

VÍAS DE CONTAMINACIÓN DE LA LECHE CON ESPORAS GENERADORAS DE GAS BUTÍRICO (CLOSTRIDIUM) A PARTIR DEL SILAJE CONSUMIDO POR LAS VACAS LECHERAS

NESCIER, I.¹; RAMOS, E.²; DE MARÍA, M.²;

BONZI, E.¹; BONVIN, C.¹ & THOMAS, J.¹

RESUMEN

La leche contaminada con esporas generadoras de gas butírico del género *Clostridium* genera defectos de hinchazón en los quesos de pasta dura y semidura. Uno de los principales causales es el consumo de silaje contaminado por las vacas lecheras. Se han asociado alteraciones en la salud de los animales, cuando el alimento que consume el rodeo lechero contiene alta carga de esporas. El objetivo de este trabajo fue analizar el grado de asociación entre: calidad del silo almacenado, extracción y distribución del alimento y el nivel de contaminación de esporas generadoras de gas butírico en heces de vacas en lactancia. Se obtuvieron muestras de leche en tanque, con la finalidad de conocer la posible incidencia de la calidad del alimento que consume el animal como factor de riesgo, sobre la leche que se entrega a la industria. Se seleccionaron nueve establecimientos lecheros, ubicados en los Departamentos Las Colonias y San Justo (Provincia de Santa Fe), que suministraban silaje de maíz y sorgo (silos bolsa) la mayor parte del año. Se extrajeron muestras de los silos para determinar su calidad fermentativa. Se analizaron las muestras de heces de vacas en lactancia, como indicadores de la contaminación del alimento consumido (NMP de clostridios gasógenos/g de heces). La determinación de microorganismos esporulados anaerobios fermentadores de lactato en leche cruda (NMP/litro de leche) se realizó en muestras de leche de tanque. Se relevó información sobre la tecnología utilizada para la extracción de los silos y su distribución. El período de muestreo se inició en otoño de 2010, finalizando en otoño de 2011. Se observó una elevada carga de esporas en las estaciones de otoño e invierno, período en el que la utilización de silaje se maximiza. Los datos obtenidos se analizaron con el programa de estadística multivariada INFOSTAT. Los resultados indicaron asociación entre las variables: NMP de esporas/g de heces y la extracción del alimento, y NMP esporas/g heces y distribución del alimento, considerando las variables tambo y época del año. Se evidenció independencia entre las variables calidad fermentativa del silo y NMP de esporas /g en heces. Los silos, en general, fueron considerados de buena calidad, lo que permite deducir que los mayores riesgos de contaminación se produjeron durante

1.- Facultad de Ciencias Agrarias (UNL). Cátedra de Química y Dpto. Producción Animal. Kreder 2805. (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe. Email: inescier@fca.unl.edu.ar- 1* Alumno tesinista.

2.- INTI LACTEOS - Instituto Nacional de Tecnología Industrial - Centro de Investigaciones Tecnológicas de la Industria Láctea. Ruta 34 km 227,6 - (2300) Rafaela. Santa Fe. Email: robertl@inti.gov.ar

Manuscrito recibido el 15 de diciembre de 2014 y aceptado para su publicación el 21 de abril de 2015.

la extracción y distribución del silaje. Sería necesario mejorar el nivel de capacitación de productores y operarios en relación a estos procesos. Cuando los valores en heces resultaron altos (NMP > 40.000 NMP esporas/g heces), se observaron altos niveles de contaminación en leche. *Palabras claves: Esporas (Clostridium); Silaje; Tecnología de extracción y distribución.*

ABSTRACT

Routes of contamination of raw milk with butyric gas generating spores (*Clostridium*) from silage fed to dairy cows.

Raw milk contamination with spores (*Clostridium*) generates defects in hard and semi-hard cheeses. One of the main causes is the consumption of contaminated silage by dairy cows. Alterations in animal health have also been associated with the consumption of poor quality silage. The aim of this paper is to analyze the degree of association between: quality, extraction and distribution of silage and dung contamination of lactating cows. Milk samples from bulk milk tanks were obtained in order to know the potential impact of the quality of the silages consumed by cows, as a risk factor on the milk delivered to the industry. The exploratory study was performed in nine dairy farms, located in the departments "Las Colonias" and "San Justo" (Province of Santa Fe), which used corn and sorghum silage (silo bags) most of the year. Samples were taken to determine fermentation quality of silage. Faecal samples from lactating cows were analyzed as indicators of contamination of silage consumed (NMP clostridium/g faeces). The determination of anaerobic spore-forming microorganisms fermenting lactate in raw milk (NMP sporulated/l milk) was performed on bulk tank milk samples. Information of the technology used for the extraction and distribution of silage, was collected. The sample period starts in autumn 2010, ending in the fall of 2011. The highest loads of spores were found in autumn and winter period, in which the use of silage is maximized. The data was analyzed using multivariate statistical INFOSTAT. The results indicate association between the variables: NMP spores/g of faeces and silage extraction, and NMP spores/g faeces and silage distribution, considering the dairy and time of year variables. Independence between the variables fermentative quality of silage and NMP of spores/g in faeces, was found. The silos generally were considered of good quality, leading to the conclusion that the greatest risk of contamination occurred during the extraction and distribution of silage. It would be necessary to improve the training of producers and operators in relation to these processes. When the values were higher in faeces (NMP > NMP 40.000 spores/g faeces), high levels of contamination in milk, was observed. *Key words: Clostridium spores; Silage; Extraction and distribution technology.*

INTRODUCCIÓN

Las bacterias formadoras de esporas pueden sobrevivir a los tratamientos de procesamiento de alimentos. En la industria láctea, las especies *Bacillus* y *Clostridium*

determinan la calidad y vida útil de una gran variedad de productos lácteos.

