

## Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda por métodos de flujo citométrico

### Evaluation of the hygienic-sanitary quality of raw milk by flow cytometric methods



<http://opn.to/a/aHmUY>

Dianys Remón-Díaz <sup>1</sup>, Dayaimi González-Reyes <sup>1</sup>, Ailin Martínez-Vasallo <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ensayos para el Control de la Calidad de los alimentos (CENLAC). Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, CP 32 700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

**RESUMEN:** El desarrollo y la aplicación de modernos equipos en los sistemas de pago por calidad del sector lácteo mundial contribuyen a la mejora de la calidad de la materia prima y de los productos lácteos. El BactoScan FC® y el Fossomatic Minor™ son equipos automatizados que miden la calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda por citometría de flujo con una confiabilidad demostrada. En Cuba, se tiene establecido un umbral mínimo para la calidad higiénico-sanitaria mediante la prueba de reducción del azul de metileno (TRAM) y el conteo cualitativo de células somáticas (CMT). El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda por los equipos BactoScan FC® y Fossomatic Minor™ y su relación con los métodos convencionales TRAM y CMT, establecidos en el sistema de pago por calidad. Para ello se analizaron 1 540 muestras de leche cruda de tanque, por los métodos automatizados y los convencionales. Los resultados mostraron que, para los parámetros de calidad higiénico-sanitaria, el 83 % y 87,5 %, respectivamente de las muestras analizadas, se encontraban por encima del parámetro de especificación establecido por la Federación Internacional de Lechería. Existe una elevada correlación entre los resultados obtenidos por los métodos automatizados y los empleados para el pago de la calidad de la leche. Los equipos evaluados en este estudio pueden ser una alternativa a utilizar en el sistema de pago por calidad de la leche cruda en Cuba porque brindan resultados en menor tiempo y con mejor precisión.

**Palabras clave:** bacterias individuales, células somáticas, BactoScan FC®, Fossomatic Minor™, leche, pago por calidad.

**ABSTRACT:** The development and application of modern equipment in the quality based raw milk payment system of the world dairy sector contribute to the improvement of the quality of the raw material and dairy products. BactoScan FC® and Fossomatic Minor™ are automated equipment that measure the hygienic-sanitary quality of raw milk by flow cytometry with proven reliability. In Cuba, a minimum threshold for the hygienic-sanitary quality has been established through the Methylene Blue Reduction (TRAM) test and the qualitative somatic cell count (CMT). The objective of this work was to evaluate the hygienic-sanitary quality of raw milk by BactoScan FC® and Fossomatic Minor™ equipment and their relationship with the conventional TRAM and CMT methods, established in the quality payment system. For this, 1,540 samples of raw milk from the tank were analyzed by automated and conventional methods. The results showed that, for the hygienic-sanitary quality parameters, 83 % and 87.5 % of the samples analyzed were above the specification parameter established by the International Dairy Federation. There is a high correlation between the results obtained by the automated methods and those used to pay for the quality of the milk. The equipment evaluated in this study can be an alternative to be used in the quality based raw milk payment system in Cuba because they provide results in less time and with better precision.

**Key words:** Individual bacteria, somatic cells, BactoScan FC®, Fossomatic Minor™, milk, payment for quality.

\*Autor para la correspondencia: Ailin Martínez-Vasallo. E-mail: [ailin@censa.edu.cu](mailto:ailin@censa.edu.cu)

Recibido: 05/11/2018

Aceptado: 05/01/2019

## INTRODUCCIÓN

La calidad higiénico-sanitaria es un parámetro importante para el pago de la leche y es uno de los indicadores de mayor exigencia en las legislaciones de cada país. Este criterio redundó en un progreso neto de la calidad de la leche entregada a la industria por los productores cuando se unen a sistemas de pago por calidad. Los sistemas de pago por calidad se sustentan en un muestreo representativo y avalado por resultados confiables de los laboratorios. Actualmente, los métodos oficiales que se utilizan en la mayoría de los países para el control de la calidad de la leche brindan ventajas como son la sensibilidad, la simplicidad y los bajos costos. Sin embargo, estos no compensan sus principales desventajas, como son las respuestas en periodos largos de tiempo, trabajo laborioso y la difícil automatización (1). Las desventajas antes mencionadas generaron el desarrollo de los métodos rápidos para minimizar pasos operacionales y los tiempos de espera para la obtención de los resultados, es decir, métodos de análisis más rápidos, económicos y validados (2,3).

