



# CULTIVO BACTERIOLÓGICO EN GRANJA

COMO HERRAMIENTA DE APOYO EN LA TOMA DE DECISIONES  
PARA EL TRATAMIENTO DE LAS MASTITIS CLÍNICAS BOVINAS





Cama inadecuada para los animales, apoyo de la ubre en el suelo, limpieza insuficiente... son factores que favorecen la aparición de mastitis. Actualmente las explotaciones lecheras, conscientes de su repercusión en la producción, están muy atentas al confort de las vacas. Aun así, existen muchas circunstancias en las que las mastitis siguen siendo un problema sanitario y económico.

En Boehringer Ingelheim nos tomamos muy en serio la necesidad de producir alimentos para consumo humano con la máxima garantía sanitaria, y desde un entorno rentable para el productor. La responsabilidad de nuestros profesionales, ganaderos y veterinarios, está fuera de toda duda, y colaborar con ellos es siempre para nosotros una prioridad.

Pero somos además, conscientes de las enormes repercusiones que esta actividad tiene en la seguridad y el bienestar de la población. El concepto de "salud única" se ha instalado en nuestro genoma, y sentimos la necesidad de expresarlo en cada proyecto que acometemos.

Nuestro deseo no es otro que el de colaborar con el desarrollo de la producción lechera dentro del marco de esa salud única, que comparten personas y animales en este mundo globalizado.

Firmes en nuestro compromiso de generar valor con nuestros productos, así como hacer de la formación continuada uno de nuestros pilares, ponemos a disposición de los profesionales del cuidado de la salud de la ubre y de la Calidad de Leche esta guía práctica para una puesta en marcha eficaz del Cultivo en Granja.

Este manual va dirigido fundamentalmente a los profesionales veterinarios especialistas en Calidad de Leche, pero también al resto de profesionales capacitados del sector, así como a estudiantes que se inician en esta especialidad. Deseamos sinceramente que resulte para todos ellos de utilidad.





## Prólogo

Leo, en un viejo libro, las alteraciones más importantes que se pueden producir en la leche de vaca. Su título es “Elementos de agricultura y zootecnia”, y el autor, Augusto Leganda, fechado en 1875. Me llama la atención las cuatro afecciones más importantes que se citan: leche agria, leche amarga o de mal gusto, leche sanguinolenta y leche azulada. Me detengo en la explicación de la “azulada” por insólita. Dice así el autor:

“...al ordeñar, la leche es de aspecto normal y no se vuelve azul hasta las veinticuatro a cuarenta y ocho horas. Las investigaciones microscópicas de un veterinario de Berlín, el sr. Fuchs, han demostrado que la casusa reside en el desarrollo en aquel líquido de un animal infusorio que se multiplica con una rapidez pasmosa, y cuyo tamaño es tan excesivamente diminuto que 40.000 de esos pequeños seres apenas podrían cubrir la superficie de una lenteja.” Y como recomendación para evitarlo, nuestro querido Leganda sugiere practicar una: “limpieza de todos los utensilios con una lejía fuerte, cambiar de alimentos a la vaca y administrarla una ligera purga y cocimiento de hojas verdes de ajeno u otra planta amarga aromática, son los mejores remedios para combatir esta alteración”.

Sin saber si se refería a una contaminación por *Pseudomona fluorescens*, la conclusión a la que llego después de leer el citado tratado es que nuestra profesión, de una manera u otra, desde siempre ha puesto todo su saber y empeño en analizar, corregir y mejorar la calidad de los alimentos que llegan a nuestras mesas. Los colegas que conocieron la época de ese libro, hace algo más de 150 años, tenían que combatir los problemas con las armas que por entonces disponían; no había antibióticos ni por tanto resistencias, pero mantenían el mismo espíritu que hoy mueve a nuestra profesión: conseguir la mejor calidad sanitaria de un producto tan esencial para la dieta humana como es la leche. Sus remedios botánicos, por obra del sobreuso que hemos hecho de la antibioterapia después, vuelven a estar de moda y cada día tomarán un mayor protagonismo; ironías del destino...

Casi toda mi actividad como veterinario la he dirigido a la nutrición de los rumiantes, y mi ocupación siempre ha sido y sigue siendo conseguir que mis ganaderos tengan no solo una elevada producción al coste más bajo posible, sino también unos altos porcentajes de sólidos totales con un bajo recuento de células somáticas. Nuestras áreas de trabajo coinciden más de lo que nos damos cuenta, y quizá sea esta una tarea pendiente de encarar: la comunicación entre especialistas.

Llegan nuevos tiempos para todos, y me atrevo a calificarlos de buenos tiempos teniendo en cuenta las tecnologías y herramientas que están surgiendo en la mejora de nuestro trabajo dentro de las vaquerías. Este manual es solo un ejemplo más; una herramienta de formación para hacer más práctica y eficaz nuestra tarea. Aboga por la implantación del cultivo en granja —algo impensable hasta ahora—, para conseguir una mayor rapidez y efectividad en la detección del agente infeccioso. Pero todos sabemos que en menos de dos años el secado antibiótico selectivo será obligatorio, como también que asistiremos a una nueva época donde dispondremos de mucha más información sobre lo que sucede a diario a nuestras vacas, en algunos casos de una forma inmediata y mucho más amplia de lo que veníamos recibiendo.

Los robots de ordeño ofrecen ya la posibilidad de gestionar, analizar y realizar una detección rápida de los problemas, adelantándose en muchos casos a lo que va a suceder. Pero en muy poco tiempo empezaremos a ver cómo nuestros clientes invierten en sensores tipo SenseHub o los crotales Esenseflex y Csenseflex, como los pendientes Smartbow, para realizar una mejor gestión reproductiva, nutricional y sanitaria, como también para evaluar el cow confort de la explotación.

