

Artículo de investigación

## Presence of mycotic microorganisms in raw milk from cooling tanks in the Boyacense highlands (Colombia)

*Presencia de microorganismos micóticos en leche cruda de tanques de enfriamiento en el Altiplano Boyacense (Colombia)*

*Presença de microrganismos micóticos no leite cru de tanques de resfriamento no Altiplano Boyacense (Colômbia)*

Luis Edgar Tarazona Manrique <sup>1, Est. MVZ</sup>; Julián Ricardo Villate Hernández <sup>2, Est. MVZ</sup>; Elkin Josué Forero Rojas <sup>3, Est. MVZ</sup>; Juana Valentina Grijalba Otálora <sup>4, Est. MVZ</sup>; Julio César Vargas Abella <sup>5 Msc, CvLAC</sup>; Roy José Andrade Becerra <sup>6\* ✉, MV, PhD, CvLAC</sup>

### Fecha correspondencia:

Recibido: 21 de agosto de 2018.  
Aceptado: 28 de junio de 2019.

### Forma de citar:

Tarazona Manrique, LE; Villate Hernandez, JR; Forero Rojas, EJ; Grijalba Otálora, JV; Vargas Abella, JC; Andrade Becerra, RJ. Presencia de microorganismos micóticos en leche cruda de tanques de enfriamiento en el Altiplano Boyacense (Colombia). Rev. CES Med. Zootec. 2019; Vol 14 (2): 8-17.

### Open access

© Copyright

Creative commons

Ethics of publications

Peer review

Open Journal System

DOI: [http://dx.doi.org/10.21615/](http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.14.2.1)

[cesmvz.14.2.1](http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.14.2.1)

ISSN 1900-9607

Comparte



### Abstract

Yeasts and molds are germs that should not be found in milk samples because they are potentially pathogenic for both animals and humans. Due to its high handling during collection, storage, and transport, milk is susceptible to contamination with these microorganisms, so its detection in this food in these phases is relevant in order to prevent possible situations that compromise public health. The objective of the present work was to determine the presence of molds and yeasts in samples of milk cooling tanks in the Boyacense highlands. Samples were taken from 20 raw milk cooling tanks located in 20 different dairy municipalities of the department of Boyacá in order to determine the presence of molds and yeasts through Compact Dry YM<sup>®</sup>. 35% of the samples of milk did not present growth of molds or yeasts, meanwhile, in 25% yellow colony growth and its tonalities were found, which would correspond with mold colonies, in 5% determined the growth only of blue colonies, corresponding to yeast growth. In the remaining 35% growth of blue and yellow colonies was detailed. This shows that there is a high percentage of molds and yeasts in samples of refrigerated raw milk, a situation that could trigger a public health problem.

**Keywords:** Compact Dry YM<sup>®</sup>, microbiology, mycotic agents, raw milk.

### Resumen

Las levaduras y los mohos son gérmenes que no se deben encontrar en muestras de leche porque son potencialmente patógenos tanto para los animales como para el ser humano. Debido a su alta manipulación durante la recolección, almacenamiento y transporte, la leche es susceptible de contaminación con estos microorganismos, por lo cual su detección en este alimento en estas fases, es relevante con el fin de prevenir posibles situaciones que comprometan la salud pública. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de mohos y levaduras en muestras de tanques de enfriamiento de leche en el Altiplano Boyacense. Se tomaron muestras de 20 tanques de enfriamiento de leche cruda ubicados en 20

**Filiación:**

\* Autor para correspondencia: Roy José Andrade Becerra. Correo de correspondencia: roy.andrade@uptc.edu.co

<sup>1,2,3,4,5</sup> Investigadores pertenecientes al Grupo de investigación en producción animal del trópico alto colombiano - Gipatracol. Línea de investigación en Microbiología Veterinaria. Escuela de Medicina veterinaria y zootecnia, UPTC. Tunja- Colombia.

