

Cultivo en el Tambo Rol del Veterinario



Pamela Ruegg, DVM, MPVM
University of Wisconsin, Madison

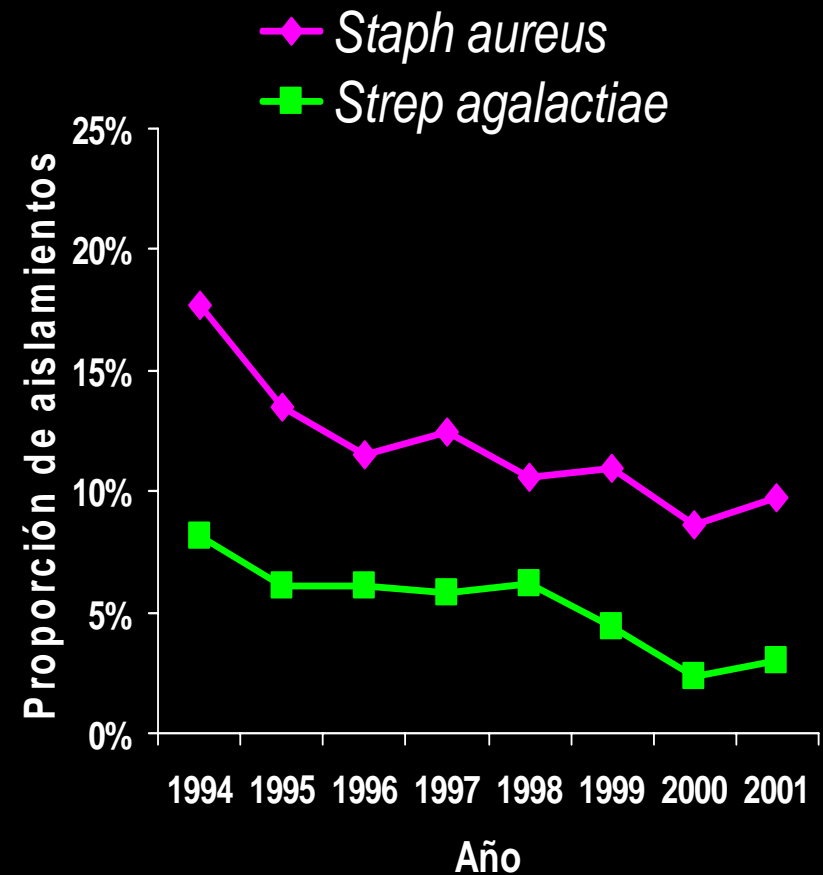
Porque cultivar muestras de leche?

- Identificar agentes patógenos
 - Es contagioso?
 - Identificar vacas para aparte/rechazo
- Monitoreo
 - Detectar patógenos nuevos
 - Micoplasma?
- Hacer un diagnostico para decidir tratamiento apropiado
- Evaluar la eficacia de los tratamientos?
 - Es esta la manera correcta de evaluar la curación??



Aislamiento de Bacterias de >77.000 muestras de leche, WI, 1994-2001

- Reducción marcada de prevalencia de patógenos causantes tradicionales de mastitis contagiosa
 - *S aureus*
 - *Strep ag*