Estas nuevas tecnologías, como las que irán apareciendo, monitorizarán la información de las vacas a tiempo real, las veinticuatro horas del día, y nos ayudarán a tomar mejores y más rápidas decisiones, harán que nuestro trabajo sea más preciso y directo, y conseguiremos mejorar la gestión del rebaño optimizando la productividad del mismo.

Tocará que nos formemos mejor y adaptarnos a un entorno nuevo: el del Big Data. Pero nuestra profesión ha demostrado a lo largo de su historia una enorme capacidad de adaptación; hasta en el nombre que nos han dado: hippiatras, mulomedicus, albéitares, veterinarius. Lo haremos una vez más, porque como cuerpo profesional, los veterinarios seguiremos siendo esenciales en el concepto que hoy se denomina “one health”, en la mejora de nuestra sociedad; en los alimentos que comen, en los animales que la sustentan, y en la salud del conjunto.

Serán nuevos tiempos para todos, también para los nuevos compañeros que lleguen...

Gonzalo Giner  
Veterinario & escritor

# Quiénes somos y qué pretendemos

## Autores



### Anna Jubert

Licenciada en Farmacia, especialidad en bioquímica por la Universidad de Barcelona (UB). Máster en biotecnología alimentaria por la Universidad Politécnica de Cataluña (UPC). Directora del Laboratorio Interprofesional Lechero de Cataluña (ALLIC).



### Oriol Franquesa

Licenciado en Veterinaria por la Universidad Autónoma de Barcelona. Máster en "Consulting and Management of Dairy Cattle Farms" por la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona. Socio fundador de Q-LLET (Servicios Veterinarios en Calidad de Leche S.L.P.).

## Colaboradores



### Manuel Cerviño

Licenciado en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid. Doctor en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid. Asesor Técnico Veterinario en Boehringer Ingelheim Animal Health España.



### Pilar Folch

Licenciada en Veterinaria por la Universidad Autónoma de Barcelona. Doctora en Veterinaria por la Universidad Autónoma de Barcelona. Brand Manager para antibióticos, antiparasitarios y nutracéuticos en Boehringer Ingelheim Animal Health España.

*Este manual, pretende ser una herramienta práctica y útil para la toma de decisiones en el ámbito de la Calidad de Leche en ganado vacuno lechero. En él volcamos nuestra experiencia y conocimientos para ponerlos a disposición tanto de veterinarios como de ganaderos. Si conseguimos aportar un poco de claridad y orden en el correcto manejo de las infecciones intramamarias nos daremos por satisfechos.*

Los Autores

## GENERALIDADES

### Uso responsable de antibióticos en la producción lechera 8

### El cultivo en granja 10

¿Qué es el cultivo en granja? .....	10
¿Cuál es el objetivo del cultivo en granja? .....	10
¿A quién va dirigido? ¿Quién puede realizarlo? .....	
¿En qué explotaciones puede implantarse? .....	11
¿Qué ventajas tiene el cultivo en granja? .....	11
¿Qué consecuencias tiene posponer el tratamiento 24 h? .....	12
¿Qué eficacia tiene este sistema? .....	12

### El cultivo en granja: un apoyo para la toma de decisiones 13

Tratamiento selectivo de los casos de mastitis clínica .....	14
¿Qué aporta el cultivo en granja respecto al cultivo en laboratorio? .....	15

## MUESTRAS Y LABORATORIO

### La toma de muestras y envío al laboratorio 16

Una muestra de leche aséptica .....	16
Formación del personal .....	16
Puntos clave en la toma de muestras .....	17

### Zona de laboratorio en la explotación 18

Equipamiento y material .....	18
Incubadora a 37 °C .....	18
Refrigerador o nevera con congelador .....	19
Material .....	19
Registro de resultados .....	19

## PROTOCOLOS DE CULTIVO

### Protocolo para el cultivo 20

Área de trabajo: análisis y procesado de muestras .....	20
Procedimiento de siembra .....	21
Incubación (tiempo/temperatura) .....	22
Almacenamiento de las muestras y material usado .....	23
Limpieza y desinfección del área de trabajo .....	23

## INTERPRETACIÓN Y ACTUACIÓN

### Lectura e interpretación 24

Placas .....	24
Sistema de cultivo biplaca .....	24
Sistema de cultivo triplaca .....	24
Lectura .....	25
Tubos .....	26
Lectura .....	26
Evaluación del cultivo en granja y del protocolo de toma de muestras .....	27