<sup>6</sup> Grupo Gipatracol. Línea de investigación en Microbiología Veterinaria. UPTC. Avenida Central del Norte 39-115. Edificio nuevo de Laboratorios, LN403.

diferentes municipios lecheros del departamento de Boyacá con el fin de determinar la presencia de mohos y levaduras a través de Compact Dry YM<sup>®</sup>. El 35% de las muestras de leche no presentó crecimiento de mohos ni de levaduras, por su parte, en el 25% se encontró crecimiento de colonias de color amarillo y sus tonalidades, lo que correspondería con colonias de mohos, en el 5% se determinó el crecimiento únicamente de colonias azules, correspondiente a crecimiento de levaduras. En el 35% restante se detalló un crecimiento de colonias azules y amarillas. Esto demuestra que existe un alto porcentaje mohos y levaduras en muestras de leche cruda refrigerada, situación que podría desencadenar un problema de salud pública.

**Palabras clave:** *agentes micóticos, Compact Dry YM<sup>®</sup>, microbiología, leche cruda.*

**Resumo**

Leveduras e fungos são germes que não devem ser encontrados em amostras de leite, pois são potencialmente patogênicos tanto para animais como para humanos. Devido ao seu alto manuseio durante a coleta, armazenamento e transporte, o leite é suscetível à contaminação com esses microrganismos, por isso sua detecção neste alimento nestas fases, é relevante para prevenir possíveis situações que comprometam a saúde pública. O objetivo do presente trabalho foi determinar a presença de bolores e leveduras em amostras de tanques de resfriamento de leite no Altiplano de Boyacense. Foram coletadas amostras de 20 tanques de resfriamento de leite cru, localizados em 20 diferentes municípios leiteiros do departamento de Boyacá, a fim de determinar a presença de bolores e leveduras através do Compact Dry YM<sup>®</sup>. 35% das amostras de leite não apresentaram crescimento de bolores ou leveduras, entretanto, em 25% de crescimento de colônia amarela e suas tonalidades foram encontradas, o que corresponderia às colônias de bolores, em 5% determinou o crescimento apenas das colônias azuis, correspondendo ao crescimento das leveduras. Isso mostra que há uma alta porcentagem de bolores e leveduras em amostras de leite cru refrigerado, situação que pode desencadear um problema de saúde pública.

**Palavras chave:** *agentes micóticos, microbiologia, Compact Dry YM<sup>®</sup>, leite cru.*

**Introducción**

La leche es un valioso alimento que contiene los nutrientes que los mamíferos necesitan para la formación y mantenimiento del organismo debido a su gran contenido de principios nutritivos<sup>8</sup>, sin embargo, por esta misma razón es un sustrato eficiente para el crecimiento de microorganismos que podrían dar como resultado alteraciones indeseadas en la conformación de la leche, comprometiendo la salud humana en caso de producción de toxinas<sup>24</sup>.

El número y tipo de microorganismos que podrían contaminar la leche después del ordeño depende de diversos factores de manejo<sup>9</sup>. Dentro de los patógenos que podrían llegar a contaminarla, además de las bacterias, se encuentran los mohos y las levaduras, las cuales pueden llegar allí a través del aire, trabajadores de la granja, deficiente limpieza y desinfección de los equipos de ordeño y elementos de manejo como las cantinas y los tanques de almacenamiento; pero también por la mastitis micótica, aunque esta tiene una casuística baja<sup>2, 15, 17, 22</sup>.

Dentro de los agentes micóticos que podrían estar presente en la leche y que más representa riesgo para la salud humana, se encuentran los mohos del género *Aspergillus* spp., en especial *A. nidulas*, debido a que este podría llegar a producir

micotoxinas, producto de su metabolismo intermedio, las cuales tienen efectos hepatotóxicos, mutagénicos y carcinogénicos<sup>22</sup>. De igual forma, la presencia de otros agentes micóticos como levaduras del género *Candida* podrían llegar a generar cambios en las características organolépticas de la leche e imposibilitar su uso en algunos derivados lácteos<sup>23</sup>.

