

## Estudio y control del Test de California (CMT)

E. MARTÍNEZ Y A. MARTÍNEZ

*Dpto. de Bacteriología. Rama Agropecuaria, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba*

*Recibido: 12 de febrero de 1976*

**ABSTRACT.** A comparison is made of the efficacy, at different concentrations, of a group of reagents which are representative of the detergent group, studying the relation between the degree of reaction and the cellular content of different milk samples. Dodecil Benzene Sulphonate (active principle 60%) at concentrations of 2, 2.5, 3 y 4.1 was used; sodium alkilarilsulfonate (25% active principle at 3 and 10%. The method used to obtain a group of milk samples with a specified cellular content was that described for the standardization of CMT. The results with the Duodecil Benzene Sulphonate at 3 and 4.1% are comparable. The relation between the number of cells and the degree of reaction falls within the range described by Schalm for this test (CMT). Although differences exist in the reactions of trace and 1 + this does not affect the use of these reagents in veterinary practice. The use of Alkilarilsulphonate 3% is also recommended for field test.

**RESUMEN.** Se compara la eficacia de un grupo de reactivos representantes del grupo de los detergentes, a diferentes concentraciones, estudiando la relación entre grado de reacción y contenido celular de distintas muestras de leche. Se utilizó el Dodecil Benceno Sulfonato (principio activo 60%) a concentraciones de 2, 2.5, 3 y 4.1; Alkilarisulfonato de Sodio (25% principio activo) al 3 y 10%. El método utilizado para obtener un grupo de muestras de leche con contenido celular determinado fue el descrito por Schneider (1964) para la estandarización del CMT. Los resultados con el Dodecil Benceno al 3 y 4.1% son comparables. La relación entre número de células y grado de reacción cae dentro del rango descrito por Schalm para este test (CMT). Aunque existen algunas diferencias en las reacciones de traza y una cruz, esto no afecta el uso de los reactivos en la práctica veterinaria. Se recomienda también el uso del Alkilarilsulfonato 3% para la prueba en el campo.

## INTRODUCCION

Los estudios de la correlación entre el número de células y la reacción del CMT, se han efectuado generalmente en base a las lecturas comparativas sobre una colección al azar de muestras positivas y negativas de mastitis (*Astermark y cols., 1969 y Blackburn, 1968*).

El estudio del valor del CMT como una medida de conteo celular fue llevado a cabo por Smith y Schultze, (*1966*), quienes mostraron que existe una alta correlación (0.85) entre el CMT y el conteo celular.

Schneider y Jasper, (*1964*) describieron un método para la estandarización del CMT, utilizando leche positiva y negativa al test de California en un rango de células conocido y haciendo una serie de diluciones, obtienen un grupo de muestras con un número de células requerido para dar los diferentes grados de reacción descritos por Schalm y Noorlander, (*1957*).

Nuestro propósito ha sido comparar el comportamiento de distintas concentraciones de reactivos disponibles en nuestro medio, ante muestras de diferentes contenidos celulares y definir cuál de ellas da resultados comparables con los descritos por Schalm.

## MATERIALES Y METODOS

Fueron utilizadas muestras de leche de cuartos individuales con más de  $5 \times 10^6$  células por mililitro (CMT 3+) y menos de 150,000 células por mililitro (CMT—). Dependiendo del conteo inicial de las muestras CMT positivas y negativas se hicieron una serie de diluciones, según el método de Schneider, añadiendo leche con reacción de 3+ y de CMT en una relación 4:1 respectivamente.

Los conteos se realizaron por el método de Breed, contando un número de 25 campos en cada uno de los 13 frotis realizados a cada dilución.

La cantidad de leche necesaria para realizar la serie de diluciones fue determinada por la fórmula descrita por Schneider. Para las diluciones fueron utilizadas pipetas de 10 ml y frascos de 100 ml, homogeneizados 20 veces antes de realizar cada paso de la dilución.

La serie de diluciones se efectuó de tal forma que el primer frasco contuviera el mayor número de células que corresponde con la muestra

CMT 3- usada, y el último frasco contiene el número de células de la muestra original CMT—.

Los reactivos utilizados fueron: Dodecil Benceno Sulfonato (60% principio activo) a concentraciones de 2, 2.5, 3 y 4.1% Alkilarilsulfonato de Sodio (25% principio activo) concentraciones de 3% y 10%. El indicador utilizado fue Púrpura de Bromocresol al 0.01%.

Para realizar el test de California se mezclaron en una paleta de CMT el reactivo y la leche en relación 1:1.

Los resultados obtenidos fueron agrupados en negativos, trazas, 1+, 2+ y 3+, relacionados con el conteo celular y comparados con la Tabla de Schalm.

## RESULTADOS

Las Tablas I y II muestran la relación entre el conteo celular de las distintas diluciones con el grado de reacción obtenido en el caso del reactivo Dodecil Benceno en una serie de 2 experiencias. A la izquierda de la Tabla se coloca la correspondencia con la clasificación en grupos según Schalm.

La Tabla III refleja el % de correspondencia que existe entre nuestros resultados y los descritos por Schalm para cada una de las muestras, en relación con el reactivo Dodecil Benceno.

La Tabla IV muestra igualmente los resultados del test de California en cruces realizados a las distintas muestras de leche preparadas con contenido celular diferente y el grupo CMT a que corresponden, utilizando como reactivo el Alkilarilsulfonato de Sodio al 3% y 10%.