### Protocolo de actuación 28

Clasificación de las mastitis .....	28
Árbol de decisiones .....	29

### Monitorización de resultados 30

¿Cómo evaluar si el sistema está funcionando? .....	30
---	----

## Uso responsable de antibióticos en la producción lechera

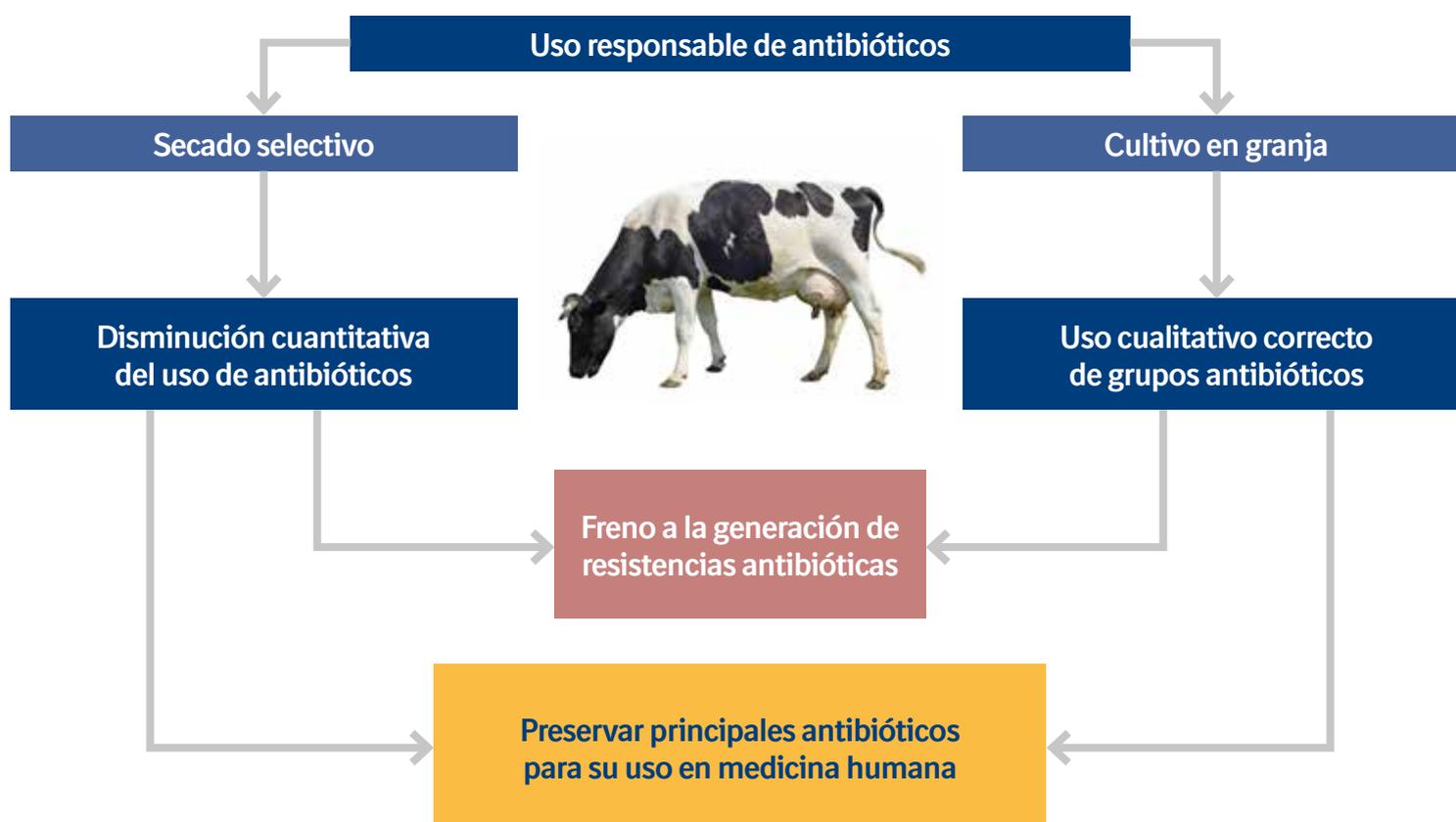


El descubrimiento del primer antibiótico a mediados del siglo XX supuso un paso trascendental en el tratamiento de las infecciones bacterianas, tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, y marcó el inicio de la producción animal moderna.

Pero pronto los científicos apreciaron cómo su uso conducía de manera inexorable al desarrollo de resistencias bacterianas, situación especialmente agravada por la utilización excesiva e inadecuada tanto en medicina veterinaria como en medicina humana. Este hecho ha conducido a una clara pérdida de efectividad del arsenal terapéutico, con dramáticas consecuencias; las bacterias multirresistentes causan 33000 muertes al año en Europa y generan un gasto sanitario adicional de unos 1500 millones de euros.

El mayor uso de antimicrobianos en la producción lechera corresponde al tratamiento y prevención de las infecciones intramamarias, en buena medida aconsejado en su momento por las organizaciones más prestigiosas a nivel mundial.

La alternativa está clara, **el uso de antibióticos destinados a tratamientos de mastitis clínicas y de secado deben restringirse cuantitativamente** y además, dirigirse adecuada y objetivamente, de manera que no contribuyan a acelerar la generación de resistencias. Para ello, dos herramientas han sido desarrolladas y han mostrado sobradamente su eficacia: **el uso selectivo de antibióticos en el secado**, que restringe el uso de estos a los animales con mayor probabilidad de desarrollar infecciones mamarias (IM), y **el cultivo en granja**, que facilita la elección del grupo antibiótico, disponible en medicina veterinaria, al que el germen se muestre más sensible y, por tanto sea más efectivo.



# El cultivo en granja

## ¿Qué es el cultivo en granja?

Como su propio nombre indica, el cultivo en granja es la siembra de leche y crecimiento selectivo de los agentes causantes de una infección intramamaria, utilizando los medios necesarios e indispensables, fuera del laboratorio de análisis (habitualmente en la propia granja).



## ¿Cuál es el objetivo del cultivo en granja?

El principal objetivo del cultivo en granja es el de determinar **qué grupo bacteriano es el causante de la infección intramamaria**, para así poder tomar una decisión fundamentada sobre qué antibiótico debe utilizarse, o incluso si puede evitarse el uso de un antibiótico.

## ¿A quién va dirigido? ¿Quién puede realizarlo? ¿En qué explotaciones puede implantarse?

El procedimiento del cultivo en granja está protocolizado, y es sencillo de realizar, por lo que puede ser llevado a cabo por cualquier persona con el entrenamiento adecuado.

La interpretación de los resultados, así como las modificaciones de los procedimientos establecidos, deben ser dirigidos por el veterinario responsable.

El cultivo en granja de las muestras de leche puede realizarse en cualquier explotación que:

Disponga de un veterinario responsable

Disponga de personal entrenado

Disponga de un lugar adecuado, que cumpla con los requisitos



## ¿Qué ventajas tiene el cultivo en granja?

**1** Acelera la toma de decisiones de los casos analizados.

**2** Favorece un uso racional de los antibióticos para luchar contra las resistencias de las bacterias a los antibióticos:

- Disminuye cuantitativamente su uso
- Permite la elección de las familias antibióticas más adecuadas

**3** Mejora los resultados económicos y sanitarios:

- Menos leche descartada
- Mejores ratios de curación
- Menos recaídas

## ¿Qué consecuencias tiene posponer el tratamiento 24 h?

El tiempo transcurrido desde la detección del caso, hasta la obtención del resultado oscila entre 12 y 24 h, que es el tiempo de demora en la aplicación del antibiótico de elección (de uno a dos ordeños, según la frecuencia de ordeño).