La contaminación de la leche con esporas de *Clostridium butyricum* y *tyrobutyricum*, generadoras de gas butírico, resulta un riesgo en relación al defecto de hinchazón

tardía en quesos, siendo los más susceptibles, los quesos de pasta dura y semidura, como el Emmental, Gouda, Gruyere, Edam, Grana, Provolone y los quesos procesados (trozados y envasados). *Clostridium tyrobutyricum* es capaz de sobrevivir a la pasteurización, y crecer durante el proceso de maduración de los quesos, originando defectos de sabor y excesiva formación de gas.

El nivel de contaminación de la leche con clostridios dependerá del número de esporas presentes en el forraje usado en la alimentación de las vacas, del medio ambiente que rodea a la sala de ordeño y de las condiciones de higiene durante el mismo (2, 3, 4). Se han asociado además serias alteraciones en la salud de los animales cuando el alimento que consume el rodeo lechero posee alta carga de esporas.

La norma NEN 6877 describe un método de determinación de bacterias formadoras de esporas generadoras de ácido butírico en la leche, según la determinación del número más probable (NMP).

Considerando los límites de cantidad de esporas en leche que pueden causar defectos de hinchazón en algunos quesos semiduros y duros, según los criterios aplicados en Italia: < 200 NMP esporas/L “ausencia de hinchazón”; 200 a 1000 NMP esporas/L “algunos casos de hinchazón”; 1000-4000 NMP esporas/L “hinchazón muy difundida”. Para la industria láctea el objetivo es tener menos de 200 NMP esporas productoras de ácido butírico/litro de leche cruda recibida en industria.

Los principales causales de riesgo en el tambo han sido analizados por varios investigadores, encontrando diversos factores relacionados con la producción y la confección del silaje. Igualmente importante, es el control de la calidad de los alimentos que

componen la ración mixta que consumen las vacas en lactancia, la tecnología de manejo del alimento (distribución y suministro), la higiene del ambiente del tambo (sala de ordeño y piquetes), el alojamiento de las vacas lecheras, los equipos de ordeño y las prácticas de ordeño.

El silaje es una fuente significativa de contaminación de la leche cruda con esporas, lo cual es confirmado en varios estudios realizados (7, 8). La intensificación de la producción lechera genera mayor uso de este recurso forrajero. Cuando éste es de baja calidad, contribuye a la contaminación de la leche con bacterias formadoras de esporas del género *Clostridium* (7).

Si bien el suelo es el hábitat primario de las esporas de clostridios, se encuentran también en el tracto intestinal de los animales debido a la ingestión de forraje contaminado con tierra, en particular de forraje conservado en forma de silo, siendo excretados posteriormente junto con las heces. La contaminación indirecta, a través de las heces es considerada la principal vía de incorporación de esporas en la leche. La transmisión a la leche se produce por contaminación cruzada, a través de la suciedad que contenga estas esporas (heces, tierra, barro, etc.) a los pezones (1). El riesgo de contaminación se incrementa significativamente con el aumento del número de esporas en las heces de las vacas (8).

El ensilaje es una técnica de preservación de forraje que se logra por medio de una fermentación láctica espontánea bajo condiciones anaeróbicas. Los silajes inestables anaeróbicamente generalmente presentan una caída lenta del pH, aumento de la temperatura y se crea un ambiente óptimo para que germinen las esporas. Estos silajes muestran alto contenido de ácido butírico, de amoníaco y aminas (6,9). Por

otro lado, los clostridios muestran mayor susceptibilidad a la falta de humedad; por ello, toda medida tomada para aumentar el valor del contenido de materia seca, permite la inhibición selectiva de clostridios (13).

La producción del silo involucra varias etapas encadenadas, desde que se cortan las plantas para ensilar, la recolección, el picado, la confección, el almacenamiento. Durante el almacenamiento, pequeñas cantidades de aire penetran en el silo. Los cálculos indican que en un año de almacenamiento, el oxígeno puede penetrar hasta una profundidad de 0,2 m desde la parte superior del mismo (5).

Se obtienen silos de mala calidad cuando existen condiciones predisponentes para la proliferación de microorganismos que provocan fermentaciones indeseables. Indicadores químicos y fermentativos como el porcentaje de materia seca, pH, nitrógeno amoniacal y nitrógeno insoluble en detergente ácido, permiten caracterizar la calidad de los mismos. Los forrajes con menor proporción de materia seca, requieren pH menores para lograr rápidamente la estabilidad anaeróbica del silo.

Cuando el silaje ofrecido está muy contaminado, se encontrará normalmente una alta cantidad de esporas en las heces (8). Con niveles de contaminación del silaje mayores a 5 log (10) Bacterias Ácido Butírico /g, no debería ser ofrecido a las vacas en lactancia, ya que aun aplicando las mejores técnicas de higiene de los pezones en el ordeño, no se logrará evitar la contaminación de la leche en tanque (7).