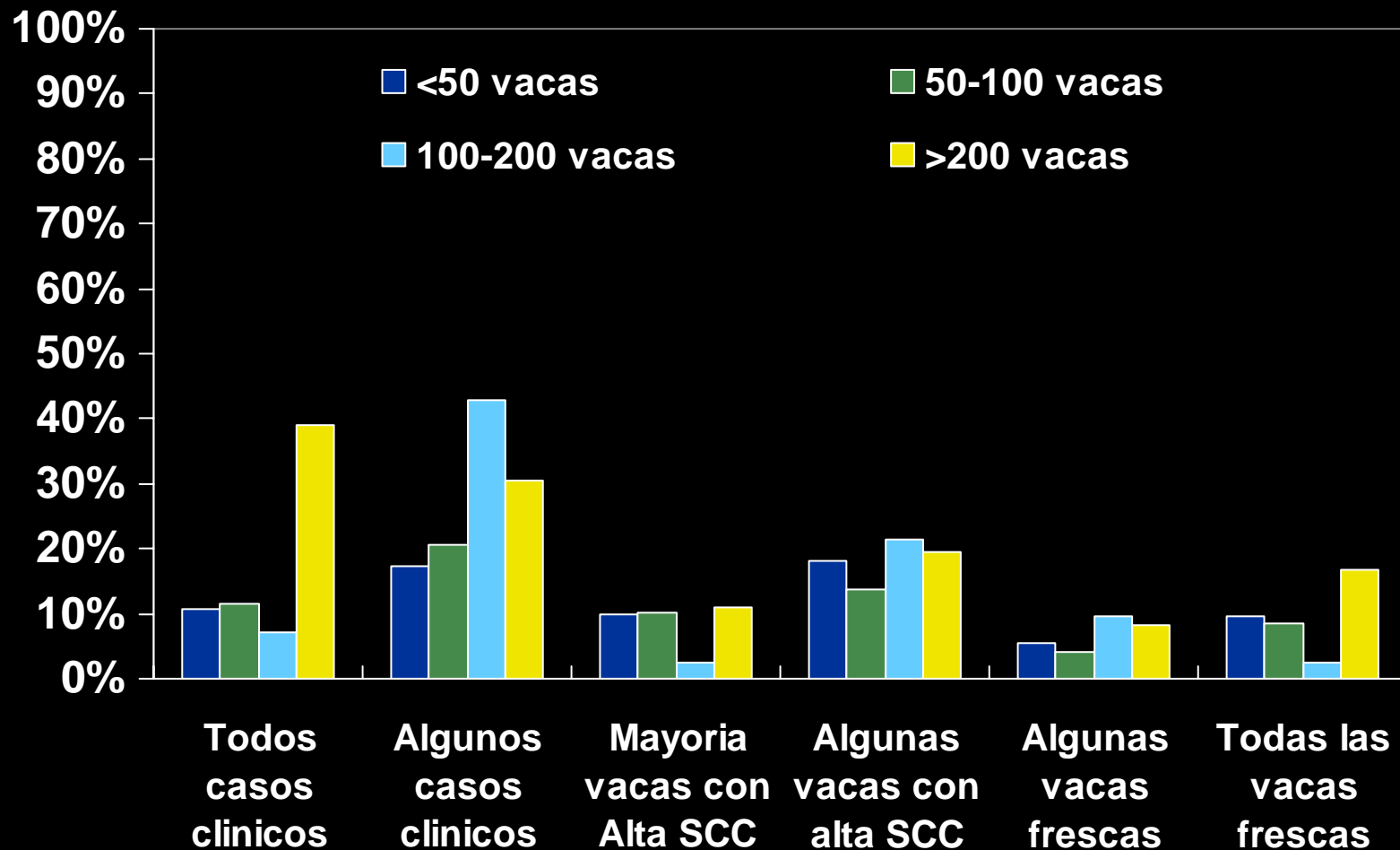
Principios de un tratamiento eficaz contra mastitis clínica

- Identificación temprana de mastitis
- Diagnóstico presuntivo del patógeno causal
- Conocer la probabilidad de que el tratamiento sea eficaz



Frecuencia de cultivo de muestras de leche

Productores de Wisconsin (n = 547)



Uso de Cultivo en Tambo (OFC) Tamberos de Wisconsin 2006

- 134 respondieron a una encuesta de tambos que participaban del “Milk Money program”
 - 20 (15%) hacían cultivo en tambo
 - 41% (9) esperaban los resultados para tomar la decisión de tratamiento
 - Tambos que hacían OFC eran los mas grandes