El departamento de Boyacá se ha caracterizado por ser uno de los principales productores de leche en Colombia, el cual ocupa el segundo lugar a nivel nacional, con una producción aproximada de 20.662.347 L para marzo del año 2018<sup>9</sup>. Debido a que una gran parte de los productores del departamento se encuentran en asociaciones, la producción diaria es almacenada dentro de tanques de enfriamiento, a donde va a llegar la producción de los diferentes granjeros hasta que el camión recolector la dirija hacia las plantas procesadoras y/o transformadoras.

Como consecuencia de la alta manipulación de la leche a través de estos procesos, su contaminación se hace más fácil, lo que podría alterar su conformación fisicoquímica debido a procesos de fermentación, lo que disminuye el precio pagado a los productores, aumentando, además, el riesgo de transmisión de agentes patógenos o sus subproductos tóxicos a los consumidores finales constituyéndose no solo como un gran problema para la industria transformadora de lácteos, sino también para la salud pública<sup>21,24</sup>.

La identificación de estos agentes, a través de pruebas de laboratorio, aumentan el conocimiento con respecto a su epidemiología y además permite saber en qué etapas del proceso se está fallando con la higiene y de esta manera tomar las acciones correctivas que sean necesarias para disminuir su presencia en el producto. Una de las técnicas más usadas en Colombia, para el aislamiento de mohos y levaduras, es el uso del Compact Dry YM<sup>®22</sup>, el cual tiene una sensibilidad del 90% y una especificidad del 100%<sup>26</sup>. Además, presenta una gran facilidad de lectura de resultados, al ser un método cualitativo, a través de la cromatografía diferencial de colonias de levaduras y de mohos, con la cual se obtienen resultados acertados, luego de que fue comparada con otros medios para el cultivo de mohos y levaduras en diversos alimentos<sup>3</sup>.

Por lo anterior, es importante determinar si la leche cruda producida en algunos municipios del departamento de Boyacá está contaminada con microorganismos micóticos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de mohos y levaduras en veinte tanques de enfriamiento de leche cruda de veinte municipios diferentes del departamento de Boyacá-Colombia a través de la técnica Compact Dry YM<sup>®</sup>.

## **Materiales y métodos**

### **Tipo y área de estudio**

Se realizó un estudio de corte transversal, descriptivo cualitativo en veinte muestras de leche cruda de tanques de almacenamiento en frío de veinte municipios productores de leche, de los cuales solo se tomó una muestra por municipio una sola vez. Los municipios se encuentran catalogados dentro del denominado "cordón lechero boyacense", estos fueron: Paipa, Tunja, Duitama, Sogamoso, Iza, Firavitoba, Belén, Cerinza, Santa Rosa De Viterbo, Sotaquirá, Oicatá, Tuta, Toca, Arcabuco, Cóbbita, Chiquinquirá, San Miguel De Sema, Ventaquemada, Soracá y Tibasosa, ubicados entre los 2400 y los 2850 msnm, con temperaturas anuales promedios de 13 °C y pluviosidades entre 800 y 2100 mm/año<sup>11</sup>.

### **Toma de muestras**

La recolección se realizó durante cuatro meses, dentro del periodo comprendido entre el mes de diciembre del año 2017 hasta marzo del 2018, en horas de la mañana luego de que el tanque estuviera completamente lleno. Antes de la toma de muestras, la temperatura de éstos tanques fue analizada a través de termómetros electrónicos que vienen integrados en cada uno de ellos, y cuyos rangos oscilaron entre 4-6 °C. Se tomó una cantidad de 10 mL de leche que fueron almacenados en bolsas plásticas Whirl-pak completamente estériles, y transportados en "cavas" de polietileno con "pilas" de hielo en su interior para mantener la cadena de frío hasta su arribo al laboratorio de calidad de leche y control de mastitis de la escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), sede Tunja-Boyacá.