Los ensayos de reducción de colorantes, como el TRAM, se utilizaron ampliamente en las pasadas décadas para determinar la clasificación higiénica de la leche cruda, indicador fundamental para los sistemas de pagos por calidad (4). El TRAM es una prueba para leche caliente, los microorganismos psicrófilos y los productores de mastitis son muy pocos reductores del azul de metileno y no se tendrán en cuenta para este método. Esta técnica varía según el número y la actividad metabólica de los microorganismos que predominan en la leche, mientras más tiempo demore la leche en decolorarse mejor calidad higiénica tendrá (5).

El análisis cualitativo para detectar células somáticas en leche se usa para la detección de la mastitis. Es un método indirecto que permite estimar la cantidad de ácido desoxirribonucleico (ADN) de las células nucleadas de la leche. El ADN libre forma una masa gelatinosa que aumenta la consistencia proporcionalmente al número de leucocitos presentes en la leche. Se considera un método confiable para determinar la mastitis subclínica de una forma rápida durante el

ordeño y tiene una alta correlación con el recuento de células somáticas en la ubre (6,7).

Para determinar la calidad higiénico-sanitaria de la leche existen métodos automatizados que cuantifican el número de células y bacterias individuales (8). Estos métodos comenzaron a desarrollarse en la primera mitad del siglo XX, con la introducción de los citómetros de flujo. La citometría de flujo es una técnica analítica reconocida por la Federación Internacional de Lechería (FIL). Se basa en la tinción de las células con un tinte fluorescente; los componentes de la leche se reducen y se dispersan mediante tratamiento químico para que las células puedan ser contadas. Un detector fluorescente detecta la luz emitida por las células cuando pasa una capa fina de la muestra a través del flujo celular debajo del detector. Los pulsos de luz se convierten en pulsos electrónicos y se cuentan como el número de células somáticas o bacterias individuales por mililitro (9,10).

El Laboratorio de Ensayo para el Control de la Calidad de los alimentos (CENLAC) funciona como laboratorio de referencia en Cuba para la calidad de la leche. Como parte de su trabajo se encuentra el control del cumplimiento de los requisitos higiénico-sanitarios y de inocuidad de la leche y los derivados lácteos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda por los equipos BactoScan FC® y FossomaticMinor™ y su relación con los métodos convencionales TRAM y CMT establecidos en el sistema de pago por calidad en Cuba.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo se realizó en Cooperativas de Créditos y Servicios pertenecientes a pequeños productores y en vaquerías estatales ubicadas en la provincia La Habana. La raza predominante (60 %) fue Siboney de Cuba; los animales fueron sometidos a una rutina diaria de ordeño mecánico, en el caso de las vaquerías estatales, y ordeño manual en las Cooperativas de Créditos y Servicios. Se recolectaron 1 540 muestras de leche cruda de tanque, en las dos primeras horas después de finalizado el ordeño, por personal técnico del CENLAC, según lo descrito en la Norma ISO 707/ IDF 050: 2008 (11). Se depositaron en frascos estériles de 500 mL,

previamente identificados y trasladados al laboratorio a temperatura entre 4 y 6°C, se aseguró que el análisis se efectuara dentro de las cuatro horas posteriores a su llegada. Las muestras se subdividieron en dos partes en una cabina de seguridad biológica (FASTER), 250 mL para realizar los ensayos automatizados y los 250 mL restantes se utilizaron para las determinaciones de TRAM y CMT. Cada método de ensayo se realizó por duplicado, acorde con los requisitos que establece la norma NC-ISO 7218: 2008 (12).

### Indicadores microbiológicos

El análisis de bacterias individuales por citometría de flujo mediante el BactoScan FC® se realizó según la norma ISO 21187 (IDF 196): 2001 (13); el análisis del tiempo de reducción del azul de metileno se efectuó según lo descrito en la norma NC 282: 2006 (14).