Principios del Cultivo en Tambo

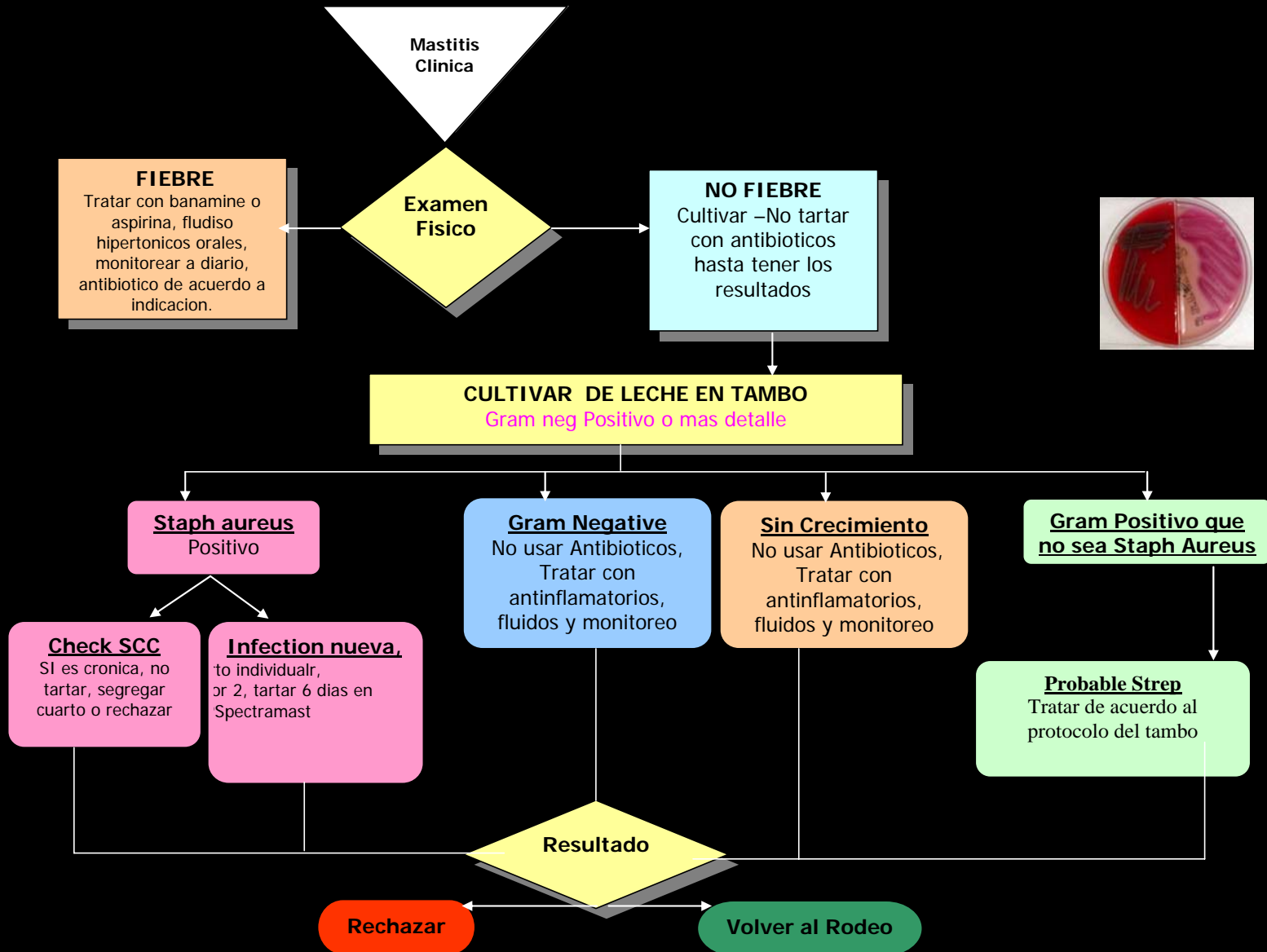
- Arribar rápidamente al diagnóstico bacteriológico de mastitis
 - Proveer con el tratamiento adecuado durante el tiempo adecuado
- Uso de medios selectivos para un diagnóstico rápido
 - Atajos de Laboratorio
- Decisiones típicas
 - Tratar o no tratar (TNT)
 - Gram + versus Gram neg o no crecimiento
 - Crónicas
 - Staph aureus
 - Tratar con drogas de amplio spectrum para Gram negativas
 - Alterar la duración del tratamiento