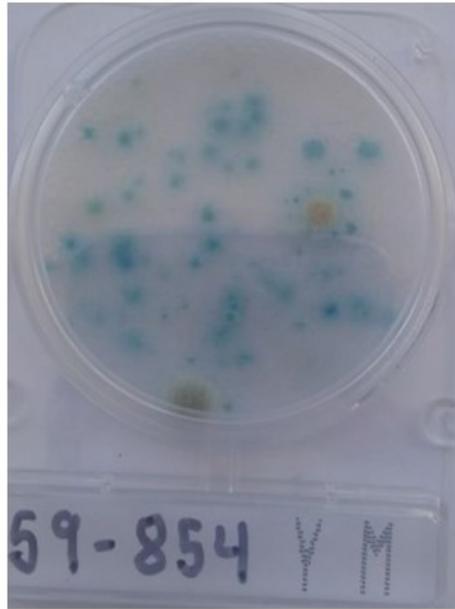
### **Exámenes microbiológicos**

Para el cultivo de mohos y levaduras se usaron placas Compact Dry YM<sup>®</sup>, sobre sus sustratos cromógenos, las levaduras y los mohos manifiestan diferentes reacciones cromáticas y son por tanto sumamente fáciles de distinguir: el sustrato cromógeno X-Phos provoca una coloración azul en prácticamente todas las levaduras. El crecimiento bacteriano se inhibe mediante antibióticos. Gracias a la cavidad de las placas Compact Dry los mohos desarrollan su forma tridimensional característica en distintos colores<sup>3</sup>.

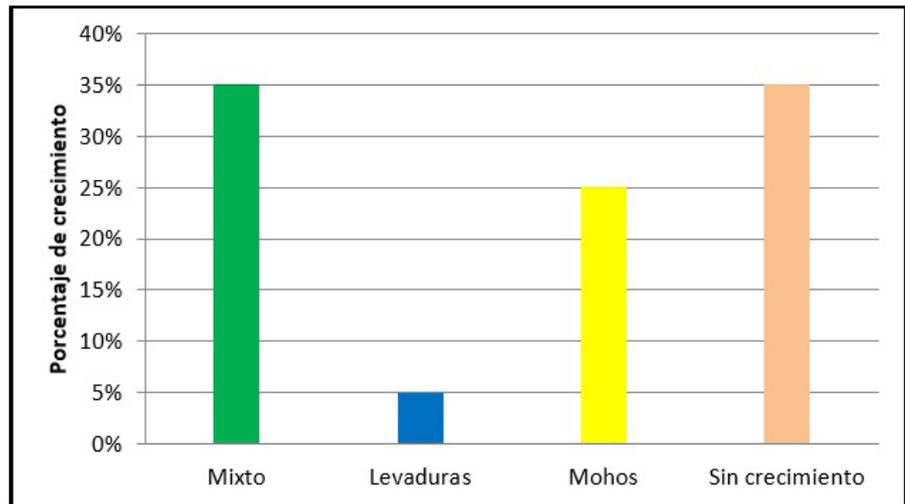
En cada una de las placas se depositó 1 mL de muestra que fue preparada según instrucciones del fabricante, para lo cual, se tomaron 9 mL de Lactato de Ringer y se le adicionó 1 mL de la muestra de leche, posteriormente se incubaron durante cinco días a una temperatura de 30 °C. Luego de este tiempo, se realizó la identificación del crecimiento o no de las colonias a través de lámpara plana de luz para identificar las tonalidades, que según las instrucciones del fabricante y lo reportado por la Association of Analytical Communities (AOAC)<sup>20</sup> en el documento de certificación del producto, una tonalidad amarilla correspondería con crecimiento de colonias de mohos y, por otro lado, tonalidades azules corresponden a levaduras<sup>22</sup>. Además de ello, se realizaron placas de control con 1 mL de lactato de Ringer para descartar que éste estuviera contaminando las muestras.

### **Resultados**

La lectura de las placas Compact Dry Ym<sup>®</sup> inoculadas con las muestras de leche, permitieron la identificación del crecimiento de colonias de color azul únicamente en el 5% de las muestras de leche lo que corresponde con levaduras, por su parte, un 25% correspondió con crecimiento de colonias de tonalidades amarillas identificando allí el desarrollo de mohos. En el 35% de las muestras de leche, mohos y levaduras crecieron conjuntamente (Figura 1), y también, en este mismo porcentaje no se evidenció crecimiento de colonias (Figura 2). De otra parte, en las placas a las que se les agregó únicamente Lactato de Ringer no hubo crecimiento de ninguna colonia.