El conteo de células somáticas en el equipo FossomaticMinor™ se realizó según la norma ISO 13366-2/ IDF 148-2 2006 (15) y el análisis cualitativo para determinar células somáticas en leche se hizo acorde a la norma NC 118: 2001 (16).

### Análisis y tratamiento estadístico de los resultados

Los resultados se tabularon y procesaron estadísticamente para determinar las medias de los recuentos de bacterias individuales y células somáticas por niveles de contaminación. Para relacionar los métodos automatizados (BactoScan FC® y Fossomatic Minor™) con los convencionales (TRAM y CMT) se empleó el análisis de correlación de Spearman. Para establecer la relación entre el conteo de bacterias

individuales (CBI) y las horas del TRAM se empleó el análisis de regresión lineal. La prueba de Kruskal Wallis se utilizó para comparar el conteo de células somáticas (CCS) con cada valor de CMT. Todos los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico InfoStat versión 2.0 (17).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio efectuado demostró que la calidad higiénico-sanitaria de las leches analizadas se encontraba por encima del criterio de especificación existente a nivel internacional para el recuento de bacterias individuales por mililitro y células somáticas (Tabla 1), tomando como referencia la clasificación que establece la MICROVAL y la FIL (18,19).

El valor de recuento de bacterias individuales estuvo en concentraciones superiores a  $1,0 \times 10^5$  bacterias individuales. Solo el 17 % se encontró con recuento inferior a  $3,0 \times 10^5$  de bacterias individuales por mililitro, valor que se alcanza cuando se mantienen buenas condiciones de higiene durante el ordeño, almacenamiento y manipulación de la leche (18). Los recuentos de células somáticas también fueron elevados: de las 1540 muestras analizadas se obtuvo una media superior a  $1,0 \times 10^6$  células somáticas por mililitro. Se comprobó que el 85,7 % de las muestras estaban por encima del límite establecido por la norma cubana NC 448: 2006 de especificaciones para leche cruda, resultados que se corresponden con los reportados para Cuba (20).

Los parámetros microbiológicos para definir la calidad higiénica de la leche varían de un país a otro en función del desarrollo del sector lácteo, las posibilidades económicas y las exigencias de

**Tabla 1.** Calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda medida por BactoScan FC® y Fossomatic Minor™/ *Hygienic-sanitary quality of raw milk measured by BactoScan FC® and Fossomatic Minor™.*

Niveles	Media Recuento bacterias individuales (log BI/mL)	DE log BI/mL	Niveles	Media Recuento células somáticas (log CS/mL)	DE log CS/mL
>10 <sup>8</sup>	8,42	0,33	>5x10 <sup>6</sup>	6,83	0,12
10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>	7,45	0,27	1,2x10 <sup>6</sup> -5x10 <sup>6</sup>	6,63	0,17
10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	6,43	0,28	4x10 <sup>5</sup> -1,2x10 <sup>6</sup>	5,83	0,14
10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup>	5,53	0,29	2x10 <sup>5</sup> -4x10 <sup>5</sup>	5,44	0,08
			<2x10 <sup>5</sup>	4,83	0,39

Leyenda: BI: bacterias individuales, CS: células somáticas, mL: mililitro

los consumidores. En la mayoría de los países de ganadería desarrollada la leche que acopia la industria tiene conteos entre  $2,0 \times 10^4$ - $3,0 \times 10^5$  de bacterias individuales/mL y  $5,0 \times 10^5$  células somáticas/mL (18,19). En los países de menos desarrollo, aunque tienen criterios semejantes, en la práctica se encuentran conteos más elevados. Estos resultados revelan la situación existente en la cadena de producción de leche del país, la escasez de insumos para la higienización, la falta de exigencia del cumplimiento de los indicadores del pago por calidad, la ausencia de mecanismos que contribuyan a elevar la calidad del producto, la falta de disciplina tecnológica en los productores y los análisis no confiables de los laboratorios que realizan el pago por calidad (20).