Objetivo: Cultivo en Tambo

- Apuntar al uso de antibióticos intramamarios contra para infecciones con Gram +
- Concepto:
 - Identificación temprana de mastitis clínica
 - Clasificar casos
 - Leve (Grado 1) – solo leche anormal
 - Moderada (Grado 2) – leche anormal y cuarto inflamado
 - Severa (Grado 3) – vaca enferma
 - No tratar Grados 1 & 2 hasta tener un diagnostico presuntivo



Uso de protocolos de tratamiento basados en el tambo



Como son usados los datos?

Cow ID	Date	Blood	Macconkey	SCC	Treatment
2024	6/12	+	-	2,654,000	Today
2011	6/12	+	-	448,000	Today
108	6/12	No Growth		99,000	
234	6/13	+	+	135,000	
2043	6/13	No Growth		fresh	
1096	6/13	+	+	115,000	Maxcel
2660	6/14	+	-	fresh	Today
321	6/15	+	+	fresh	Maxcel
757	6/15	+	+	64,000	Today
1303	6/25	+(very light)	-	fresh	w/T ✓
730	6/25	No Growth		fresh	N/T
2106	6/25	No Growth		2,082,000	N/T

cow/14

Uso de los Datos

s Treatment Log

Date	Culture Result	Rx 1	Rx 2	Rx 3	DCC	Rx 4	Rx 5	Rx 6	DCC	Rx 7	Rx 8	Rx 9	DCC	Comments
6/28	G+ / LR	T	T	T	220,000	P	P	RP						OFF 7/4
6/20	G+ / 4D	H-AM	H-AM	H-AM	2,200,000	H-AM	H-AM	H-AM	6,400,000					Yellow band → Blue
7/1	G- / RR	T	T	T	-	T	T	T	1,910,000					Yellow band
6/24	N/G / RF	N	N	T	-	T	T	T	520,000	P	P	Y	290,000	OFF 7/7
7/1	N/G / RF	T	T	T	-	T	T	T	141,000					
6/28	G+ / RF	T	T	T	-	T	T	T	420,000	P	Y	Y	398,000	OFF 7/8
6/30	N/G / LF	N	N	N-AM	-	N	PenG							
6/29	N/G / LR	P-AM	P-AM	P-AM	179,000									OFF 7/8
6/30	G- / LR	N-A	N-A	N	902,000	N	N-A	N	1,200,000					
6/31	G+ / RF	T-AM	T-AM	T-AM	-	T-AM	T-AM	T	190,000					OFF 7/10
7/4	N/G / LF	T	T	T	-	T	T	T	59,000					OFF
7/6	AM / LR	Pen G												
7/7	G- / RF	N-A	N	N	-	N	N	N	-	suspend treatment → yellow band				
7/9	G- / RR	A-N	A-N	N	-	N	N	N						
7/9	LF	T	T	T	-	T	T	T						
6/30	N/G / LR	T	T	T	-	T	T	T	-	D	D	D		→ Quit treatment → yellow band
7/10	?? RF / LR	T	T		598,000									
7/16	G- / LR	N	N	N	-									
7/17	G- / LF	P/AM	P/AM	P/AM	81,000									
7/21														
7/21	G- / ALLY													
7/21	N/G / ALLY													

P=Pirsue
 M=Amoximast
 A=Albon/Oxytet
 D=Dariclox
 B=Banamine
 H=Hyper 7
 AM=Ampicillin

Temas de Diagnóstico

- Toma de muestra
- Manejo de la muestra
- Volumen del inóculo
- Fallas de diagnóstico
 - Experiencia???
 - Recuperación de patógenos encontrados raramente



Entonces...que podemos esperar de los sistemas de cultivos en Tambo???