**Figura 1.** Placa Compact Dry YM<sup>®</sup> con crecimiento mixto de mohos y levaduras.



**Figura 2.** Porcentaje de crecimiento y color de la colonia en Compact Dry Ym<sup>®</sup>.

Los resultados por municipio fueron: Arcabuco: solamente crecimiento de levaduras; Belén, Cerinza, Paipa, Tibasosa y Ventaquemada: crecimiento únicamente de colonias de mohos; Sotaquirá, Soracá, Sogamoso, Oicatá, Iza, Duitama y Cómbita presentaron crecimiento mixto, es decir, crecimiento tanto de colonias de levaduras como de hongos; por último, Chiquinquirá, Firavitoba, San Miguel de Sema, Santa Rosa de Viterbo, Toca, Tunja y Tuta: no presentaron crecimiento de ningún tipo de agente micótico (Tabla 1).

**Tabla 1.** Se muestran los resultados de crecimiento de agentes micóticos la prueba control con Lactato de Ringer y en cada municipio analizado. MH: colonias de mohos, LE: colonias de levaduras, MI: crecimiento Mixto y SC: sin crecimiento.

<b>Municipio</b>	<b>Tipo de crecimiento</b>
Control	SC
Arcabuco	LE
Belén	MH
Cerinza	MH
Chiquinquirá	SC
Combita	MI
Duitama	MI
Firavitoba	SC
Iza	MI
Oicatá	MI
Paipa	MH
San Miguel De Sema	SC
Santa Rosa De Viterbo	SC
Sogamoso	MI
Soracá	MI
Sotaquirá	MI
Tibasosa	MH
Toca	SC
Tunja	SC
Tuta	SC
Ventaquemada	MH

## Discusión

A nivel mundial ha surgido la necesidad de la identificación de agentes micóticos que podrían llegar a contaminar la leche y que podrían alterar productos como el queso o producir toxinas que afecten la salud pública y que permanezcan en la leche<sup>5,23</sup>. Godič y Vengust, 2008<sup>a</sup> 10, Godič y Golc, 2008b<sup>9</sup> y Zeinab *et al.*, 2008<sup>29</sup>, han utilizado agares como el Saboureaud, Cloranfenicol dicloran rosa de bengala (DRBC, por sus siglas en inglés), dicloran 18% glicerol (DG18), cloranfenicol glucosa extracto de levadura (YCG) y el dextrosa papa, obteniendo buenos resultados de crecimiento de colonias<sup>4</sup> sin embargo, estos no arrojan una característica cromática de las colonias, por tanto demandan mayor conocimiento microbiológico y podrían llegar a presentar algunas variaciones con respecto a su lectura dependiendo del criterio y conocimiento de la persona que lo realice.

Por otro lado, recurren a técnicas de agares específicos para el crecimiento de cierto tipo de colonias (agar *Aspergillus flavus/parasiticus*- AFPA base); sin embargo, estas son limitadas y demandan mayor capacidad del laboratorio. También pueden usarse herramientas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para la identificación no solo del tipo de agente que está contaminando la leche sino de la posible producción de toxinas que podrían llegar a estar presentes en el producto

que va a llegar hasta el consumidor final. Pero este tiene un inconveniente mayor y es la necesidad de equipos especializados a disposición de los productores, situación que casi en el 100% de los casos no se presenta <sup>23, 16, 15</sup>.

Beuchat *et al.*, 2000<sup>7</sup> determinaron que los métodos como el Compact Dry Ym<sup>®</sup> y las placas Petrifilm<sup>®</sup> para el conteo de hongos (mohos y levaduras), arrojaron resultados similares, con respecto a la eficacia en su identificación en productos alimenticios, que los agares anteriormente mencionados, validándola como una técnica que presenta una lectura mucho más fácil y rápida, por lo que se pueden entregar datos rápidos y confiables para los productores.

En Colombia, se tiene clara la importancia de que no exista presencia de agentes micóticos contaminando la leche<sup>18</sup>; sin embargo, la legislación nacional no determina si estos deben o no estar presentes en leche cruda que va a ser destinada a comercialización y, por tanto, los rangos dentro de los que deben oscilar.