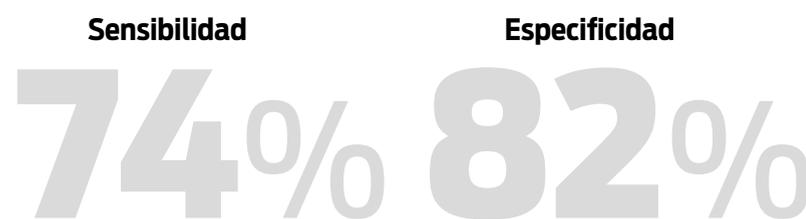


Es un hecho suficientemente contrastado que la tasa de repetición de casos en tratamientos inmediatos, en comparación con demoras de 24 horas, es muy similar.

(1) Martín Pol y col. On-Farm Culture: Characteristics Of The Test. Proceedings NMC Annual Meeting 2009

## ¿Qué eficacia tiene este sistema?

Diferentes estudios, también señalan que el cultivo en granja alcanza una **sensibilidad del 74%** y una **especificidad de 82%**, con tasas de curación bacteriológica que varían entre el 77%, para casos en los que no se precisaba uso de antibióticos, y un 87% para casos tratados con antibióticos<sup>1</sup>.



**Sensibilidad:** mide el % de animales infectados que resultan positivos a la prueba.

**Especificidad:** mide el % de animales libres de infección que resultan negativos a la prueba.

La sensibilidad mide la capacidad para detectar como positivos aquellos que lo son, mientras que la especificidad mide la capacidad para detectar como negativos aquellos que lo son.

## El cultivo en granja: un apoyo para la toma de decisiones

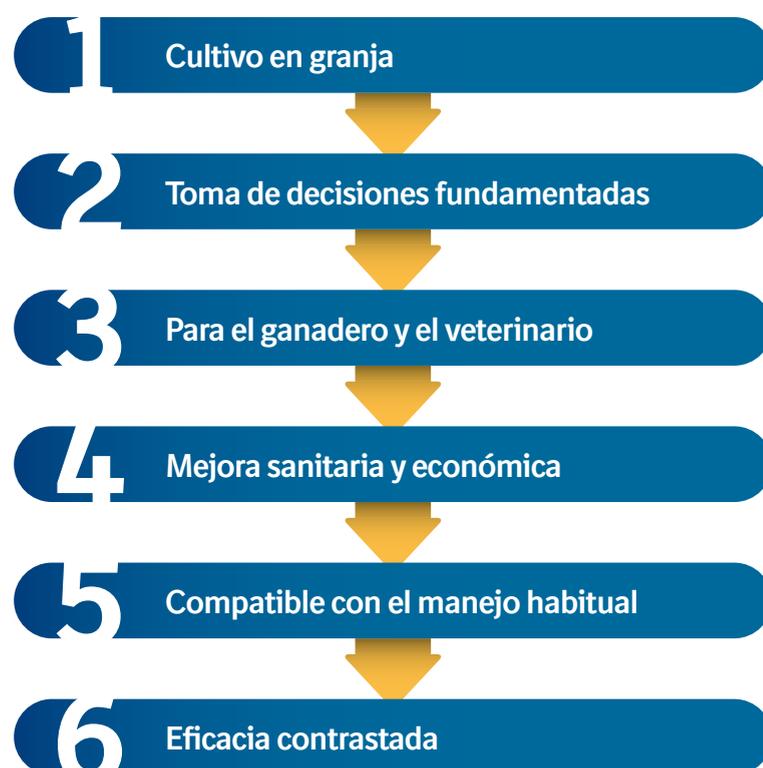
**El cultivo bacteriológico en granja es una herramienta de apoyo en la toma de decisiones para el tratamiento de las mastitis clínicas bovinas.**

El cultivo de la leche es un procedimiento de laboratorio que permite la identificación de las bacterias causantes de las mastitis clínicas o subclínicas. Algunas de estas técnicas de cultivo son simples, y baratas y se pueden realizar fácilmente en la granja. Esto permite que los resultados positivos de cultivo estén disponibles en tan solo 18 horas.

Como hemos visto, los sistemas de cultivo en las granjas pueden proporcionar a los productores lecheros una manera, rápida, sencilla y de bajo coste, para identificar la bacteria predominante causante de la mastitis y así poder tomar decisiones para su tratamiento.