USING ON-FARM MASTITIS LABS TO DIAGNOSE MASTITIS FASTER

Because bacteria are abundant in the farm environment and on the teat skin, prevention of intramammary infection and clinical mastitis is

difficult, even when common procedures and environmental nutritional practices are in place. When clinical mastitis occurs, the dairy producer must decide each cow, and whether the deficiencies in mastitis control that must be addressed.

For some dairy operators, on-farm laboratories can be an inexpensive way of mastitis management. When used properly, on-farm labs allow producers to quickly diagnose clinical mastitis in cows. Cultures of quarters for mastitis can provide results in as little as 24 hours – compared to two to three days for results from an off-farm laboratory.

The common system of culturing can tell the producer if the organism is Gram-positive or Gram-negative. This insight helps by potentially saving them only the Gram-positive bacteria in the farm environment

and on the teat skin. Gram-positive environmental bacteria are more likely to respond to antibiotic treatment than Gram-negative pathogens. Some common Gram-positive environmental bacteria

enough experience to become comfortable reading the plates,” states Dr. Pam Ruegg, professor and extension milk quality specialist at the University of Wisconsin. Designate one person to analyze

“We believe the tests are 100 percent accurate for both Gram-positive or Gram-negative.”



On-farm mastitis testing can increase control of infections and clinical mastitis.

with several different culture plans, an incubator, refrigerator, and a microscope (if possible). Perhaps most critical in establishing an effective on-farm lab is maintaining a clean, uncontaminated work area.

Richardson noted, “Keeping the laboratory clean and germ free is a never-ending job, but one that is crucial to success. We all try to keep manure and dirt off of our boots and to keep dust out of the lab area. But, dust and debris somehow always find a way in.”

“On-farm culturing has increased rapidly over the last three to five years primarily because the specialized labor on large farms allows them to gain

as Dr. Ruegg. Mr. Richardson received his training in a couple of days, through both Penn State University and Cornell University. University researchers and veterinarians frequently and willingly provide ongoing education and support by sending routine tests to the on-farm lab trainer, which are assessed to provide immediate feedback to that person. More information about on-farm mastitis labs can be obtained by contacting the veterinary schools of University of Wisconsin, University of Minnesota, Cornell University, and the Veterinary Science Department of Penn State University, or the National Mastitis Council (www.nmcouncil.org).

Evaluación de los Sistemas de Cultivo en Tambo

- 48 ¼ muestras de

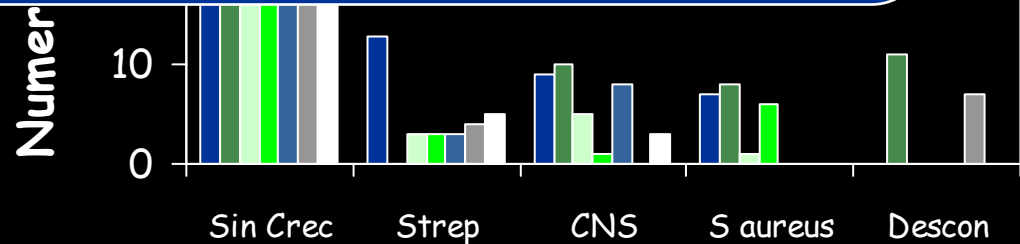
le

- S
- a

- E

Concordancia con NMC:
 63% Petrifilm
 80% Easy Culture
 89% Quad Plates

Experimentados & no experimentados
 - 12, 24 & 36 horas



Evaluación del Cultivo en Tambo

Sistemas de Cultivo-Biplacas

- Lago et al., NMC 2006
- Estudio en varias regiones (MN, WI, y Ontario evaluaron cultivo en Tambo)
- 80 casos (cuartos)
- Valor predictivo positivo del test = 83%
- Valor Predictivo negativo del test = 90%