Los resultados de la correlación entre el conteo individual de bacteria por el equipo BactoScan FC® y el tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM) fue de  $r$  igual a -0,99. Este resultado indicó que existe una alta correlación negativa; a medida que aumentan las horas del TRAM son menores los conteos de bacterias individuales en el equipo. Morales, en el año 2015 (5), obtuvo una relación inversamente proporcional entre el tiempo de reducción de azul de metileno con respecto a la carga de microorganismos aerobios totales en leche cruda, con un coeficiente de correlación de Pearson de -0,95 (5).

El BactoScan FC® se ha convertido en una herramienta importante para vigilar el estado higiénico en las granjas lecheras y se utiliza para fines de pago en el 90 % de toda la leche dentro de la Unión Europea. Los métodos basados en el recuento en placas requieren días de incubación y tienen baja repetibilidad y reproducibilidad (21). Sin embargo, este equipo presenta la ventaja de que cuenta la bacteria directamente, sin necesidad de incubar la muestra para formar colonias bacterianas. Mientras que los métodos colorimétricos, como el Azul de Metileno y la Resazurina, son técnicas de análisis versátiles y convencionales, que evidencian indirectamente la calidad higiénica de la leche cruda y su capacidad de conservación por medio de cambios de color (22). Internacionalmente, la tabla de interpretación del TRAM se relaciona con los recuentos de bacterias/mL, pero las variaciones de los rangos son elevadas, razón por la que la

prueba a nivel mundial ha perdido aplicación como elemento para medir el número de bacterias en la leche cruda (22).

El resultado de correlación entre el recuento de células somáticas por el Fossomatic Minor™ y el CMT fue de  $r$  igual a 0,90. El límite máximo para el conteo de células somáticas establecido por la FIL en mezclas de leche se corresponde, aproximadamente, con un valor negativo a positivo débil en términos de CMT. Sin embargo, no todos los países que utilizan este indicador tienen el mismo criterio: la Unión Europea, Nueva Zelanda, Australia, Suecia y Noruega aceptan solo  $4,0 \times 10^5$  célula/mL como valor máximo. Canadá tiene legislados valores de  $5,0 \times 10^5$ , aunque se discute asumir  $4 \times 10^5$  células/mL. Actualmente, muchas industrias de los países de la Unión Europea fijan el valor por debajo de  $2,5 \times 10^5$  células/mL; estas variaciones dependen fundamentalmente del desarrollo de la lechería de cada país (19,23). La situación para los países en vías de desarrollo, incluyendo a Cuba, es más comprometida por dos razones fundamentales: no existe en los productores una clara percepción sobre la enfermedad y su impacto negativo sobre la producción de leche y su calidad, así como que no se cuenta con métodos de diagnósticos automatizados, rápidos y confiables (24).

El resultado de este estudio fue similar al obtenido por De la Cruz (25), quien alcanzó una correlación de  $r=0,90$ , con correlación entre el CMT y el conteo de células somáticas de 81 %. Este autor planteó que la prueba de CMT, aunque no es un buen indicador del recuento de células somáticas, sí es un buen indicador de la salud de la ubre en el campo. Suárez *et al.* (26) encontraron una alta relación entre el CMT y el CCS y estimaron el número de células somáticas que se podían encontrar según el nivel de CMT. Por otra parte, existen estudios que predicen con una exactitud del 82 % un CCS con 440 675 células/mL y una puntuación de una cruz en CMT, que representa cuartos mamarios no infectados (27,28).

En la Figura 1 se muestra el coeficiente de regresión lineal entre el conteo individual de bacterias con respecto a las horas del TRAM. Se observa que la línea de regresión pasa por el