Para el caso de Colombia, solo se ha hecho un estudio con la misma metodología, en donde se encontraron resultados diferentes con respecto al crecimiento de ambas colonias. Para el caso de las colonias de levaduras, Ortíz *et al.*, 2017<sup>22</sup> reportaron un crecimiento de 78,6%, las cuales son compatibles con *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* <sup>22</sup>. Sin embargo, en este estudio solo representó el 5% de las muestras, contrastando con los resultados obtenidos en ese estudio, debido quizá a situaciones del medio ambiente entre ambas regiones geográficas, así como posibles prácticas de manejo de desinfección diferentes que favorecerían más a un microorganismo que a otro. Así mismo, el 5% de crecimiento de colonias de levaduras encontrados en este estudio, contrastan con los resultados dados por Pukančíková *et al.*, 2016 <sup>24</sup> y Panelli *et al.*, 2013 <sup>23</sup>, quienes encontraron a *Candida* spp. como el género más prevalente en muestras de leche, sobre todo *C. deformans*, la cual se identifica mejor en alturas entre los 1800 y 2200 msnm, alturas inferiores a las que presentan los municipios incluidos en este estudio.

Ortíz *et al.*, 2017 <sup>22</sup> también encontraron crecimiento de colonias de ambos colores en las placas Compact Dry Ym; sin embargo, en ese estudio estas fueron el 28,6% de las muestras, mientras que en este estudio el 35% de las muestras tuvieron crecimiento mixto, es decir los municipios de Sotaquirá, Soracá, Sogamoso, Oicatá, Iza, Combita y Duitama. Lo que demuestra la variabilidad de presentación de agentes dependiendo de la zona, y sugiere que, en estos sectores, los productores están conscientes de la importancia del buen manejo de la leche en todas las fases de la producción primaria.

Estudios reportan que las levaduras pueden aparecer, de forma individual, hasta en el 95% de las muestras de leche cruda, mientras que los mohos, en el 65% <sup>9</sup>, contrastando ampliamente con los resultados obtenidos en este estudio, en donde se encontró un crecimiento de levaduras en el 5% de las muestras, mientras que los mohos crecieron en el 25%. Los resultados de este estudio también contrastan con lo reportado por Chipilev *et al.*, 2016<sup>6</sup> quienes encontraron que el 93,3% muestras de leche cruda analizadas en Bulgaria estaban contaminadas con agentes micóticos, mientras que aquí solo se determinaron en el 65% del total de muestras analizadas.

Por otro lado, reportes en el mundo demuestran que los agentes micóticos de mayor frecuencia en leche cruda son *Aspergillus* spp, *Geotrichum*, *Mucor*, *Fusarium* y *Penicillium* <sup>10, 9, 12</sup>. Estos datos son parecidos a lo reportado por <sup>5</sup>Carrero y López, 2015 en

un análisis del queso hecho en Paipa-Boyacá que, además, fue uno de los municipios incluidos dentro de la investigación. De forma similar <sup>1</sup>Aïssi *et al.*, 2009, determinaron estos mismos agentes micóticos como contaminantes de queso en Benin.

*Pichia*, *Galactomyces*, *Kluyveromyces*, *Exophiala* y *Vanderwaltozyma* también son hongos que podrían llegar a presentarse en la leche por falta de higiene en su almacenamiento <sup>23</sup>. <sup>17</sup>Mbuk *et al.*, 2016 también identificaron, gracias a test bioquímicos, a *Candida spp.*, *Trichosporon mucoides*, *Cryptococcus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae* como algunos de los más importantes que pueden llegar a presentarse en la leche, de igual forma, <sup>7</sup>Delavenne *et al.*, 2011 identificaron estos agentes en tanques de almacenamiento de leche. Todo esto denota que, a pesar de las diferencias propias de cada país, los agentes micóticos que llegan a contaminar la leche son casi los mismos, por tanto, las estrategias de control podrían compartirse esperando encontrar buenos resultados.