Cultivo en Tambo

Laboratorio

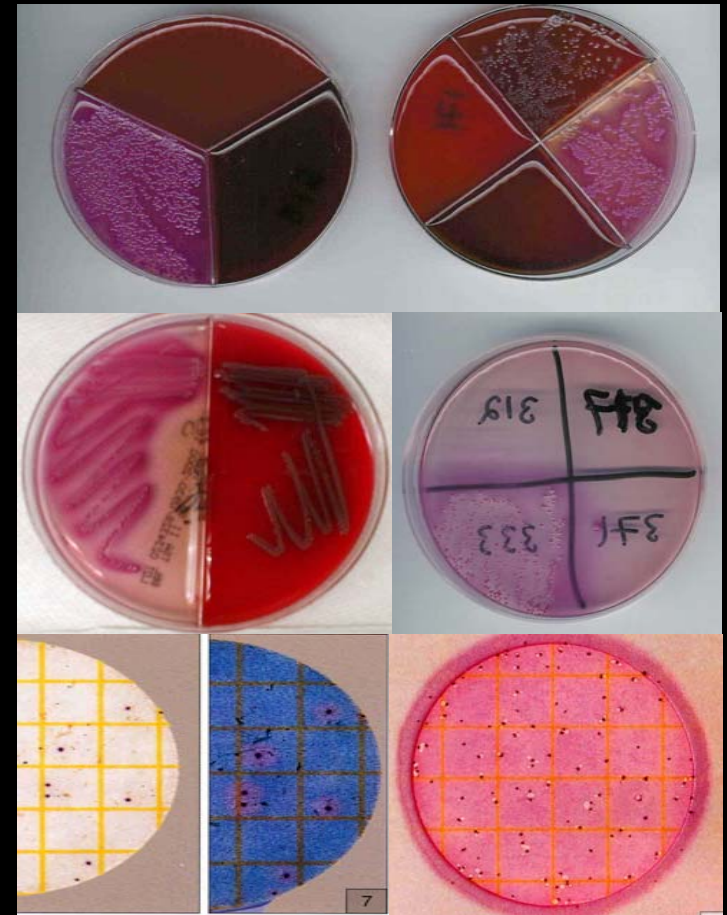
Gram + Gram -

Gram +	25	5	30
Gram -	5	45	50
	30	50	80

Método de Cultivo en Tambo

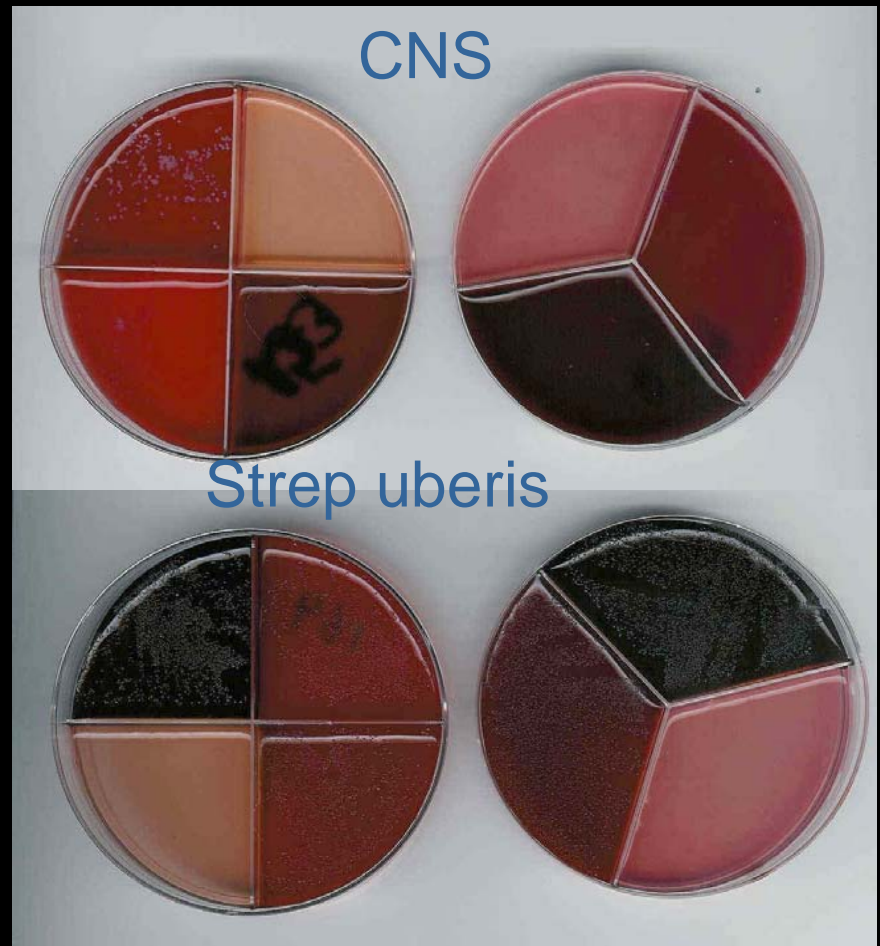
Requirimientos

- Suficientes casos clínicos para ser competente
- Personal del tambo con interes
- Incubadora, Heladera/Freezer
- Una lugar apropiado
- Ideal
 - Pocos casos causados por *S. aureus*, *Strep ag.* or *Mycoplasma spp.*
- Entrenamiento suficiente



Medios Usados en Cultivo en Tambo

- Agar Sangre – Medio no selectivo, crecen la mayoría de los organismos de mastitis
- McConkey – Selectivo para coliformes
 - E. coli & Klebsiella
- TKT – selectivo para streptococci
- KLMB – selectivo para Staph spp.
 - Hemólisis esperada para la mayoría de Staph aureus
- Productos Petrifilm



Identificación Típica Usando Bi-Placas

Patogeno	Agar Sangre	McConkey	Otros Tests
Strep spp.	Pequeña, no Hemólisis	Sin crecim	Gram pos. Catalase neg.
Strep ag	Zona clara pequeña	Sin crecim	Gram + CAMP pos. Catalase neg.
Staph spp.	Colonias blancas o amarillas. Hemólisis variada	Sin crecim	Gram + Coag neg. Catalase +
Staph aureus	Colonias grandes Hemólisis	Sin crecim	Gram + Coag pos. Catalase +