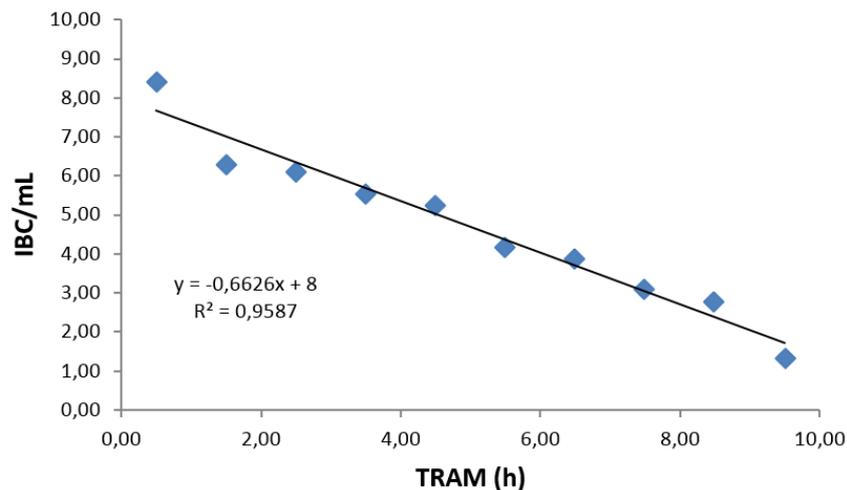
centro de la población, lo que demuestra la linealidad entre los resultados. La  $R^2$  obtenida indica una alta correlación entre los métodos analizados. El estudio realizado por Remón *et al.* (29) demostró la confiabilidad de los resultados obtenidos con el equipo Bactoscan FC<sup>®</sup> en las condiciones de la lechería cubana, al obtener una  $R^2=0,9268$  para el conteo total de microorganismos a 30°C y el conteo individual de bacterias.

En estudios realizados con el BactoFoss, para conocer la calidad de la leche cruda, se comprobó que el equipo puede usarse para determinar niveles microbianos desde  $10^4$ - $10^8$ ufc/mL en leche de tanque y en la leche almacenada a temperatura de refrigeración con valores de repetibilidad de  $0,048 \log_{10}$ ; aunque recientemente se ha encontrado en varias muestras que sobreestima el conteo de microorganismos viables. Calcina *et al.* (30)

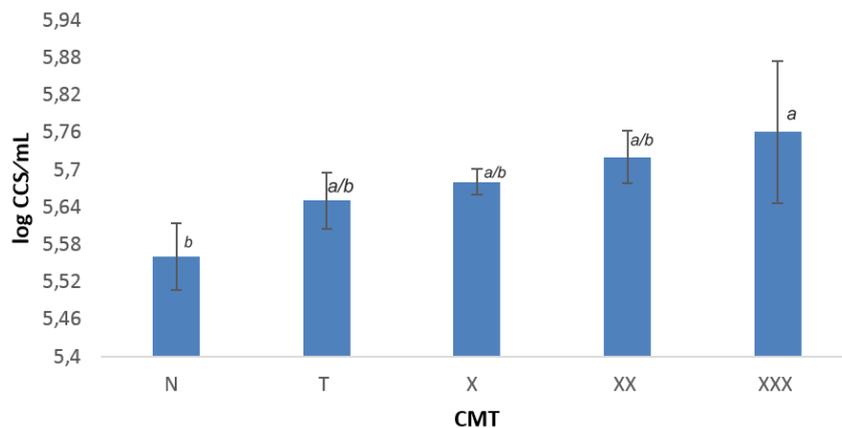
demonstraron que la correlación entre el TRAM y el  $\log_{10}$  del conteo total en muestras de leche no refrigeradas puede alcanzar valores superiores a 0,80; sin embargo, cuando la leche es refrigerada dicha correlación disminuye considerablemente hasta valores de  $r$  igual a 0,40 y se incrementa la varianza.

La Figura 2 muestra las diferencias significativas ( $p=0,052$ ) entre los valores medios del CCS para cada grado de CMT. Se puede observar que, a medida que aumentan los grados de CMT, los conteos de CCS son mayores; estos resultados evidencian que ambos métodos brindan resultados similares y que los grados del CMT pueden traducirse en valores de CCS.

Resultado similar se obtuvo por Perrin *et al.* (6) en Francia, quienes obtuvieron valores de células somáticas que se corresponden con los grados de CMT. Suarez *et al.* (31) determinaron la relación entre el CCS y el CMT, donde los



**Figura 1.** Conteo individual de bacterias de acuerdo a las horas del TRAM/ *Individual bacteria count according to TRAM hours.*



**Figura 2.** Comparación del conteo promedio de células somáticas para cada valor de CMT/ *Comparison of the average somatic cell count for each CMT value.*

valores estimados a partir de los grados de CMT fueron transformados en variables indicadoras del CCS. Como resultado, estos autores obtuvieron que los grados de CMT transformados en variables indicadoras tuvieron una correlación ( $r$  igual a 0,67) con el CCS y un  $R^2$  igual a 0,45 para una probabilidad ( $p < 0,0001$ ).