Plan Nacional  
Resistencia  
Antibióticos



## Tratamiento selectivo de los casos de mastitis clínica

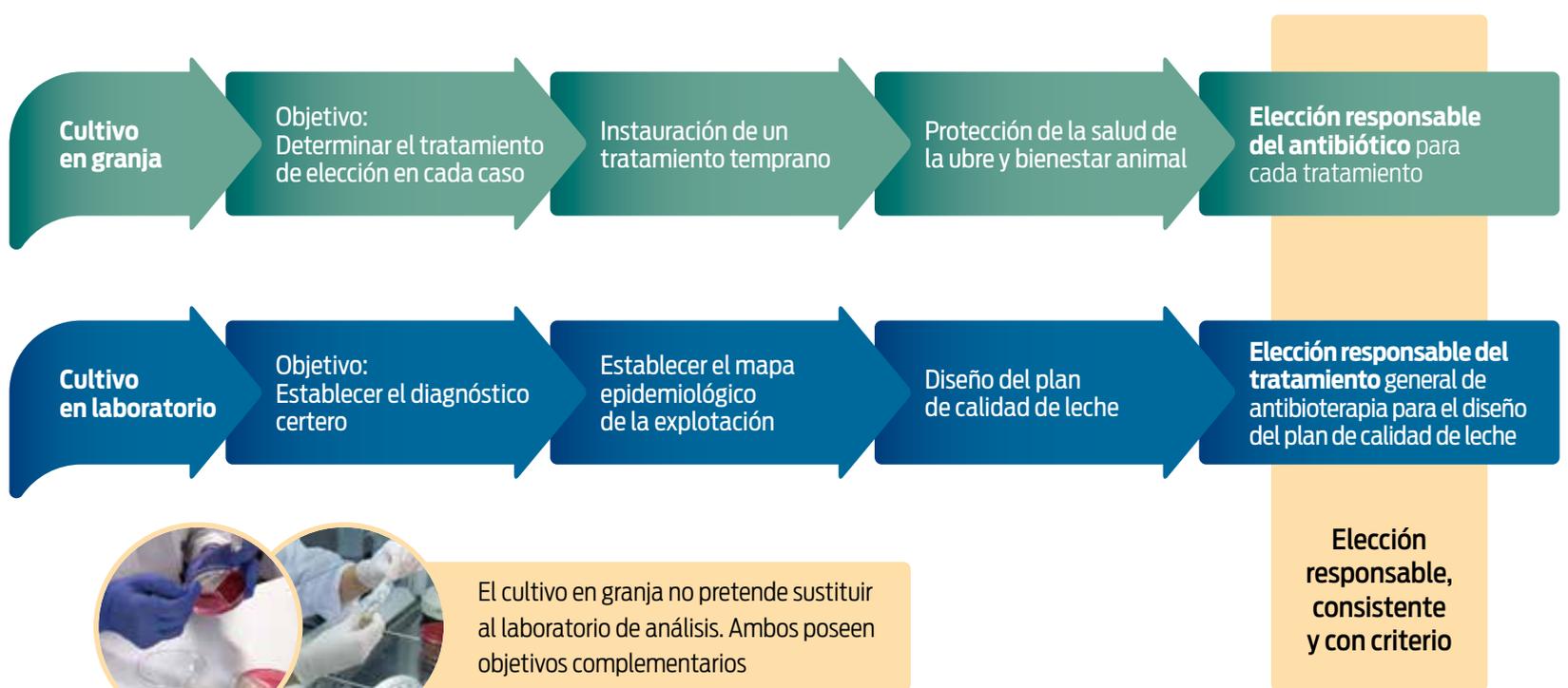
### Medida para reducir el uso de antibióticos en animales de producción

Buena herramienta para la diferenciación de mastitis Gram+ de las que no lo son, pero no reemplaza al laboratorio de diagnóstico habitual.

No implementar ningún sistema de prueba rápida en rebaños con *Mycoplasma* spp., *Prototheca* spp. o *Trueperella pyogenes*.



## ¿Qué aporta el cultivo en granja respecto al cultivo en laboratorio?



## La toma de muestras y envío al laboratorio

### Una muestra de leche aséptica

Todo el sistema de cultivo en granja está basado en la recogida de una muestra de leche de la mastitis clínica de manera aséptica. Sin esta base, no podremos garantizar unos correctos resultados de los cultivos ni una correcta toma de decisiones a partir de estos resultados.



### Formación del personal

El personal de ordeño debe estar formado para realizar una **correcta recogida de muestras de leche de las mastitis clínicas**. Ellos son la pieza clave de todo el proceso. El método es sencillo pero debemos asegurarnos de que todo el mundo comprende la importancia de esta recogida de muestras.

Cuando detectamos que más del 5% de las muestras aparecen contaminadas al cultivo, debemos reforzar la formación del protocolo de toma de muestras incidiendo en los puntos clave.

**Todo el material necesario** para la toma de muestras (guantes, toallitas con desinfectante, tubos estériles, etc.) debe guardarse en lugar cerrado de manera que **siempre esté limpio y en buenas condiciones de uso**.



### Puntos clave en la toma de muestras

Utilizar **guantes limpios** antes de iniciar la toma de muestras.



**Limpiar el pezón** con una solución desinfectante (predipping) y secar con un papel individual.



**Desinfectar la punta del pezón** con una toallita impregnada en alcohol.



**Preparar el tubo de muestra.** Abrir el tapón con especial atención de no tocar la parte interna del tapón para evitar contaminaciones.



**Descartar los primeros chorros de leche.**



Mantener el tubo de muestra **inclinado (45°)** y llenar aproximadamente la **mitad del tubo**.



Cerrar el tubo procurando **no tocar la parte interior del tapón**.



**Identificar la muestra** (número del animal, cuarto afectado y fecha). Dejar la muestra en **refrigeración** hasta el momento de siembra.



# Zona de laboratorio en la explotación



## Equipamiento y material

### Incubadora a 37 °C

La temperatura es un factor crítico para el crecimiento de las bacterias y, por lo tanto, será un parámetro que habrá que controlar. Para ello, la incubadora tendrá un termómetro de fácil lectura para monitorizar su correcto funcionamiento.

Se recomienda configurar la incubadora una semana antes de usarla y **controlar la temperatura** en diversos momentos del día, para asegurarse de que la temperatura es constante.

Un factor que puede afectar a la temperatura es su ubicación: es importante que la incubadora esté en un emplazamiento donde la temperatura ambiente sea lo más constante posible. Aunque no se realicen cultivos todos los días, es aconsejable no apagar la incubadora, de otro modo se tendrá que esperar hasta que la temperatura sea constante antes de poder incubar el cultivo.

Hay que destinar una zona de la explotación para tareas de laboratorio. Se recomienda que en esta área **no existan corrientes de aire** y sea un espacio **sin grandes oscilaciones de temperatura**. Tendrá una superficie de trabajo de **fácil limpieza y desinfección**, y libre de desorden y polvo.

