los proveedores al disminuir su producción diaria.

La relación que existe en el conteo de células somáticas y la presencia de antibióticos es consecuencia de que los productores o recolectores de leche no respetan el tiempo de retiro durante el tratamiento profiláctico, la venden contaminada, además la leche no tiene tratamiento para enfriar.

La composición fisicoquímica de la leche se encuentra dentro de los rangos establecidos por la Norma Oficial Mexicana de Leche Cruda NMX-F-700-COFOCALEC-2004, se debe tener mayor atención en el porcentaje de grasa, como en algunos países de Europa se remunera al productor y logra que se utilice menor cantidad de leche para la elaboración de quesos.

1. SIAP.Boletín de Leche enero - marzo 2018.
<http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Bolet%C3%ADn%20de%20Leche%20enero-marzo%202018.pdf>. 25 de Enero 2018.
2. SIAP. Producción por municipio.
http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario_siapx_gobmx/indexmpio.jsp. 25 de Enero 2018.
3. ARZALUZ REYES (2014) Conteo de células somáticas y detección de antibióticos β - Lactámicos y tetraciclinas en leche de sistemas de producción a pequeña escala. Master's Thesis, Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales, Universidad Autónoma del Estado de México
4. MÁTTAR S, CALDERÓN A, SOTELO D, et al. Detecting antibiotics in milk: a public health problem. *Rev Salud Pública* 2009;11: 579-590.
5. WHO.Antibiotic resistance.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/>. 2 de Febrero 2018.
6. MARTIN B, KRUIZE J, MORALES M, et al. Bacterial resistance of mastitis pathogens isolated from dairy cows in the Vth Region, Metropolitan Region and Xth Region, Chile. *Arch Med Vet* 2002;34: 19 – 20.
7. CHR HANSEN Creating value. <https://www.chr-hansen.com/es/food-cultures-and-enzymes/test-kits/creating-value-test-kits>. 15 de Enero 2018.
8. CERÓN M, AGUDELO E, MALDÓNADO J. Relationship between individual and bulk tank somatic cell counts with CMT test in two dairy herds in Antioquia (Colombia). *Rev Colomb Cienc Pecu* 2007;20: 472–483.

9. INAES. Queso, crema y mantequilla. http://www.inaes.gob.mx/doctos/pdf/guia_empresarial/queso_crema_mantequilla.pdf. 25 de Enero 2018.
10. FAO. Milk production. <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/en/>. 25 de Enero 2018.
11. SIAP. PANORAMA DE LA LECHE EN MÉXICO. http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2016.pdf. 29 de Diciembre 2017.
12. INEGI. Población rural y urbana. http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/rur_urb.aspx?tema=P. 18 de Enero del 2018.
13. MURPHY S. (2012) Three definitions. Changing Perspectives: Small-scale farmers, markets and globalisation. Ed. 1ª. London: Knowledge Programme Small Producer Agency in the Globalised Market. pp 3 – 10.
14. VILLEGAS A ,CERVANTES F. Genuineness and typicity in the revalorization of artisanal Mexican cheeses. *Estud Soc* 2011;19:146–164.
15. Prospero-Bernal, F., Albarrán-Portillo, B., Espinoza-Ortega, A. and Arriaga-Jordán, C. M., (2013) Assessment Sustainability during Dry Season in Small-Scale Dairy Production Systems from Central Mexico. Ed. 1a. Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, Badajoz. pp 561– 568.
16. EDHUCAC. Atlas de Riesgos Naturales Aculco, México 2014. http://www.anr.gob.mx/PDFMunicipales/15003_ACULCO.pdf. 14 de Enero 2018.
17. ACULCO. QUESOS Y LÁCTEOS. <http://aculco.gob.mx/queso.php>. 15 de Enero 2018.
18. SEDAGRO. (2014) Vocación Productiva de Leche de Bovino en el Estado de México. [http://sedagro.edomex.gob.mx/sites/sedagro.edomex.gob.mx/files/files/Leche%20de%20Bovino%20\(163\)\(1\).pdf](http://sedagro.edomex.gob.mx/sites/sedagro.edomex.gob.mx/files/files/Leche%20de%20Bovino%20(163)(1).pdf). Fecha de acceso 29 de Enero 2018
19. COFOCALEC (2014) NMX-F-700-COFOCALEC-2012: Sistema Producto Leche-Alimento-Lácteo-Leche cruda de vaca- Especificaciones

- fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba. Ed. 1ª. Diario Oficial de la Federación. pp 7 – 25
20. MARTIN B, KRUIZE J, MORALES M, et al. Bacterial resistance of mastitis pathogens isolated from dairy cows in the Vth Region, Metropolitan Region and Xth Region, Chile. *Arch Med Vet* 2002; 34: 19 – 20.
21. RAMÍREZ N, GAVIRIA G, ARROYAVE O, et al. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2001;14: 76–85.
22. VARIOUS (2016) Mastitis in cattle. The Merck Veterinary Manual. Ed. 11th. Manual de Merck. pp 772 - 1207
23. ADESIYUN A, BALBIRSINGH V. Prevalence of antimicrobial residues in preprocessed and processed cows' milk in Trinidad. *J Food Safety* 1997;16: 301-310.
24. WALL B, MATEUS A, MARSHALL L, et al. (2016) the emergence of antimicrobial resistance in bacteria. Dynamics and Epidemiology of Antimicrobial Resistance in Animal Production. Ed. 1ª. FAO. pp 3-36
25. CORDIÉS L, MANCHADO L, HAMILTON M. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Medica* 1998;8: 13-27.
26. Suárez C, Gudiol F. Beta -lactam Antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009;27: 116-129.
27. WATTIAUX M. & HOWARD T. (1994) COMPOSITION OF MILK AND NUTRITIONAL VALUE. Dairy technical guide: nutrition and food. Ed. 1ª. Wisconsin Madison: Babcock Institute for International Research and Development for the Dairy Industry. pp 73-76.
28. CAMPABADAL C. Factors affecting milk solid content. *Nutrición Animal Tropical* 1999;5: 67-92.
29. DSM FOOD SPECIALTIES B.V. Headline. Technical Bulletin: Sensitivity of the Delvotest SP NT. <https://nelsonjameson.com/content/wp-content/uploads/2015/08/Detection-Sensitivity-list-of-the-Delvotest-SP-NT.pdf>. 15 de Enero 2018.

30. DSM FOOD SPECIALTIES B.V. Instruction for use. <https://nelsonjameson.com/content/wp-content/uploads/2015/08/Delvotest-SPNT-photo-instructions.pdf>. 26 de Enero del 2018.
31. DSM FOOD SPECIALTIES B.V. Delvotest SP NT: Standard diffusion test for the detection of antibacterial substances in milk. <http://www.plusto.com/uploads/21/docs/Delvotest%20standard%20diffusion%20test%20for%20antibiotics%20in%20milk.pdf>. 26 de Enero 2018.
32. ICAR. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. <http://icar.uaemex.mx/>. 2 de Enero 2018.
33. INAFED.ACULCO. <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/EMM15mexico/municipios/15003a.html>. 25 de Enero 2018.

COFOCALEC: Consejo para el fomento de la calidad de la leche y sus derivados, A.C

ANTIBIÓTICO: Sustancia capaz de paralizar el desarrollo de ciertos microorganismos patógenos, por su acción bactericida

EDHUCAC: Centro Mexicano Estudios Desarrollo Humano Comunitario

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

INAES: Instituto Nacional de la Economía Social

INAFED: Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal

INCUBADORA: Aparato o recinto que sirve para la incubación artificial

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

ZOONOSIS: f. Enfermedad de etiología bacteriana, viral o parasitaria, que se transmite al hombre a partir de los animales que actúan como reservorios.

PRODUCCION EN PEQUEÑA ESCALA: fincas con una extensión de 2 hectáreas de tierra o menos, con producción de 1 a 40 vacas

NOSOCOMIALES: Infecciones adquiridas durante la estancia en un hospital y que no estaban presentes ni en el período de incubación ni en el momento del ingreso del paciente

HIDRÓLISIS: Descomposición de sustancias orgánicas por acción del agua.

B-LACTAMASA: enzima que puede destruir el anillo B-lactámico de los antibióticos tipo penicilinas, cefalosporinas y sus derivados, Producida por Gram-negativas y Gram-positivas

SEDAGRO: Secretaría de Desarrollo Agropecuario

SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera



Fig. 2 y 3: Recolección de muestras de leche fresca, de los 16 productores ubicados en San José Gunyo, perteneciente Aculco de Espinoza, Estado de México.



Fig. 4, 5, 6: Análisis de las muestras de leche de los 16 proveedores en el Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales.

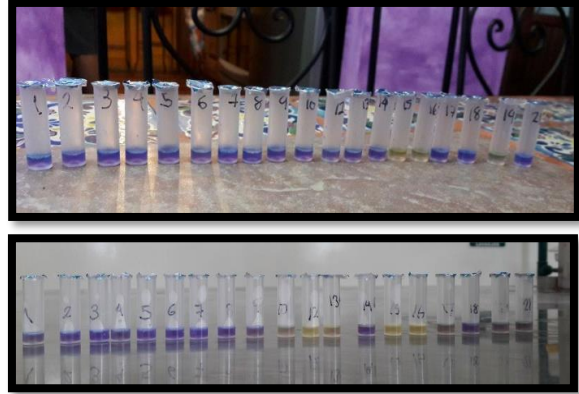


Fig 7, 8, 9: Reactivos Delvotest SP NT. para detección de antibióticos y resultado final después de la incubación



Fig 10 y 11: DeLaval contador de Células Somáticas y cartuchos, realizando el conteo de células somáticas multiplicando por 1000 el resultado.



Fig 12 y 13: Incubadora Binder programada a 64 grados centígrados durante 3 horas para la incubación del Delvotest SP NT.

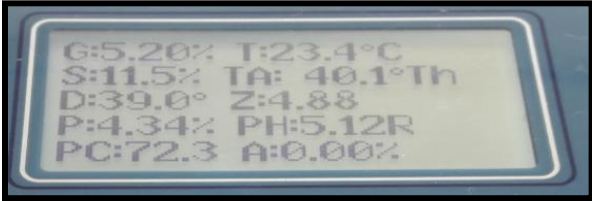


Fig 14, 15, 16: Ekomilk Bond Started, se utilizó para la determinación de perfil fisicoquímico de las muestras de los 16 proveedores, detectando grasa, solido, lactosa y proteína.