En Cuba, el nivel de prevalencia de mastitis bovina reportado por la prueba de CMT es elevado (superior a 50 %) (32). La situación de la salud de las ubres de las vacas lecheras representa un problema que ocasiona grandes pérdidas económicas en la industria láctea (33). El desafío radica en que la mastitis es una enfermedad compleja en la que influyen múltiples factores como el medio ambiente, el manejo y la alimentación de las vacas (34). Los microorganismos patógenos que causan la enfermedad se encuentran en constante evolución y esto requiere programas de control.

El recuento de células somáticas representa el número total de células que se producen en la leche y es el indicador clave utilizado para la detección y el tratamiento de la mastitis en los rebaños lecheros a nivel mundial (9). La falta de diagnóstico en el país es un factor que limita la aplicación del Programa de Prevención y Control de Mastitis Bovina. Por ello, constituye una necesidad el uso de métodos que permitan el diagnóstico rápido de la mastitis bovina a nivel individual como un criterio importante en la evaluación de la calidad de las mezclas de leche destinadas al procesamiento industrial.

Los resultados de la evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda demostraron que en el ordeño no se cumplen las medidas higiénicas necesarias para posteriormente manipular leche de buena calidad. Los equipos Bactoscan FC<sup>®</sup> y Fossomatic Minor<sup>™</sup> constituyen una posibilidad potencial para la clasificación de las leches de tanque o de los cuartos individuales afectados; además, permite a los productores tomar medidas rápidas en los primeros signos de mastitis y asegurar la calidad higiénica de su leche, por lo que se sugiere extender su aplicación a los laboratorios lácteos del país.

## REFERENCIAS

1. Moreno FC, Rodríguez G, Méndez VM, Osuna LE, Vargas R. Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha. *Rev de Medicina Veterinaria*. 2007;14:61-83.
2. Izquierdo A, Reyes AE, Cervantes R, Liera JE, Castro JF, Mosqueda ML, et al. Aplicación de la citometría de flujo en veterinaria. *Rev Complutense de Ciencias Veterinarias*. 2016;10(2):60-73.
3. Fung DY. Rapid methods and automation in food microbiology: A review. *Rev Food Reviews International*. 1994;10:357-375.
4. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2015. Producción lechera. <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera>
5. Morales S. Predicción de conteos microbiológicos en la leche cruda con base en la prueba de azul de metileno. *Rev. UDCA Actualidad & Divulgación Científica*. 2015;15(2):399-407.
6. Perrin GG, Mallareau MP, Lenfant D, Bauru C. Relationships between California mastitis test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. *Journal Small Ruminant Research*. 1997;10(26):167-170.
7. Cerqueira JOL, Cruz AFS, Correia JFV, Blanco-Penedo T, Cantalapiedra J, Araujo JP. XVII Jornada sobre Producción Animal. 2017. Zaragoza. pp. 758-760.
8. FOSS. Fossomatic(tm) FC Somatic cell counting for raw milk testing. 2015. P/N 1026668, Issue 2, GB.
9. Ramsahoy L, Richards M. Assessment of the application of an automated electronic milk analyzer for the enumeration of total bacteria in raw goat milk. *JDairy Sci*. 2011;94:3279-3287.
10. Brussard C, Marie D, Bratbak G. Flow Cytometric Detection of Viruses. *JVir Meth*. 2000;85:175-182.
11. SO 707/IDF 050: 2008. Milk and milk products. Guidance of sampling.