En esta área hay que evitar la contaminación accidental. Por ello, nunca deben colocarse alimentos ni bebidas, y los trabajadores deben usar siempre guantes desechables nuevos y limpios.



## Refrigerador o nevera con congelador

Se necesita disponer de un refrigerador o de una nevera con congelador, para poder guardar los kits y las muestras.



### Material

- Guantes de un solo uso.
- Viales para la toma de muestras y rejillas para sostener las muestras.
- Rotulador resistente al agua para etiquetar las muestras.
- Hisopos o palillos estériles con puntas de algodón o micropipetas estériles.
- Placas (biplacas o triplacas) o tubos.
- Desinfectante de superficies (alcohol de 70º o lejía diluida al 0,5%).
- Contenedor con bolsa sellada para los residuos.

## Registro de resultados

Fecha toma de muestras	Nº vaca	Cuarterón DD DI TD TI	Grado de mastitis clínica	Resultado cultivo en granja	Resultado laboratorio de referencia



# Protocolo para el cultivo

## Área de trabajo: análisis y procesado de muestras

- Paso 1** Limpiar y desinfectar la superficie de trabajo con alcohol de 70° o lejía diluida.
- Paso 2** Lavarse las manos y luego ponerse los guantes desechables. Si es necesario, entre muestra y muestra desinfectaremos los guantes.
- Paso 3** Identificar (rotular) los tubos o placas con el número de muestra (se relaciona con el nº de vaca, cuarterón de la ubre y fecha de toma de muestra). Para las placas, girar la placa y rotularla. Siempre usaremos tubos o placas nuevas. No usar nunca una placa o tubo ya utilizada, aunque no se haya detectado crecimiento anterior.
- Paso 4** Preparación de la muestra: si la muestra está congelada, dejarla en el refrigerador (nevera) hasta que se descongele completamente. Homogeneizar la muestra: mezclar (no agitar) invirtiendo la muestra suavemente aproximadamente 15 veces. Abrir el tapón y sembrar en placa o en tubo.



Si es posible, la siembra se realizará dentro de la primera hora de su recolección. Si la siembra se realizara más tarde, se conservará en nevera hasta un máximo de dos días y, si no, se congelará hasta un máximo de 60 días.

Paso

### 5 Procedimiento de siembra

#### Siembra en placas (biplacas o triplacas) selectivas

1. Usar un hisopo de algodón estéril. Para ello abra los paquetes de hisopos de algodón de manera que el extremo del algodón permanezca cubierto y solo el palo esté expuesto.
2. Sumergir el hisopo en la muestra, unos 8-10 s, hasta que esté saturado de leche. Evite tomar leche grumosa o coágulos (rodee el hisopo en la pared del tubo para quitar los grumos de leche de la punta del algodón).
3. Realizar la siembra en cada uno de los medios de cultivo. Antes de sembrar en cada sección de la placa, volver a sumergirlo en la leche.



Vídeo procedimiento de siembra en placa



#### Siembra en tubos con medio de cultivo selectivo

Para cada muestra, se deben usar 2 tubos con distinto medio de cultivo.

- ☐ MEDIO 1: **tapón blanco**.
- ☐ MEDIO 2: **tapón amarillo**. Identifique los dos tubos con el código de la muestra. Coja una pipeta desechable, insértela en el tubo de leche, apriete el bulbo y aspire leche. Asegúrese de que la micropipeta está totalmente llena.
- ☐ Abra el MEDIO 1 (tapón blanco) y evite el contacto de sus dedos con la parte interna del tapón. Vacíe cuidadosamente el contenido de la micropipeta en el MEDIO 1. La pipeta solo permite añadir 0,1 ml de leche. Si usted aspiró más leche, el sobrante permanecerá en el bulbo de la pipeta. Cierre el tapón y voltee el agar cuidadosamente varias veces para una correcta distribución de la leche en todo el agar. No deposite la micropipeta en la superficie de trabajo.
- ☐ Con la misma pipeta, repita los pasos, pero con el MEDIO 2, tapón amarillo.





Vídeo  
colocación en la  
estufa de placas

Paso  
**6**

**Incubación**  
(tiempo/temperatura)  
Colocar la placa o tubos en la  
incubadora preajustada a 37 °C

**Placas**

Las placas se colocarán boca abajo (el agar boca abajo).  
Se realizará una primera lectura a las 12-18 horas y, si  
no hay crecimiento, dejaremos incubar 12-18 horas más  
realizando una segunda lectura a las 24-36 horas de la  
siembra.

**Tubos**

Se realizará la lectura de los tubos a las 12-14 horas de la  
incubación y luego se desecharán.



**Almacenamiento de las muestras y material usado**

**Paso 7** Una vez realizada la siembra, guardar la muestra en  
el congelador por si hay que enviarla a un laborato-  
rio de referencia . En general, las muestras de leche  
se pueden almacenar congeladas hasta 8 semanas  
(60 días, 2 meses).

**Paso 8** Las placas de los kits que no se han utilizado se  
deben almacenar en la nevera, cerradas y al revés  
(lado de la tapa hacia abajo). No se deben congelar  
las placas de los medios.

**Limpieza y desinfección del área de trabajo**

Limpiar los posibles derrames inmediatamente con agua y jabón y  
desinfectar la zona de trabajo con alcohol de 70° o lejía diluida.

**Paso 9** Los residuos generados: micropipetas o hisopos,  
placas, tubos... se consideran de riesgo biológico y  
hay que eliminarlos como tales. Poner los residuos  
en una bolsa que contenga lejía o hipoclorito sódico  
al 5%, al menos durante 2 horas para la inactivación  
de los agentes biológicos contaminantes. Pasado  
este tiempo se pueden eliminar en los contenedores  
específicos de desechos biológicos que serán recogidos  
por una empresa externa.