En las prácticas de ensilado, por la heterogeneidad del material, difícilmente se logran muestras representativas para el análisis microbiológico, por lo que la determinación del contenido de esporas en las deyecciones luego de 72 horas de con-

sumido el alimento, resulta un parámetro más confiable para estimar la higiene del alimento. La carga de esporas de clostridios en las heces de las vacas lecheras, permite caracterizar el nivel de contaminación de la ración total que consume el ganado, incluyendo la posible contaminación durante la extracción y el suministro (11).

El análisis de una muestra compuesta de heces de al menos 10 vacas seleccionadas al azar, provee resultados representativos y repetibles para la evaluación del nivel de contaminación del alimento en un determinado rodeo (12). Más de 100.000 NMP esporas/g heces implica un riesgo en términos de calidad de la leche y de la salud del animal. Altos niveles de contaminación del alimento determinados a través del análisis de heces (> 40.000 NMP esporas/g de heces), no permiten alcanzar valores bajos de contaminación en leche (< 200 NMP esporas/L), aún con la mejor rutina de ordeño (10).

El objetivo de este trabajo fue analizar el grado de asociación entre la calidad del silo, la extracción y distribución del alimento y la carga de esporas generadoras de gas butírico (*Clostridium*) en heces de vacas en lactancia; y evaluar el grado de contaminación de la leche cruda con esporas generadoras de gas butírico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron nueve establecimientos lecheros ubicados en los Departamentos “Las Colonias” y “San Justo” de la Provincia de Santa Fe, que suministraban silaje de maíz y sorgo (silo bolsa) a las vacas lecheras, la mayor parte del año.

En estos tambos se extrajeron mues-

tras de los silos para determinar la calidad fermentativa, en el Laboratorio de Análisis Químicos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral. Se relevó además, la siguiente información: tecnología utilizada para la extracción de los silos (cierre e integridad de la bolsa), presencia de efluentes y agua en el lugar de extracción; y tecnología aplicada para la distribución del alimento (higiene del lugar donde se ofrece el forraje).

Se tomaron muestras de heces de las vacas en lactancia, y se analizó la carga de esporas gasógenas por el método de NMP; de acuerdo a los estándares Holandeses NEN-ISO-6877-1994, en el Laboratorio del Área de Producción Animal de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Rafaela.

Conjuntamente con el muestreo de las heces se realizó el muestreo de leche en tanque con la finalidad de conocer la posible incidencia de la calidad del alimento que consume el animal como factor de riesgo, sobre la leche que se entrega a la industria. La determinación de microorganismos esporulados anaerobios fermentadores de lactato en leche cruda (NMP esporulados/L leche) a través de los métodos internacionalmente recomendados CNERNA (Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation), se realizó en el laboratorio del INTI LÁCTEOS (Instituto Nacional de Tecnología Industrial - Centro de Investigaciones Tecnológicas de la Industria Lechera) Rafaela.

Calidad de los silos

Procedimientos: Se extrajeron submuestras en diferentes posiciones en la bolsa para mezclar y obtener una muestra compuesta de aproximadamente tres kilos. La toma de muestra se realizó 72 horas antes del consu-

mo y se conservaron a 4 °C hasta su procesamiento en el laboratorio dentro de las 24 horas de extraídas.

Los análisis y métodos utilizados para determinar la calidad fermentativa de los silos sobre base seca fueron:

pH: (acidez) Método potenciométrico con peachímetro Altronix TPA IV, en extractos preparados adicionando 100 mL de agua desmineralizada a 20 g de muestra de silaje y homogenizado por 60 minutos con agitador magnético.

N amoniacal: (expresado como porcentaje de nitrógeno (N) amoniacal sobre N total). Sobre extracto obtenido con 20 g de silaje y 100 mL de agua destilada homogenizado durante 60 minutos con agitador magnético y posterior determinación de N.

NIDA (expresado como N insoluble en detergente ácido sobre N total). En el residuo de la determinación de fibra detergente ácido se analizó el N contenido.

Las determinaciones de N se realizaron por método Kjeldahl, con equipo semiautomático Selecta Pronitro II.

Materia seca: la materia seca de los silos se realizó por secado en estufa a 50 °C con corriente de aire forzado hasta peso contante.

La calidad de los silos fueron clasificados según la Tabla 1, basado en trabajos del INTA, en el cual se presentan los indicadores con los respectivos valores referentes para silaje.

Los silos se categorizaron de la siguiente manera:

Bueno: todos los valores de los indicadores se correspondieron con el deseable.

Regular: uno de los parámetros no coincidió con los deseables.

Malo: más de un parámetro se correspondió con los indicadores de calidad mala.

Tabla1: Indicadores de calidad fermentativa

Indicadores	Mala	Deseable
MATERIA SECA	< 30	>30
pH	> 4	< 4
N AMONIACAL	> 15	< 15
NIDA	> 15	< 15

Tecnología de extracción y distribución del silaje

La información obtenida sobre estas etapas de la cadena se realizó a través del uso de planillas confeccionadas para tal fin. Para la evaluación se definieron tres categorías: BUENA-REGULAR-MALA, utilizando el siguiente criterio:

Categorías de extracción

Buena:

Silo bolsa sin roturas. Cara expuesta cerrada, con estructura de ayuda (postes, varillas, etc.).