Todos estos estudios, igual que el que se realizó, fueron determinados de tanques de almacenamiento de leche, asociando la presencia de estos microorganismos con la falta de higiene en el momento del ordeño, mal transporte de la leche dentro de la finca o el almacenamiento de esta, más que con la presentación de mastitis micótica. Con respecto a esta última, Andrade *et al.*, 2012 <sup>2</sup>, para Colombia, reporta que su incidencia es de alrededor del 2-3%, un estudio similar en Nueva Zelanda indica que esta patología se presenta en tan solo el 2,6% de los animales estudiados<sup>28</sup>. De igual forma, en México, Segundo *et al.*, 2011 <sup>25</sup> reporta que *C. albicans* solo fue aislada en el 3,9% de las muestras de leche de vacas con mastitis clínica y subclínica. Spanamberg *et al.*, 2008 <sup>27</sup>, en Brasil, reportaron una incidencia de mastitis micótica del 17,3%, siendo uno de los resultados más altos de esta patología en específico.

Por último, es necesario anotar que generalmente los granjeros no dimensionan la importancia que tiene el evitar que poblaciones de mohos y levaduras lleguen a contaminar productos de consumo humano como la leche, y que de allí se deriven los principales problemas de salud pública, por la deficiente limpieza de los equipos y utensilios utilizados en los sistemas productivos. <sup>14</sup>Kiama *et al.*, 2016, a través de ELISA, demostraron la presencia, en el 10% de las muestras que analizó, de aflatoxina m1, la cual es una de las toxinas que podría llegar a constituir riesgo para la salud pública por sus propiedades oncogénicas, no solo para los humanos sino también para los animales <sup>13</sup>.

## Conclusiones

Se identificó la presencia de microorganismos micóticos en muestras de leche cruda de tanques de enfriamiento en el 65% de los municipios incluidos en el estudio, y considerando la importancia que estos revisten para el sector lechero departamental y nacional, este resultado es alto. Es necesario implementar prácticas de mejoramiento de procesos de manejo para disminuir la población de agentes micóticos que pudieran llegar a comprometer no solo la calidad del producto, sino también la salud pública.

## Referencias

1. Aïssi VM, Soumanou MM, Bankolè H, Toukourou F, De Souza CA. Evaluation of hygienic and mycological quality of local cheese marketed in Benin. *Aust J Bas App Sci* 2009; 3 (3): 2397-2404.

2. Andrade RJ, Pulido MO, Rodríguez CE. Sanidad de ubre, calidad de leche. 1ra ed. Colombia. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia; 2012.
3. Beuchat LR, Mann DA, Gurtler JB. Comparison of dry sheet media and conventional agar media methods for enumerating yeast and molds in food. *J Food Prot* 2007; 70 (11): 2661–2664.
4. Camacho A, Giles M, Ortegón A, Palao M, Serrano B, Velásquez O. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2da ed. México. Universidad Nacional Autónoma de México; 2009.
5. Carrero MB, López A. Aislamiento e identificación preliminar de hongos contaminantes en queso Paipa del municipio de Paipa, Boyacá. *Vitae* 2012; 19 (1): 114-116.
6. Chipilev N, Daskalov H, Stoyanchev T. Study on the prevalence of lipolytic yeasts and molds in raw cow milk and white brined cheese. *Bulg J Vet Med* 2016; 19 (2): 117-126.
7. Delavenne E, Mounier J, Asmani K, Jany J, Barbier G, *et al.* Fungal diversity in cow, goat and ewe milk. *Inter J Food Micro* 2011; 151 (2). 247-251.
8. Gaghercole J, Reis GM, Agnew M, Reis MM, Humphrey R, *et al.* Molecular modification associated with the heat treatment of bovine milk. *Inter Dairy J* 2011. 73, 74-83.
9. Godič K, Golc S. The microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk collecting system. *A agri Slov* 2008b; 92 (1): 61-74.
10. Godič K, Vengust A. The presence of yeast, molds and aflatoxin M1 in raw milk and chesse in Slovenia. *J Food Cont* 2008a; 19 (1): 570-577.
11. Instituto De Hidrología, Meteorología Y Estudios Ambientales De Colombia, IDEAM. Sistema de información ambiental 2018; [acceso: 05 de marzo de 2018] URL: <http://www.ideam.gov.co>.
12. Jodral M, Liñan E, Acosta I, Gallego C, Rojas F, *et al.* Mycoflora and toxigenic *Aspergillus Flavus* in spanish milks. *Inter J Food Micro* 1993; 18 (2): 171-174.
13. Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *J Food Cont* 2005;16 (7): 593-599
14. Kiama TN, Lindahl JF, Sirma AJ, Waithanji EM, Ochungo PA, *et al.* Kenya dairy farmer perception of moulds and mycotoxins and implications for exposure to aflatoxins: A gendered analysis. *Afr J Food Agri, Nut Dev* 2016; 16 (3): 11106-11125.
15. Lavoie K, Touchette M, Stgelais D, Labrie S. Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty chesses of the province of Quebec. *Dairy Sci Technol* 2012; 92: 455–468