# Lectura e interpretación

La mayoría de kits (placas o tubos) son útiles para la diferenciación de categorías amplias (Gram+ y Gram-), pero son menos fiables cuando se aplica un diagnóstico a nivel de género y especie.

## Placas

Las placas de cultivo normalmente son biplacas (dos medios de cultivo) o triplacas (tres medios de cultivo).



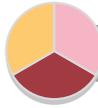
**Sistema de cultivo biplaca**

En el caso de las biplacas, con dos medios de cultivo, en una parte crecerán los gérmenes Gram+ y en la otra los microorganismos Gram-.

Dentro de los microorganismos Gram- está la familia de las enterobacterias, tales como *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Enterobacter* spp. y *Proteus* spp., entre otros.

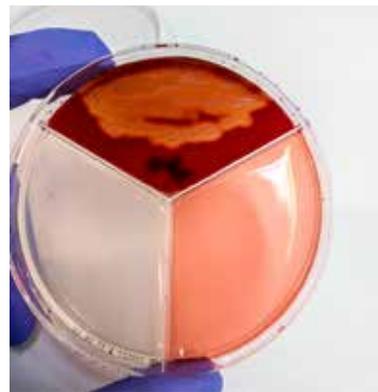
Los microorganismos Gram+ más representativos son los *Staphylococcus* y los *Streptococcus*. Dentro de los estafilococos están el *Staphylococcus aureus* y los estafilococos coagulasa negativos (SCN\*). Los estreptococos más importantes causantes de mastitis son *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* y los *Enterococcus* spp.

\* Actualmente denominados NAS (Non Aureus *Staphylococcus*).



**Sistema de cultivo triplaca**

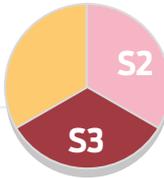
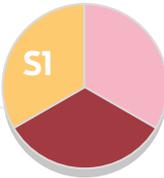
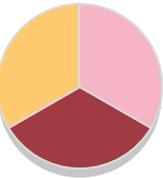
Con tres medios de cultivo: uno para Gram+, otro para Gram-, y un tercero que está indicado cuando en la explotación existe una problemática específica. En este caso, el tercer medio es selectivo, por ejemplo, para *S. aureus* o *Streptococcus*.



Generalmente los sistemas triplacas que encontramos en el mercado tienen un medio para Gram-, otro para *Staphylococcus* y otro para *Streptococcus*.

## Lectura

Una vez realizado el cultivo vamos a hacer frente a 4 posibles resultados:

 <p><b>Muestra contaminada</b> Repetir la toma de muestra en función del estado de animal</p>	 <p><b>Gram positivos</b> <i>S. uberis</i>, <i>S. aureus</i>, CNS*, <i>S. dysgalactiae</i>, <i>Enterococcus</i>, etc. Candidata a tratamiento con antibióticos</p>	 <p><b>Gram negativos</b> <i>E. coli</i>, <i>Klebsiella</i>, otros coliformes, etc. Candidata a <b>no</b> utilizar antibióticos</p>	 <p><b>Sin crecimiento</b> Sin presencia de bacterias. Candidata a <b>no</b> utilizar antibióticos</p>
 <p>Muestra contaminada</p>	 <p>Gram + <i>Staphylococcus</i></p>	 <p>Gram - <i>E. coli</i></p>	 <p>Sin crecimiento</p>

## Tubos

El sistema consta de dos tubos, cada uno con un agar distinto.

## Lectura

 <b>MEDIO 1</b> (tapón blanco) <b>CRECIMIENTO BACTERIANO</b>	 <b>MEDIO 2</b> (tapón amarillo) <b>GRAM POSITIVO</b>	<b>RESULTADO</b>		
BLANCO (+)	ROSA (-)	GRAM -/Coliformes		<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., otros coliformes ( <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> ) Infección mixta de Gram-
BLANCO (+)	BLANCO (+)	GRAM +		<i>S. aureus</i> , SCN*, <i>S. uberis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. dysgalactiae</i> , <i>Enterococci</i> , <i>Lactococcus</i> ) Infección mixta de Gram+
ROSA (-)	ROSA (-)	SIN CRECIMIENTO		Patógenos de crecimiento tardío: <i>Prototheca</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Pseudomonas</i> , Levaduras, <i>Mycoplasma</i> ... No hay bacterias

\* Actualmente denominados NAS (Non Aureus *Staphylococcus*).

## Evaluación del cultivo en granja y del protocolo de toma de muestras

El veterinario junto con el ganadero evaluarán los test de diagnóstico y los protocolos de actuación.

- 

Se considera una buena técnica de muestreo si hay menos del 5% de muestras contaminadas.
- 

Si más del 30-40 % de las muestras son sin crecimiento es recomendable mandar estas muestras al laboratorio de referencia.
- 

En caso de repetición de la mastitis es necesario enviar muestras al laboratorio de referencia para identificación y antibiograma.
- 

Es aconsejable establecer una frecuencia de envío de muestras al laboratorio de referencia para su confirmación (por ejemplo 2 veces al año).

# Protocolo de actuación

## Clasificación de las mastitis

Las mastitis suelen clasificarse en función de su gravedad en leves, moderadas o graves (o agudas).

**Leve:** alteración de la leche (pocos grumos), sin inflamación, poca reducción de la producción de leche y sin alteración del estado general del animal.