No se observa agua o efluentes del silo en el lugar de extracción.

Regular:

Silo bolsa sin roturas. Cara expuesta cerrada, sin estructura para el cierre (postes, varillas, etc.).

Se observa moderada cantidad de efluentes del silo en el lugar de extracción.

Mala:

Silo bolsa con roturas. Cara expuesta abierta.

Abundante cantidad de agua y efluentes del silo en el lugar de extracción.

Categorías de distribución

Buena:

Comederos en los cuales el alimento no está en contacto con el suelo.

No hay residuos de alimentos de suministros anteriores.

Sector de distribución en lugar alto, no utilizado como nochero, con muy baja concentración de barro y bosta y con rotación diaria.

Se desecha la fracción de silaje que muestra evidentes características indeseables.

Regular:

Comederos en los cuales el alimento está en contacto con el suelo. Hay residuos de alimentos con evidente deterioro en el sector de distribución.

Sector de distribución con baja concentración de barro y bosta, y con rotación periódica.

Mala:

Comederos en los cuales el alimento está en contacto con el suelo. Hay muchos residuos de alimentos de silaje con evidente deterioro en el sector de distribución.

Elevada concentración de barro y bosta mezclados con el alimento ofrecido. No se rota periódicamente el lugar de ofrecimiento.

Sector de distribución utilizado normalmente como nochero.

Se ofrece a las vacas lecheras el silaje, con evidentes características indeseables.

Heces de vacas en lactancia

Procedimientos: Las muestras de materia fecal de vacas en lactancia fueron tomadas 72 horas después de haber consumido el silaje. Se formó una muestra compuesta de materia fecal, con muestras de heces frescas de 10 vacas en lactancia, con la precaución de no raspar el suelo o incorporar tierra u otro material a la muestra. Se cerró la bolsa de manera hermética y se introdujo en una conservadora con refrigerantes para mantenerlas a la temperatura más baja posible.

Se compararon los resultados de los análisis del número de esporas de clostridios gasógenos presentes en heces, con los criterios del nivel de contaminación utilizados en Francia: Poco contaminada: menos de 10.000 esporas/g- Contaminada: 10.000 a 40.000 esporas/g- Muy contaminada: más de 40.000 esporas/g. Las actividades de muestreo y recopilación de información se realizaron en otoño, invierno y primavera del año 2010, y se repitieron con idéntico procedimiento durante el verano y otoño de 2011.

Nivel de contaminación de leche en tanque

Procedimientos: Las muestras se tomaron del tanque de frío, una vez almacenado los dos ordeños diarios, antes que sean retirados por el transporte de la empresa láctea y 72 horas después del consumo del alimento. Se realizó con el agitador funcionando para conseguir una muestra representativa, se colectó con elementos higienizados y se transfirió a un recipiente apropiado, limpio

y seco, debidamente rotulado para su identificación. Se transportó manteniendo la cadena de frío (temperaturas próximas a 4°C) y se envió al laboratorio para su posterior análisis.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente con el programa de estadística multivariada INFOSAT, ordenando variables no continuas, categorizadas, utilizando técnicas estadísticas exploratorias que utilizan distribuciones chi-cuadrado, que demuestran si existen o no asociaciones entre las variables. Se relacionaron los resultados de contaminación con clostridios en heces y tecnología de extracción del alimento, considerando las variables tambos y época del año. Se evaluó si existe asociación o no entre las variables NMP de esporas/g de heces, la distribución del alimento y la calidad del silo; considerando de la misma manera las variables tambo y época del año.

Se compararon los resultados del número de esporas de clostridios gasógenos presentes en la leche, con los criterios del nivel de contaminación utilizados en Italia: Ausencia de hinchazón: menos de 200 NMP esporas/litro- Algunos casos de hinchazón: 200 a 1.000 NMP esporas/litro- Hinchazón muy difundida: mayor a 1.000 NMP esporas/litro; durante el período 2010-2011.

RESULTADOS

Calidad fermentativa de los silos

Del análisis de silos de los nueve tambos, resultó: seis de los silos muestreados fueron clasificados como buenos, sólo uno se consideró malo, y dos fueron clasificados como regulares.

Tecnología de extracción y distribución del silaje

Según la categorización definida, se encontró que en un solo tambo la extracción fue buena, en seis fue regular y en dos fue pobre. En cambio, la distribución se presenta como buena en tres de los tambos, mientras que se clasifica como regular en dos de los establecimientos y como pobre en cuatro de los tambos bajo estudio.

Contaminación del alimento (esporas/g heces)

Según la valoración utilizada en Francia, en relación a la contaminación (NMP esporas/g heces), se observan en la Figura 1 los niveles encontrados en las muestras tomadas en los nueve tambos, en las distintas estaciones durante el año 2010 y 2011.

Los establecimientos utilizaron silos de maíz y sorgo en las estaciones de otoño 2010 y 2011 e invierno y primavera 2010, a excepción de los tambos 2 y 9 que utilizaron silo todo el año; y en los tambos 8 y 3 no se utilizó en primavera; en este último tampoco se ofreció en otoño 2011.