Con los resultados con el Alkilarilsulfonato se obtuvo el % de correspondencia al igual que con el Dodecil Benceno siendo para el caso de la dilución del 3% de un 100% y con las concentraciones del 10% se obtuvo una correspondencia con los resultados de Schalm para el mismo rango de contenido celular de un 97%.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Si comparamos las dos diluciones del Alkilarilsulfonato de Sodio podemos observar que la dilución del 10% da reacciones de una cruz con

240 000 células como mínimo y al 3% da el mismo grado con un número de células de 420 000 como mínimo el resto de las concentraciones de los reactivos dan reacciones de traza con esta cifra (420,000 cel./ml).

Ambas reacciones coinciden con las cifras expresadas por Schalm ya que hay un rango de concentración de células que se cruzan en trazas y negativo.

TABLA I

*Experiencia 1. Resultados del CMT con el reactivo Dodecil Benceno y su relación con el conteo celular*

Grupo CMT Schalm	Diluciones en serie		Concentraciones de reactivos (%)			
	No. de muestras	Células/ml.	2%	2.5%	3%	4.1%
2-3	1	3'220,000	++	++	++	++
2	2	2'420,000	++	++	++	++
2	3	2'020,000	++	++	++	++
1-2	4	1'440,000	+	+	+	+
1-2	5	1'320,000	+	+	+	+
1-2	6	1'220,000	+	+	+	+
1-2	7	1'000,000	+	+	+	+
1	8	680,000	T	+	+	+
T	9	360,000	T	T	T	T
N-T	10	160,000	—	—	—	—
N	11	120,000	—	—	—	—

En lo que se refiere al Dodecil Benceno, las diluciones de 2% y 2.5% dan reacciones negativas con cifras de 300,000 cel./ml lo que difiere con los grados de Schalm ya que en ella se describen reacciones de trazas a una cruz.

Las diluciones de 3 y 4,1% caen dentro de los rangos descritos por Schalm las diferencias en los grados de trazas, una y dos cruces no influyen en

la práctica, ya que los rangos de reacción más importantes son por encima de una cruz.

TABLA II

*Experiencia 2. Resultados del CMT con el reactivo Dodecil Benceno*

Grupo CMT Schalm	Diluciones en serie		Concentraciones de reactivos (%)			
	No. de muestras	Células/ml.	2%	2.5%	3%	4.1%
2-3	1	4'380,000	++	++	++	++
2-3	2	3'740,000	++	++	++	++
2	3	2'880,000	++	++	++	++
2	4	1'920,000	++	++	++	++
2	5	1'720,000	++	++	++	++
1-2	6	880,000	+	+	+	+
1-2	7	840,000	T	+	+	+
T-1	8	440,000	T	T	T	T
T-1	9	420,000	T	T	T	T
T	10	300,000	—	—	T	T
T	11	260,000	—	—	T	T
N	12	140,000	—	—	—	—

TABLA III

*Comparación de los % de correspondencia de nuestros resultados con respecto a los grupos descritos por Schalm*

Reactivo	% de correspondencia
2%	81.8%
2.5%	90.9
3%	100.0
4.1%	100.0

TABLA IV

*Resultados de la experiencia utilizando Alkilarilsulfonato de sodio al 3 y 10%*

Grupo CMT Schalm	Células/ml.	Concentraciones de reactivos	
		3%	10%
2-3	4'400,000	++	++
2	3'320,000	++	++
2	2'660,000	++	++
2	1'640,000	++	++
2	1'500,000	++	++
2	1'640,000	++	'++
2	1'420,000	++	++
1-2	1'220,000	++	++
1-2	1'080,000	++	++
1-2	980,000	++	++
1-2	900,000	++'	++
1-2	820,000	++'	++
1	800,000	+	+
1	700,000	+	+
1	560,000	+	+
T-1	420,000	+	+
T	320,000	T	+
T	240,000	T	+
T	220,000	T	T
N-T	200,000	-	T
N-T	180,000	-	-
N	140,000	-	-
N	60,000	-	-
N	40,000	-	-

La correspondencia obtenida nos lleva a considerar que los reactivos Dodecil Benceno al 3 y 4.1% son eficientes en la práctica y el Alkilaril-sulfonato al 3% también puede ser recomendado para realizar el test de California. Por otro lado la técnica de Schneider utilizada en este trabajo resulta eficiente como método para controlar los reactivos que utilicen para efectuar esta prueba de campo en las vaquerías de nuestro país.

### REFERENCIAS

- ASTERMARK S., FUNKE H. AND EUGAN SKEIN I. The relationship between the California mastitis test, whiteside test, Brabant mastitis Reaction, Catalasa Test, and direct cell counting of milk (1969).
- BLACKBURN P.S. The cell count of cows milk and the micro organism cultured from the milk. *Journal of Dairy Research*, 35, 59, 1968.
- SCHALM O.W. AND NOORLANDER D.O. Experiments and observations leading the development of the Colifornia Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 130, 199, 1957.
- SCHNEIDER R. AND JASPER D.E. Standardization of the California Mastitis Test. *Am. J. Vet. Res.*, 25, 1635, 1964.
- SMITH J.W. AND SCHULTZE W.D. The cellular content of cows milk 1.— An evaluation of the CMT as a method of estimating the number of cells in milk. *J. Milk Food Technol.* 29, 84, 1966.