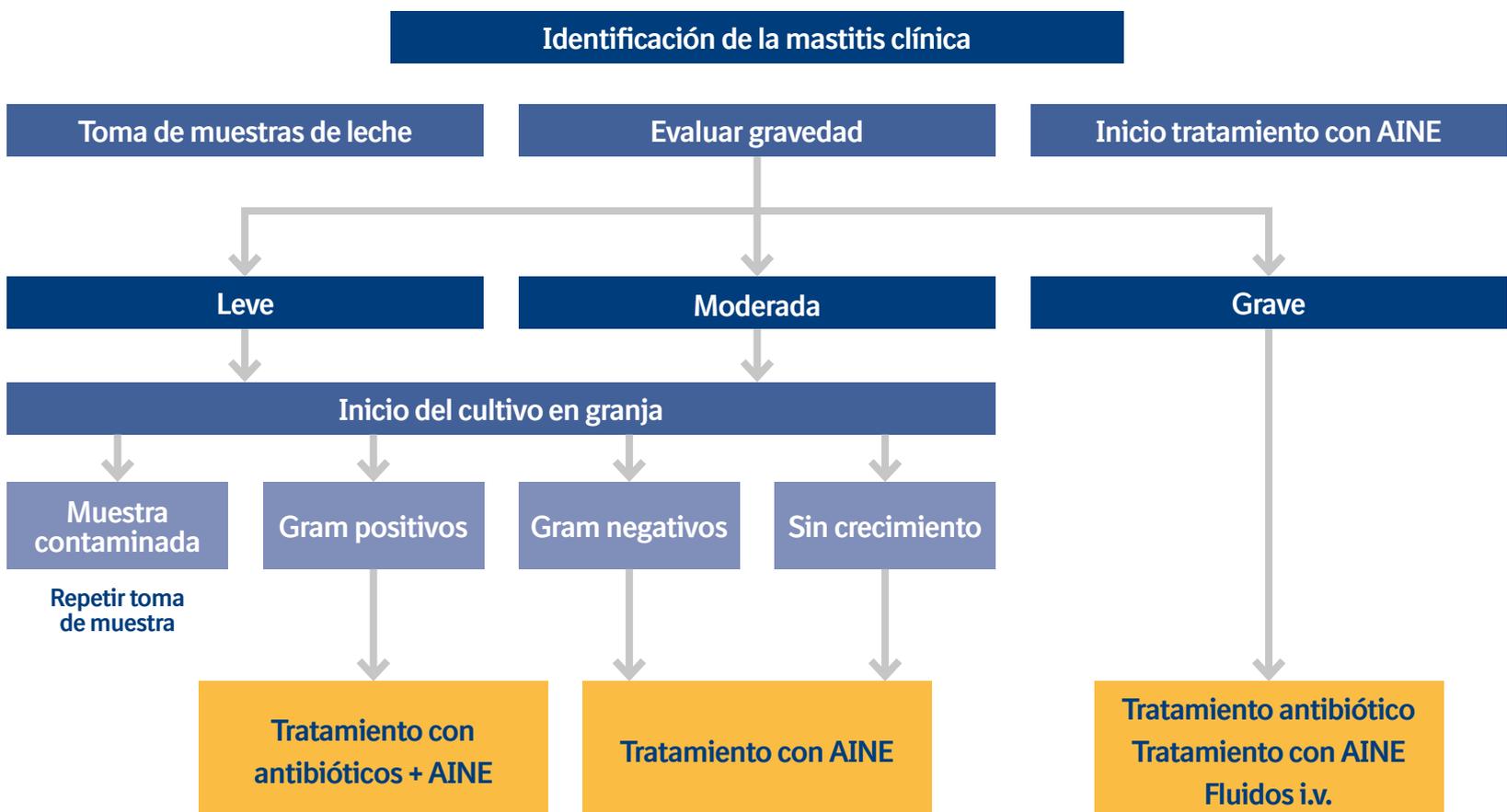
**Moderada:** mayor alteración del aspecto de la leche (muchos grumos), inflamación del cuarto afectado, mayor reducción de la producción de leche y sin alteración del estado general del animal.

**Grave o aguda:** aspecto de la leche muy alterado (grumos, consistencia acuosa, etc), gran inflamación y dolor en el cuarto afectado, caída brusca de la producción de leche.

Las mastitis leves y moderadas serán candidatas a cultivo en granja y podremos retrasar hasta 24 horas su tratamiento. Mastitis graves o agudas deberán entrar en tratamiento antibiótico inmediatamente.



## Árbol de decisiones



## Monitorización de resultados

### ¿Cómo evaluar si el sistema está funcionando?

No aplicar antibióticos en animales con mastitis clínica puede generar muchas dudas sobre la curación de estas mastitis, especialmente cuando siempre hemos estado usando antibióticos. Así, vamos a elegir **3 índices muy fáciles de monitorizar** para verificar si nuestros tratamientos funcionan y si los animales quedan bien curados

#### Índices

**% de casos que requieren un cambio de tratamiento.** Número de casos que requieren un cambio del tratamiento inicial o bien suplementarlo, debido a una falta de respuesta, dividido por el número de casos totales en un periodo.

**Objetivo: inferior al 20%**

< 20%

**% de casos que son recurrentes (segundo caso o superior).** Número de vacas con un segundo (o superior) caso de mastitis más allá de 14 días desde el tratamiento anterior, dividido por el número total de casos en un periodo

**Objetivo: inferior al 30%**

< 30%

**% de animales con menos de 4 cuartos funcionales.** Número de vacas en ordeño con menos de 4 cuartos funcionales dividido por el número de vacas en lactación.

**Objetivo: inferior al 5%**

< 5%

 Si alguno de estos índices está por encima de los valores objetivo indicados, es necesario consultar con el veterinario para revisar los protocolos de tratamiento así como los productos utilizados en los tratamientos de mastitis clínica.





RÚculgraz20

Este manual, que pretende ser una herramienta práctica para la toma de decisiones, va dirigido fundamentalmente a los profesionales veterinarios especialistas en calidad de leche, pero también al resto de profesionales capacitados del sector, así como a estudiantes que se inician en esta especialidad. Boehringer Ingelheim desea sinceramente que resulte para todos ellos de utilidad.

solomamitis

