VALORACION DE METODOS DE RECUENTO CELULAR EN LECHE DE OVEJA

J. R. Martínez, C. Gonzalo, y F. San Primitivo

Dpt. Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Univ. León. 24071-León.

Introducción

El recuento de células somáticas de la leche constituye un indicador indirecto del estado sanitario de la ubre, de gran interés para el desarrollo de estrategias de prevención de mamitis subclínicas. Aunque los principales métodos de recuento celular de la leche (microscopía directa, Coulter counter y Fossomatic) han sido perfectamente estandarizados en la leche de vaca (Schmidt, 1975; IDF, 1984), existe muy poca información sobre su aplicación específica en la leche de oveja (Gonzalo *et al.*, 1993). La presencia de material extracelular membranoso, restos nucleares y fragmentos celulares, descritos en la leche de oveja (Schalm *et al.*, 1971; Lee y Outteridge, 1981; Peris *et al.*, 1993) aconsejan una amplia contrastación entre métodos de recuento en esta especie. En este estudio se contrasta el método de recuento fluoro-opto-electrónico (Fossomatic) frente a tres tinciones diferentes del método microscópico directo.

Material y métodos

Un total de 35 muestras individuales de leche de oveja fueron analizadas dentro de las 24 horas post-recogida, tanto por el método fluoro-opto-electrónico como por microscopía directa (3 tinciones diferentes). Las muestras de leche representan un amplio rango de recuento que varía desde 10×10^3 hasta 20×10^6 células/ml.

El método fluoro-opto-electrónico se ajustó estrictamente a la metodología recomendada por la IDF (1984), y fué realizado en un aparato Fossomatic 90 (Foss Electric, Hilerod, Dinamarca). Todas las muestras fueron procesadas por duplicado.

En el método microscópico directo también se siguió la metodología IDF (1984), realizándose seis extensiones de 10 µl por centímetro cuadrado para cada una de las muestras, dos de las cuales fueron teñidas con azul de metileno (IDF, 1984), otras dos con May-Grünwald-Giemsa (Gonzalo *et al.*, 1983, 1993) y las dos restantes con pyronin y-verde metilo (Paape *et al.*, 1963). En todos los métodos microscópicos se realizó el recuento diferencial entre células somáticas y de partículas citoplasmáticas de la leche. El factor de trabajo fué siempre de 2300 (recuento de 165 campos/extensión).

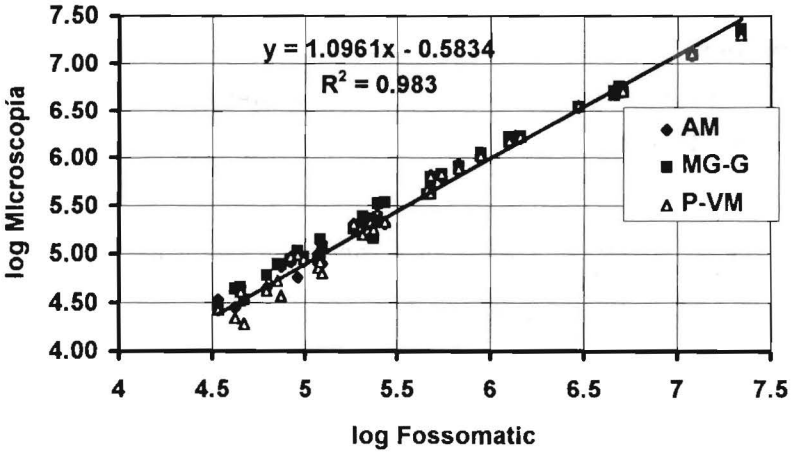
Resultados y discusión

Los valores medios de los logaritmos de los recuentos celulares y de las partículas citoplasmáticas en cada uno de los métodos y modalidades de recuento se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores medios (X) y errores estandar (ES) del recuento de células somáticas y de las partículas citoplasmáticas, en cada uno de los métodos y modalidades de recuento: Azul de metileno (AM), May-Grünwald-Giemsa (MG-G) y Pyronin -y-verde metilo (P-VM).

			Microscopía directa					
Variable	Fossomatic		AM		MG-G		P-VM	
	X	ES	X	ES	X	ES	X	ES
$\log_{10}$ células/ml	5.56	0.12	5.50	0.14	5.58	0.13	5.51	0.14
$\log_{10}$ partículas/ml	-	-	4.11	0.07	4.21	0.07	4.21	0.08

Figura 1. Recta de regresión y coeficiente de determinación resultantes de la comparación entre el método Fossomatic y el método microscópico directo con tres tinciones diferentes: Azul de metileno (AM), May-Grünwald-Giemsa (MG-G) y Pyronin Y-verde metilo (P-VM).



Estos valores corresponden a medias geométricas de 359, 318, 377 y 320 x 10^3 células/ml, para los métodos Fossomatic, microscópico con tinción azul de metileno (AM), microscópico con May-Grünwald-Giemsa (MG-G), y microscópico con pyronin-y-verde metilo (P-VM), y a 13, 16 y 16 x 10^3 partículas/ml para las tres últimas tinciones del método microscópico, respectivamente.

Adicionalmente, la Figura 1 muestra la recta de regresión entre los recuentos celulares de las muestras individuales de leche de oveja determinadas comparativamente por los métodos Fossomatic y microscópico con sus tres tinciones. El elevado valor del coeficiente R^2 indica qué proporción de la varianza entre muestras estimada por uno de ambos métodos, es explicada por el otro. El 2% residual puede ser atribuido a errores de medición.

Estos resultados evidencian un alto grado de fidelidad y de precisión entre los métodos Fossomatic y microscópico directo en la leche de oveja, si bien la exactitud de la media entre ambos parece ligeramente mejorada utilizando la tinción de May-Grünwald- Giemsa. La tinción azul de metileno presenta similares resultados a los de la tinción pironin y-verde metilo, la cual aunque resulta más específica en la diferenciación entre células somáticas y partículas citoplásmicas, ofrece, sin embargo, inconvenientes de otra índole como su elevada toxicidad y su mayor coste económico, razones que pueden desaconsejar su utilización rutinaria en la contrastación del Fossomatic. Finalmente, la escasa presencia de partículas citoplásmicas en la leche de oveja no parece incidir de forma importante sobre la precisión de los métodos de recuento.

Agradecimientos

Este artículo ha sido desarrollado dentro del Proyecto Nº FAIR1-CT95-0881 financiado por la Comunidad Europea.

Bibliografía

Gonzalo C., y V. Gaudioso. (1983). *III Symp. Int. Ordeño Mecánico Pequeños Rumiantes*, Valladolid, España: 268-275.

Gonzalo C., J.A. Baro, J.A. Carriedo, y F. San Primitivo. (1993). *J. Dairy Sci. 76*: 115-119.

International Dairy Federation. (1984). Doc. no. 168, Int. Dairy Fed. Brussels, Belgium.

Lee Ch-S., y P. M. Outteridge. (1981). *J. Dairy Res., 48*: 225-237.

Paape M.J., H.D. Hafs, y W. Snyder. (1963). *J. Dairy Sci. 46*: 1211-1216.

Peris, C., J.R: Diaz, N. Fernández. (1993). *Proc. 5th Int. Symp. Machine Milking Small Ruminant*, Budapest, Hungary: 146.

Schalm O.W., E. J. Carroll, y N.C. Jain. (1971). Bovine Mastitis. Lea and Febiger, Philadelphia, PA.

Schmidt, P. (1975). *J. Dairy Res., 42*: 227-239