16. Liu W, Zheng Y, Kwok L, Sun Z, Zhang J, *et al.* High-throughput sequencing for the detection of the bacterial and fungal diversity in Mongolian naturally fermented cow's milk in Russia. *BCM Micro* 2015; 15: 45-57.
17. Mbuk EU, Kwaga JK, Bale JO, Umoh JU. Molecular identification of yeast associated with raw cow milk from peri-urban farms in Kaduna State, Nigeria *J Yeast Fun Res* 2016; 70 (5): 39-46.
18. Mercado M, González V, Rodríguez D, Carrascal AK. Perfil sanitario nacional de leche cruda para consumo humano directo. 1ra ed. Colombia. Pontificia Universidad Javeriana- Ministerio de Salud y Protección Social; 2013.
19. Ministerio De Agricultura Y Desarrollo Rural, Unidad de seguimiento de precios de leche, USP 2018; [acceso: 18 de abril de 2018]. URL: <http://ftpleche.minagricultura.gov.co/>.
20. Mizouchi S, Nelson M. Matrix extension study: validation of Compact Dry Ym for enumeration of yeast and mold in selected foods. *J AOAC Inter* 2016; 99 (3): 695-704.
21. Neveen SM, Salwa AA. Occurrence and identification of yeast species isolated from Egyptian Karish cheese. *J. Yeast Fun Res* 2011; 2 (4): 59-64
22. Ortiz EP, Pérez RA, Orozco CA. Identificación de agentes micóticos en muestras de leche obtenidas en tanques de enfriamiento. *Rev Cien Agri* 2017; 14 (2): 99-106.
23. Panelli S, Brambati E, Bonacina C, Feligini M. Diversity of fungal flora in raw milk from the Italian Alps in relation to pasture altitude. *Sp P Journal* 2013; 2 (1): 405-414.
24. Pukančíková L, Lipničánová S, Kačániová M, Chmelová D, Ondrejovič M. Natural microflora of raw cow milk and their enzymatic spoilage potential. *Nova Biotech et Chim* 2016; 15 (2): 142-155.
25. Segundo C, Cervantes RA, Ducoing AE, De La Peña A, Villa L. Yeast isolation from bovine mammary glands under different mastitis status in the Mexican High Plateau. *Rev Iber Mic* 2011; 28 (2): 79-82.
26. Solera JS; Laboratorios Microkit. Certificado de validación de análisis de alimentos 2009; [acceso: 30 de mayo de 2018]. URL: <https://www.microkit.es>> publicaciones.
27. Spanamberg A, Wunder EA, Brayer DI, Argenta J, Cavallini EM, *et al.* Etiología de la mastitis bovina producida por levaduras en el sur de Brasil. *Rev Iber Mic* 2008; 25 (3): 154-156.
28. Williamson JH, Di Menna ME. Fungi isolated from bovine udders, and their possible sources. *N Z Vet J* 2007; 55 (4): 188-190.
29. Zeinab AM, Warda AG, Abdel G, Hamid D. Isolation and identification of lactic acid bacteria and yeast from raw milk in Khartoum State (Sudan). *Res J Micro* 2008; 3 (3): 163-168.