

Speed Mam Color™

Speed Mam Color™

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*
ITALIANO

INTERESSE CLINICO

Speed Mam Color è un test diagnostico usato per:

- identificare i batteri patogeni responsabili di mastiti bovine e per ottenere un antibiogramma rapido relativo agli antibiotici comunemente disponibili nel prontuario terapeutico veterinario.

Questo test, eseguibile in una struttura in condizioni adatte, a partire da un semplice campione di latte sospetto, realizza l'antibiogramma specifico per l'agente patogeno batterico in 24 ore e l'identificazione batterica in 48 ore.

Speed Mam Color è un test individuale che si adatta alle necessità di campo proponendo un trattamento antibatterico efficace rispetto l'arsenale terapeutico disponibile.

Questa tecnologia rapida brevettata tiene conto degli effetti sinergici o antagonisti dei diversi agenti patogeni per concentrazioni batteriche $\geq 10^3$ UFC/ml direttamente da campioni di latte sospetto.

PRINCIPIO

Speed Mam Color è una mini-galleria di coltura composta da:

- 14 pozzetti per misurare l'efficacia di 14 diversi antibiotici o associazione di antibiotici e la resistenza dei batteri a 13 molecole antibiotiche utilizzate in veterinaria.
- 7 pozzetti per l'identificazione del batterio o dei batteri patogeni.
- 3 pozzetti che indicano il tempo di lettura per l'antibiogramma e se l'inoculo contiene una carica batterica patogena o contaminante saprofitica.

Uno di questi 3 pozzetti è chiamato **pozzetto IL** (limite di incubazione) ed è **il solo a non ricevere il campione di latte**. Questo pozzetto di controllo viene utilizzato come segnale che indica il tempo di lettura dell'antibiogramma. La lettura del pozzetto IL avviene in parallelo a quella dei seguenti due pozzetti. Il **secondo pozzetto** indicato con il simbolo – ed **il terzo pozzetto** indicato con il simbolo +. Il pozzetto - è un pozzetto di controllo negativo. Il pozzetto + è al contrario un indicatore della crescita dei microrganismi. Il colore di questo pozzetto vira in caso di concentrazioni batteriche $\geq 10^3$ UFC/ml, cioè in caso di infezione.

I risultati ottenuti con Speed Mam Color si leggono pozzetto per pozzetto. Lo sviluppo batterico è evidenziato da un viraggio di colore che indica una resistenza dell'agente patogeno all'antibiotico posto nel pozzetto corrispondente (per i 14 pozzetti antibiotici) e in un secondo tempo indica il tipo di agente patogeno presente nel campione (7 pozzetti di identificazione batterica).

PROTOCOLLO OPERATIVO

=> PER OGNI TEST PREVEDERE:

Una galleria, un flacone di Terreno di coltura, il flacone di Integratore Staf, il flacone di Olio di paraffina, una pipetta, un supporto per la galleria, una stufa e un foglio su cui riportare i risultati.

Non utilizzare mai reagenti di lotti diversi.

■ PRECAUZIONI:

- Durante il prelievo e durante tutti i passaggi del test (inoculo e lettura) si consiglia di indossare i guanti.
- Effettuare tutti i passaggi su un piano di lavoro asciutto e pulito, precedentemente disinfettato.

■ PRELIEVO:

Il latte deve essere campionato nel modo più asettico possibile e conservato immediatamente in frigorifero. Si raccomanda di conservare una parte del campione per 48 ore (tempo necessario per avere i risultati completi) tra 4 e 8°C per una eventuale successiva conferma del test. Prima di procedere con il test si raccomanda di lasciare i campioni di latte a temperatura ambiente per 30 minuti.

■ PREPARAZIONE DELLA GALLERIA :

- Aprire un sacchetto contenente una galleria e annotare il nome dell'animale e la data della messa in coltura sull'etichetta.
- Togliere l'etichetta autoadesiva che ricopre la galleria. Incollare il bordo superiore lungo dell'etichetta sul bordo a punta della galleria in modo da poter accedere a tutti i pozzetti e poterli identificare allo stesso tempo.
- Aprire un flacone di Terreno di coltura (tappo bianco).
- Con una pipetta, trasferire 3 gocce di Terreno di coltura vergine (tappo bianco) direttamente nel pozzetto **IL**.

■ INOCULO DEL TERRENO DI CULTURA:

- Con la pipetta, deporre 3 gocce di campione di latte omogeneizzato nel Terreno di coltura
- Chiudere il flacone di Terreno di coltura e agitare bene per omogeneizzare il contenuto.