12. NC-ISO 7218:2008. Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Requisitos generales y guía para el examen microbiológico.
13. ISO 21187 (IDF 196): 2001. Leche. Determinación cuantitativa de la calidad bacteriológica para establecer y verificar una relación de conversión entre los resultados del método de rutina y los resultados del método de anclaje.
14. NC 282: 2006. Leche-Prueba de reducción del azul de metileno.
15. ISO 13366-2(IDF 148-2) 2006. Leche - Enumeración de células somáticas-Parte 2: guía de operación para el conteo fluoro-opto-electrónico.
16. NC 118: 2001. Leche-Prueba de California para el diagnóstico de mastitis.
17. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2.0. 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2010.
18. Organización Europea de Validación y Certificación (MicroVal). Validation of the BactoScan FC and FC+ (FOSS Analytical A/S) against the EURL MMP (European Union Reference Laboratories for Milk and Milk Products) criteria for determination of total flora in raw cow milk. 2015. P.O. Box.5059 2600.GB Delft. The Netherlan, DS.
19. Granados R, Rodriguez M,Arce C, Rodriguez V. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) Rev. Spanish J Agricultural Research. 2014;12(1):133-150.
20. Ruiz AK, Peña J, Remón D. Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión. Rev Prod Anim. 2016;28(2-3):39-50.
21. MacNaughton G. Fully automatic bacteria counter- recognized worldwide. Dairy Farmers of Ontario. 2016;23(2):3279-3287.
22. Zambrano J, Ramírez JF. Valoración de la calidad higiénica de la leche cruda en la asociación de productores de leche de Sotará-proleso, mediante las pruebas indirectas de resazurina y azul de metileno. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2008;6(2)56-66.
23. Mora MG, VargasB, Romero J, Camacho J. Efecto de factores genéticos y ambientales sobre el recuento de células somáticas en el ganado leche en Costa Rica. Rev Agronomía Costarricense. 2016;40(2):7-18.
24. Villoch A, Ponce, P. Buenas prácticas agropecuarias para la producción de leche. Sus objetivos y relación con los códigos de higiene. Rev Salud Anim. 2010;32(3):137-145.
25. De La Cruz EG. Correlación de los métodos California Mastitis Test (CMT), Conductividad Eléctrica (CE) y Conteo de Células Somáticas (CCS). Cayambe. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2012;6(2).
26. Suarez VH, Buntty MR, Miranda AO, Calvino LF. Effect of infectious status and parity on somatic cell count and California mastitis test in pampinta dairy ewes. J Vet Med. 2017;49: 230-234.
27. Ruiz AK, Ponce P, Gomes G, Mota RA, Sampaio E, Lucena ER, et al. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. Rev Salud Anim. 2011;33(1):57-64.
28. Bedolla CC. Pérdidas económicas ocasionadas por mastitis bovina en la industria láctea. REDVET. 2000;4(9):1-26.
29. Remón D, Martínez A, Roque E, Betancourt A, González D, Peña J, et al. Comprobación del BactoScan como método alternativo para el recuento de bacterias en leche cruda. Rev Normalización. 2017;1:ISSN: 2223-179.
30. Calcina V, Yamilet K, Yáñez S, Sergio I. Determinación del tiempo de reducción del azul de metileno como indicador de calidad higiénica de la leche fresca vendida en el mercado Amaru, Juliaca. Rev Universidad Andina Néstor Cáceres. 2015;3(16):32-40.
31. Suarez VH, Martínez G.M, Gianre V, Calvino L, Rachoski A, Chávez M, et al. Relaciones entre el recuento de células somáticas, test de mastitis California, conductividad eléctrica y el diagnóstico de

- mastitis subclínicas en cabras lecheras. *Rev Inv Agro.* 2014;40(2):145-153.
32. Alfonso D, Zanette J, Ruiz K, Peña J, González Y, Reinoso M. Situación de la mastitis subclínica y evaluación de los procesos lecheros en vaquerías de la provincia Villa Clara, Cuba. *Rev. Salud Anim.* 2017;39(3)
33. Giannechini R, Concha C, Delucci I, Gil J, Salvarrey L, Rivero R. Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la Cuenca Lechera del Sur de Uruguay. *Rev Veterinaria (Montevideo).* 2014;50(2):4-32.
34. Romero PA, Calderón RA, Rodríguez RV. Evaluación de la calidad de leches crudas en tres subregiones del departamento de Sucre, Colombia. *Rev Colombiana Cienc Anim.* 2018;10(1):43-50.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)