Los resultados del análisis de las muestras de heces (NMP esporas/g heces) de cada tambo estudiado, se detallan en la Figura 2, donde se observan elevadas cargas de esporas en las estaciones de otoño e invierno, coincidiendo con el periodo del año en el que la utilización de silaje se maximiza. Los valores más bajos de contaminación se registran en las estaciones de primavera y verano, con excepción de un tambo, que presenta su máximo valor de contaminación en primavera.

Contaminación de la leche (esporas/L leche)

En la Figura 3, se muestra el porcentaje de muestras de leche contaminadas por estación y en la Figura 4, se observa la varia-

ción de los resultados de análisis de NMP esporas/L de leche de los tambos.

El análisis estadístico chi-cuadrado Pearson resultó menor al nivel de significación de 0.05, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula de independencia, aceptando la asociación entre las variables. De la misma manera ocurre con el estadístico corregido por el efecto estrato (época del año), donde éste resultó ser menor al nivel de significación.

Los resultados del análisis estadístico para evaluar el grado de asociación entre las variables demuestran:

- Asociación entre las variables NMP de esporas /g de heces y la extracción del alimento (Tabla 2).

- Asociación entre las variables NMP esporas/g heces y la tecnología de distribución del alimento (Tabla 3).

El nivel de contaminación inicial de los silos almacenados. La tecnología aplicada en la cosecha, confección y almacenamiento del forraje ensilado, permitió en la mayoría de los tambos lograr silos considerados de buena calidad.

Las observaciones estandarizadas a través de una planilla que permite la clasificación objetiva de la tecnología empleada para los procesos de extracción y distribución del alimento, así como los resultados obtenidos, permiten deducir que los mayores riesgos de contaminación se produjeron durante la extracción y distribución del silaje.

Es necesario mejorar el nivel de capacitación de productores y operarios en el empleo de las buenas prácticas en relación a la tecnología empleada para la extracción y distribución del silaje a las vacas en producción.

El análisis del NMP de esporas en heces, se considera una herramienta valiosa

para la evaluación del nivel de contaminación de los alimentos consumidos por las vacas en lactancia y un punto de control en la cadena, para minimizar el riesgo de contaminación de la leche a través de la suciedad de las vacas (1,8).

Coincidentemente con otros autores, aun empleando la mejor rutina de ordeño (11) cuando los niveles de contaminación del alimento, determinados a través del análisis de heces, son muy altos (> 40000 NMP esporas/g de heces), no se logran valores bajos de contaminación en leche.

Fig. 1: Porcentaje de muestras de heces contaminadas por estación (2010-2011).

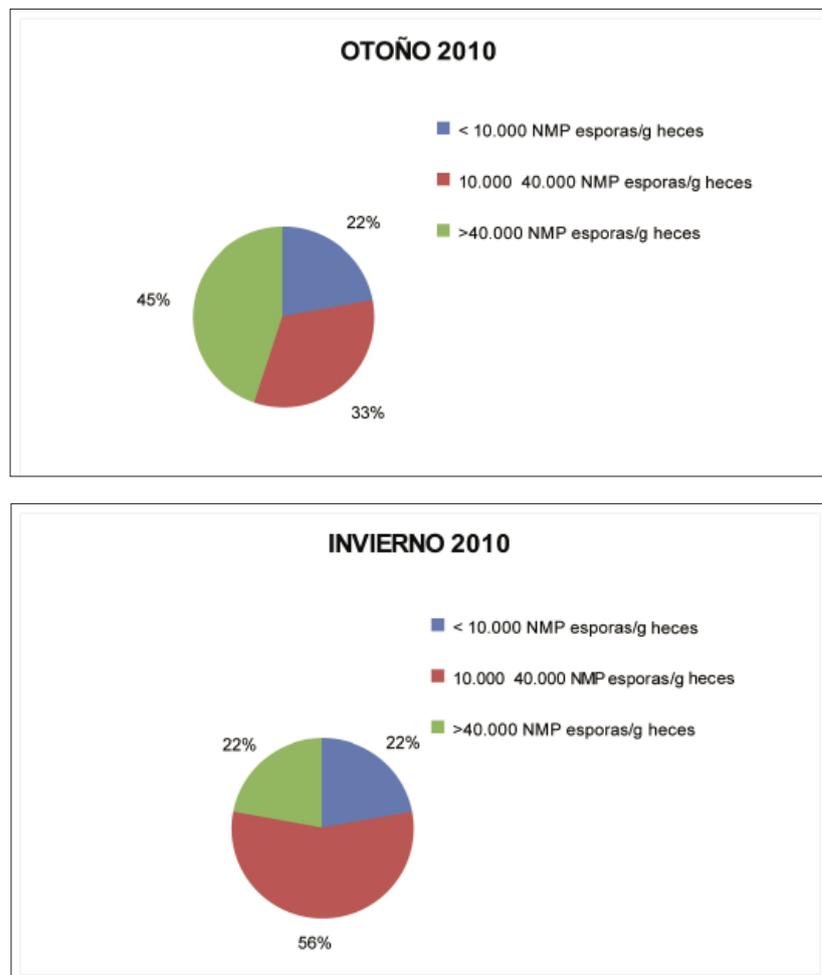


Fig. 1: Continuación.