■ INOCULO DELLA GALLERIA:

- Con la pipetta, prelevare il Terreno di coltura inoculato e distribuire 3 gocce in ogni pozzetto della galleria, **tranne** il pozzetto **IL**.
- Solo nel pozzetto per l'identificazione dello stafilococco (angolo in alto a sinistra) aggiungere 2 gocce di "Integratore Staf".
- In ogni pozzetto aggiungere 2 gocce di Olio di paraffina, **tranne** nei pozzetti **PSEUDO** e **E. COLI**.
- Ricollocare l'etichetta adesiva sulla galleria, prestando attenzione a togliere prima la pellicola trasparente sul retro, per migliorare l'aderenza.
- **Inserire la galleria su un supporto in cartoncino**, per facilitare la lettura (miglior contrasto) e mantenere una temperatura ideale in ogni pozzetto con una piastra riscaldante calibrata.

■ MESSA IN CULTURA:

- Dopo l'inoculo, mettere immediatamente a incubare la galleria in stufa a +37°C.
- In mancanza di una stufa, l'uso di una piastra riscaldante calibrata, in un luogo al riparo da correnti d'aria, permette di mantenere una temperatura di incubazione corretta in ogni pozzetto.

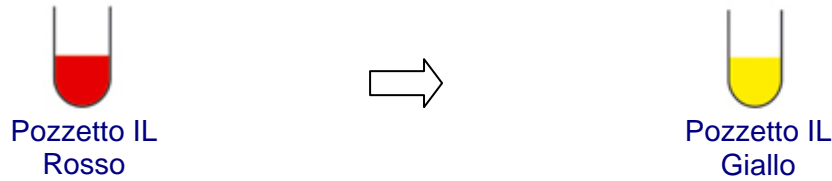
■ LETTURA:

1 – Lettura dei pozzetti di controllo:

cominciare la lettura dopo 18-24 ore, al momento del viraggio di colore dal rosso al giallo del pozzetto IL.

Letture del pozzetto IL:

Al momento dell'inoculo (T0 + 5 min)

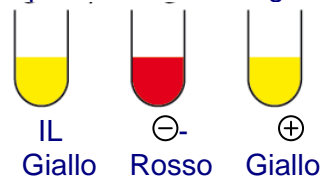


A T0 +18 – 24 ore a +37°C: il pozzetto IL vira dal rosso al giallo indicando il momento in cui si deve cominciare la lettura.

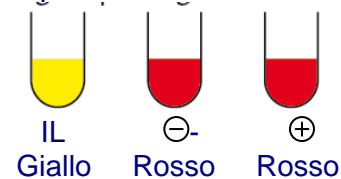
Letture dei pozzetti di controllo:

- Se il pozzetto di controllo della crescita ⊕ vira dal rosso al giallo, il viraggio è caratteristico di una concentrazione di batteri patogeni superiore a 10³ UFC/ml.
- Il pozzetto ⊖ deve restare incolore.

Presenza di agenti patogeni
Il pozzetto ⊕ vira al giallo



Assenza di agenti patogeni
Il pozzetto ⊕ resta rosso



In questo caso, è possibile effettuare la lettura dell'antibiogramma.

2 – Lettura dei pozzetti antibiotici:

La presenza o l'assenza di un cambiamento di colore dei pozzetti dall'incolore al rosso permette di determinare le sensibilità o le resistenze per ciascun antibiotico.



Nessun cambiamento di colore.
Nessuna crescita batterica.
Batterio SENSIBILE all'antibiotico.



Viraggio al rosso o presenza di striature rosse.
Crescita batterica.
Batterio RESISTENTE all'antibiotico.

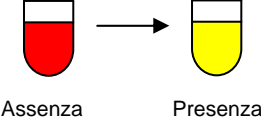
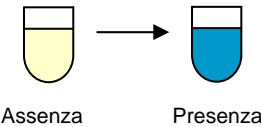
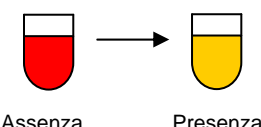
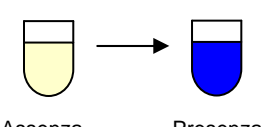
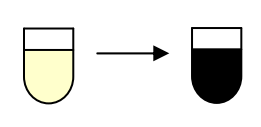
Tabella degli antibiotici testati con Speed Mam Color:

L'identificazione dell'antibiotico presente in ogni pozzetto è indicata sull'etichetta autoadesiva, al di sopra di ciascun pozzetto.

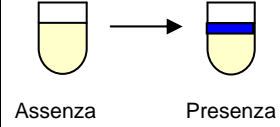
Abbreviazione	Antibiotici	Abbreviazione	Antibiotici
CLO	Cloxacillina	TYL	Tilosina
AMC	Amoxicillina + Ac. clavulanico	MAR	Marbofloxacina
CFP	Cefoperazone	DNX	Danofloxacina
CFQ	Cefquinome	AMP + COL	Ampicillina + colistina
CFL	Cefalexina	SDM + TMP	Sulfadimidina+ trimethoprim
GEN	Gentamicina	PEN + DHS	Penicillina + streptomicina
SPI	Spiramicina	TET + NEO + BAC	Tetraciclina+ neomicina+ bacitracina

3- Lettura dell'identificazione batterica:

La lettura dei pozzetti per l'identificazione batterica viene eseguita 48 ore dopo la messa in coltura della galleria a +37°C. La lettura di ogni pozzetto viene realizzata valutando il viraggio del colore. È possibile che siano associati più microrganismi.