E. Coli	Colonias grandes Gris	Zona rosada	Gram neg. KOH +
Klebsiella spp.	Mucoide grande	Colonias rosadas	Gram neg. KOH +

Identificación Usual de *Staph aureus*

- Catalasa +
- Coagulasa +
 - 15% son coagulasa neg.
- Hemólisis
- Crecimiento en Agar Sal Manitol
- Otras catalasa +, coagulasa positivo Staphylococci
 - *S hyicus*
 - *S intermedius*



Cual es el Rol del Veterinario?

- Entrenamiento Inicial
 - Toma de muestras
 - Selección de materiales
 - Incubador real o incubadora de huevos
 - Ubicación del laboratorio
 - Humedad
 - Calor
 - Bioseguridad
 - Lectura de Placas
- Supervisión
 - Cual es el protocolo de tratamiento?
 - Como se cumplen los trabajos?
 - Cuando un tratamiento se debe cambiar?
 - Se están leyendo las placas correctamente?
 - Se registran y usan los resultados?

Mensaje para llevarnos al Tambo

- El cultivo en tambo puede incrementar el diagnóstico de patógenos causantes de mastitis
- Las limitaciones del cultivo en tambo deben ser entendidas por el personal
- Los sistemas de cultivo en tambo parecen ser efectivos para guiar el tratamiento de mastitis
 - Los veterinarios tienen un rol importante en los sistemas de cultivo en tambo