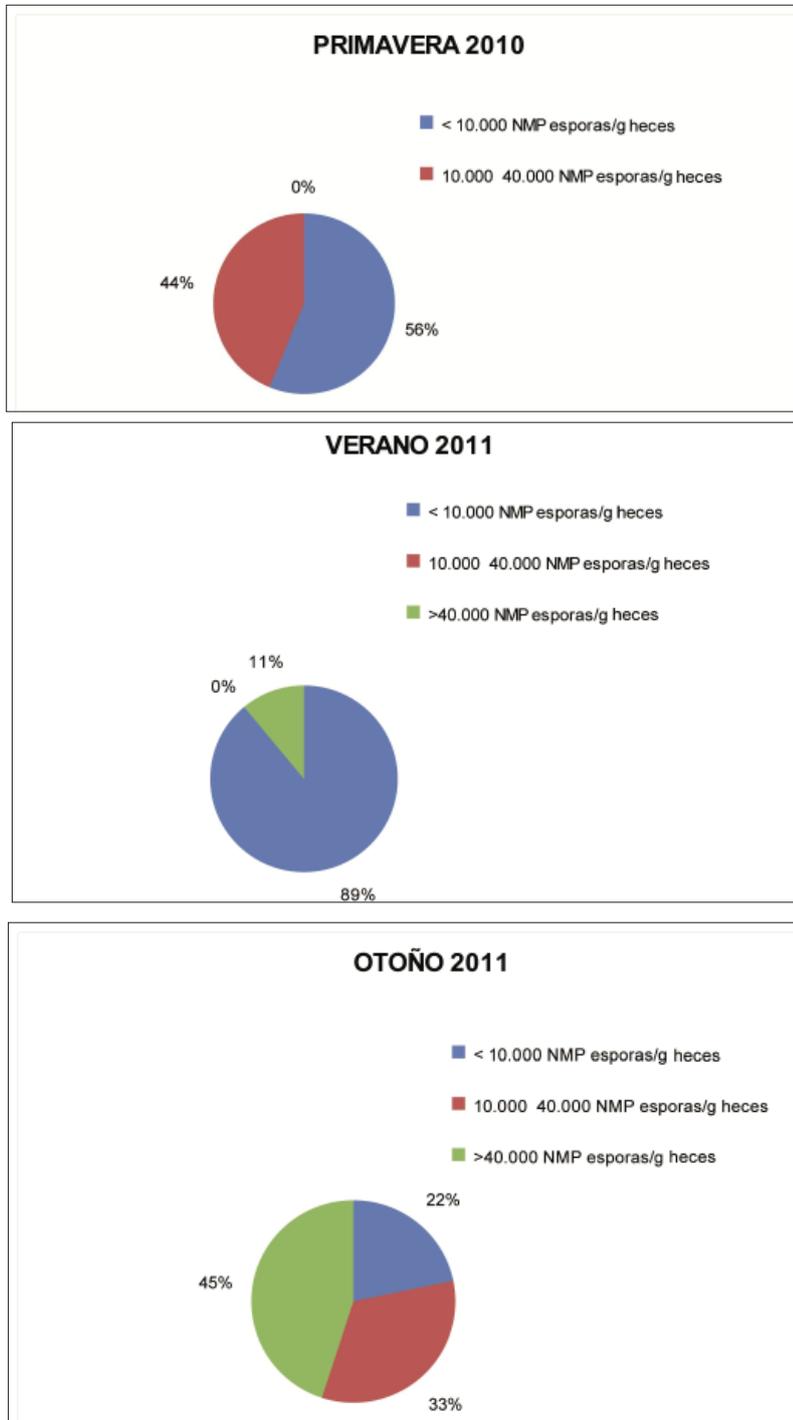


Fig. 2: Variación de los resultados de análisis de NMP esporas/g de heces de los tambos.

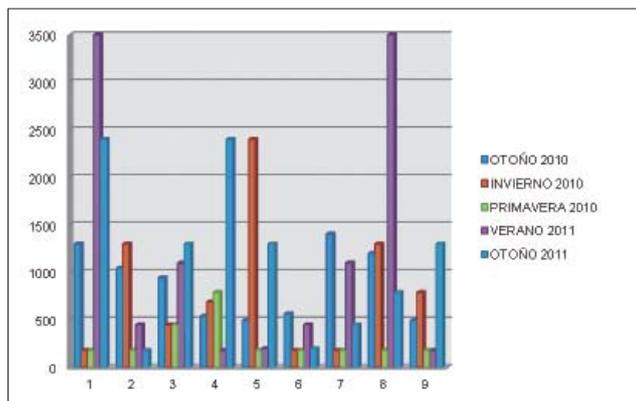


Fig. 3: Porcentaje de muestras de leche contaminadas por estación (2010-2011).

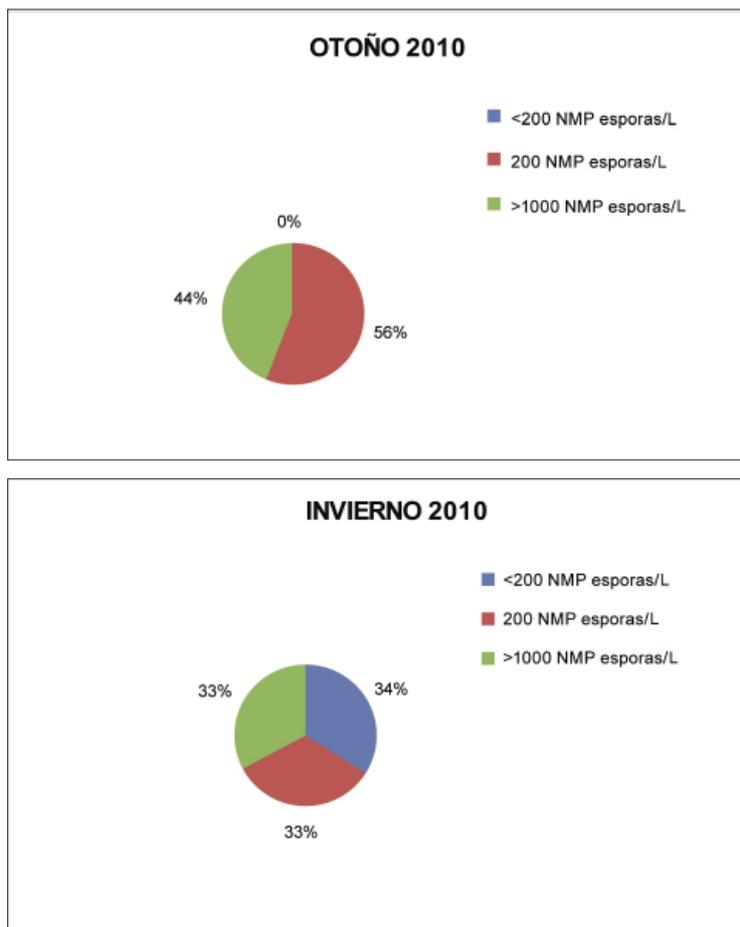


Fig. 3: Continuación.

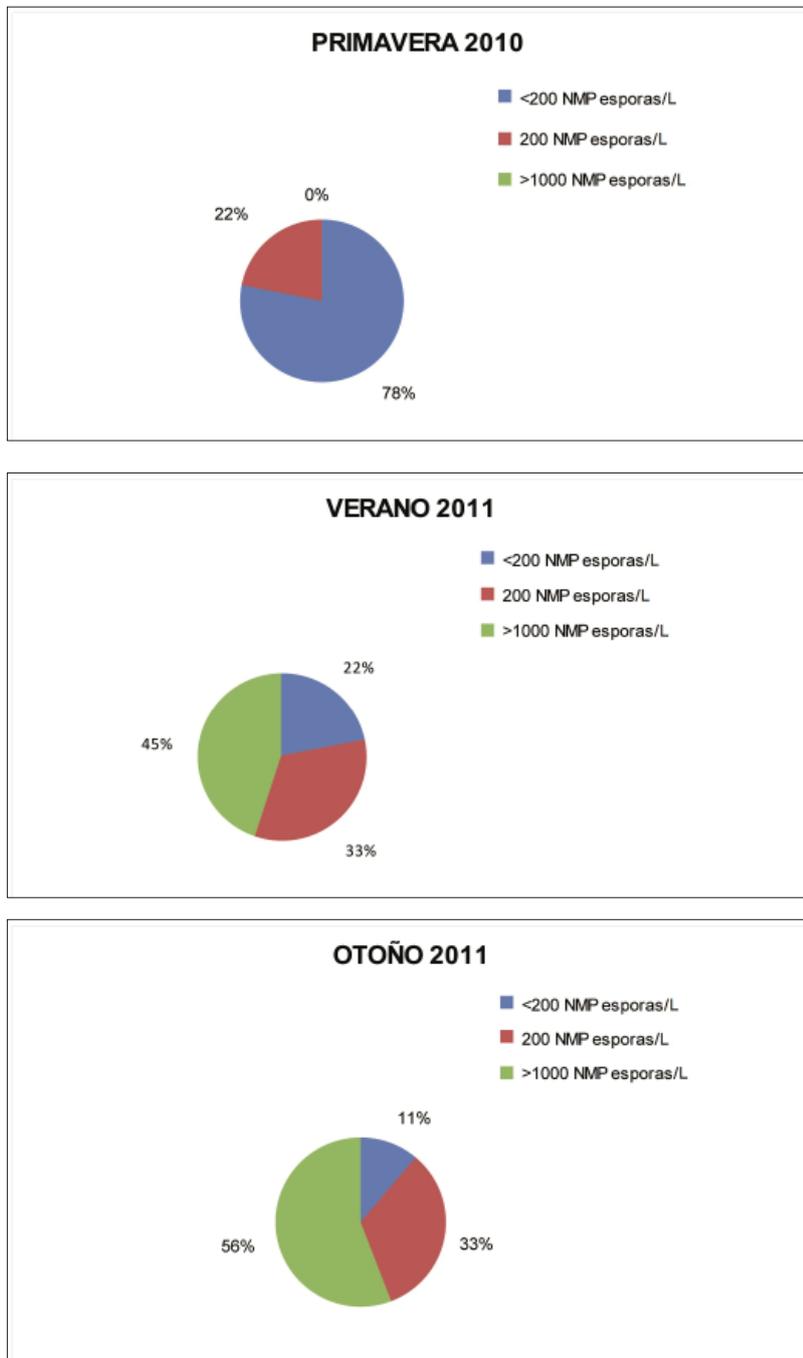


Fig 4: Variación de los resultados de análisis de NMP esporas/L de leche de los tambos.

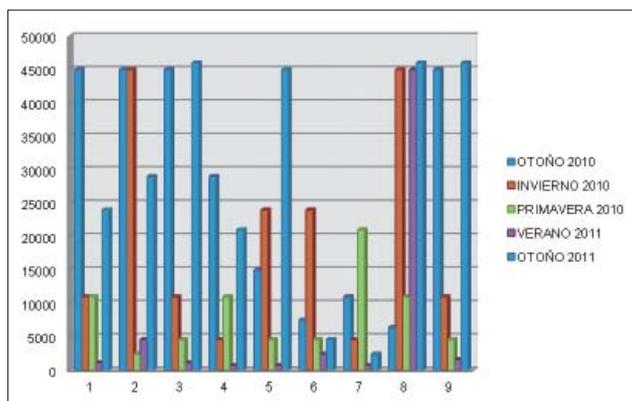


Tabla 2: Estadísticos para la tabla marginal

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	90,00	50	0,0004
Chi Cuadrado MV-G2	76,38	50	0,0095
Coef.Conting.Cramer	0,82		
<u>Coef.Conting.Pearson</u>	0,82		

Estadísticos corregidos por efecto de estrato

Prueba de Cochran-Mantel-Haenszel

Estadístico	gl	p
80,00	50	0,0045

Tabla 3: Estadísticos para la tabla marginal.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	90,00	50	0,0004
Chi Cuadrado MV-G2	95,48	50	0,0001
Coef.Conting.Cramer	0,82		
<u>Coef.Conting.Pearson</u>	0,82		

Estadísticos corregidos por efecto de estrato
Prueba de Cochran-Mantel-Haenszel

Estadístico	gl	p
80,00	50	0,0045

Tabla 4: Estadísticos para la tabla marginal.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	62,34	50	0,1131
Chi Cuadrado MV-G2	51,21	50	0,4260
Coef.Conting.Cramer	0,68		
<u>Coef.Conting.Pearson</u>	0,76		

Estadísticos corregidos por efecto de estrato
Prueba de Cochran-Mantel-Haenszel

Estadístico	gl	p
44,38	50	0,6974

AGRADECIMIENTOS

Expresamos un especial agradecimiento a las industrias lácteas y productores lecheros que han participado en este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **BERGERE, J. L.; GOUET P.; HERMIER, J.; MOCQUOT, G.** 1968. Les Clostridium du groupe butyrique dans les produit laitiers. Ann.Inst. Pasteur 19:41-54.
- 2.- **BERTILSSON, J.; LINGVALL, P.; GYLLENSWÄRD, M.** 1996. Factors affecting the contamination of bulk milk with clostridia spores. Symposium on bacteriological quality of raw milk. Wolfpassing, Austria: 33-35.
- 3.- **COUSI, G.** 1988. Butyriques et fermentation butyrique. Dossiers Techniques Veterinaires (Juillet): 75-96.
- 4.- **HENRY, A.** 1977. Facteurs influençant la contamination du lait par les spores butyriques. Revue Laitère Française N° 35081: 81-83.
- 5.- **MCGECHAN, M.B.; WILLIAMS, A.G.** 1994. A model of air infiltration losses during silage storage. J. Agric. Eng. Res. 57, 1994: 237-249.
- 6.- **MCPHERSON, H.T.; VIOLANTE, P.** 1966. Ornithine, putrescine and cadaverine in farm silages. J. Sci. Food Agr., 17: 124-127.
- 7.- **VISSERS, M. M. M.; DRIEHUIS, F.; TE GIFFEL, M. C.; DE JONG, P. Y LANKVELD, J. M. G.** 2006. Improving Farm Management by Modeling the Contamination of Farm Tank Milk with Butyric Acid Bacteria. J. Dairy Sci. 89:850-858.
- 8.- **VISSERS, M. M. M.; DRIEHUIS, F.; TE GIFFEL, M. C.; DE JONG, P.; LANKVELD, J.M.G.** 2007. Concentrations of Butyric Acid Bacteria Spores in Silage and Relationships with Aerobic Deterioration. J. Dairy Sci. 90:928-936.
- 9.- **VOSS, N.** 1966. Über die Amin- und Ammoniakbildung im Garfutter. Das wirtschaftliche Futter, 12: 161-171.
- 10.- **WEISSBACH, F.** 1997. Qualitäts-Management-System für die Erzeugung von Milch mit geringstmöglichem Gehalt an Clostridien-Sporen. Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 18, 59-65.
- 11.- **WEISSBACH, F.; KÖLLER, S.** 1989. Silagequalität und Clostridien-Sporen in der Milch. Tierzucht 43, 383-385.
- 12.- **WEISSBACH, F.; PAHLOW, G.; KALZENDORE, C.** 1993. Der Clostridien-Sporengehalt des Rinderkotes als Kriterium der Fütterungshygiene bei Milchkühen. 105. LUFAKongress, Hamburg, 389-392.
- 13.- **WIERINGA, G.W.** 1958. The effect of wilting on butyric acid fermentation in silage. Neth. J. Agr. Sci., 6: 204-210.