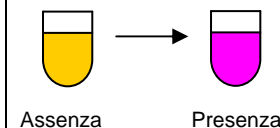
STAPH	<i>Staphylococcus spp.</i>	 Assenza → Presenza	In presenza di stafilococchi, il pozzetto STAPH vira dal rosso traslucido al giallo opaco.
STREP	<i>Streptococcus spp.</i>	 Assenza → Presenza	In presenza di streptococchi, il pozzetto STREP vira dal giallo traslucido al grigio-blu opaco.
ENTEROBACT	<i>Famiglia Enterobacteriaceae</i>	 Assenza → Presenza	In presenza di enterobatteri, il pozzetto ENTEROBACT vira dal rosso traslucido al giallo/arancio opaco.
PSEUDO	<i>Pseudomonas spp.</i>	 Assenza → Presenza	In presenza di <i>Pseudomonas</i> , il pozzetto PSEUDO vira dal giallo traslucido al blu scuro opaco.
LIST	<i>Listeria spp.</i>	 Assenza → Presenza	In presenza di <i>Listeria</i> , il pozzetto LIST vira dal giallo traslucido al nero opaco

Determinazione del genere nella famiglia *Enterobacteriaceae* (pozzetto ENTEROBACT di colore giallo):

E. COLI	<i>Escherichia coli</i>		In presenza di <i>E. coli</i> , sulla superficie del pozzetto E. COLI, inizialmente giallo traslucido, appare un anello blu scuro. Parallelamente, il pozzetto ENTEROBACT vira dal rosso al giallo/arancio.
---------	-------------------------	---	--

Determinazione del genere *Mycoplasma spp.* (pozzetto MYCOP):

Letture dopo 7 giorni di incubazione

MYCOP	<i>Mycoplasma spp.</i>		In presenza di <i>Mycoplasma</i> , il pozzetto MYCOP vira dal giallo/arancio traslucido al rosa carico.
-------	------------------------	---	---

Commenti :

Viraggio di colore incompleto:

Nel caso in cui un pozzetto di identificazione assuma una colorazione intermedia dopo 48 ore di incubazione a +37°C (ad es. il pozzetto STAPH diventi arancione), si consiglia di effettuare una seconda lettura dopo 72 ore di incubazione a +37°C.

Risultato dopo 72 ore:

- Viraggio completo: identificazione batterica confermata.
- Viraggio intermedio persistente: assenza del batterio nel campione.

■ INTERPRETAZIONE:

- Alcuni antibiotici presenti nella galleria non sono ufficialmente indicati per il trattamento della mastite. Quindi il loro impiego dipende da dati bibliografici pubblicati ed è completamente sotto la responsabilità del veterinario.
- Le indicazioni relative alla *Listeria* richiedono la conferma da parte di un laboratorio di analisi relativo allo stesso campione.
- Raramente lo *Streptococco* può indurre un cambiamento di colore del pozzetto relativo alla *Listeria*.
- Per ogni lettura del profilo di sensibilità e di resistenza del batterio ricercato, un foglio esplicativo permette di registrare i risultati per fornire l'intero antibiogramma all'allevatore

RACCOMANDAZIONI

■ STABILITÀ / CONSERVAZIONE:

- - Il kit è stabile tra +2°C e +8°C per 16 mesi a partire dalla data di fabbricazione (vedere la data di scadenza sull'etichetta del kit). Evitare di esporre il kit a temperature inferiori a 0°C.
- - Si consiglia di lasciare i reattivi e la galleria almeno 15 min a temperatura ambiente prima di utilizzarli.
- - Non usare mai flaconi di reagenti di kit diversi.

■ PRECAUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE:

- Se il pozzetto di controllo di crescita ⊕ non vira al rosso entro 18-24 ore di incubazione, incubare altre 18-24 ore per confermare l'assenza totale di microrganismi patogeni nel campione.

Queste raccomandazioni costituiscono solo una guida, in quanto non si può pretendere che alcun metodo diagnostico sia preciso al 100%. Questo test ha lo scopo di identificare l'agente batterico responsabile di mastite nella vacca e di aiutare il veterinario a scegliere il corretto trattamento. L'interpretazione del test da parte del veterinario dovrà sempre tenere conto dell'anamnesi, dell'esame clinico dell'animale e del risultato di eventuali altri esami complementari. La diagnosi finale resta una prerogativa ed è sotto la responsabilità del veterinario curante. Bio Veto Test e suoi distributori non possono essere ritenuti responsabili delle conseguenze legate a un utilizzo scorretto o a un'interpretazione scorretta dei risultati forniti da questo test.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- (1) MANNER Y. "Methodes de bacteriologie des mammites cliniques, bibliographie, etude experimentale d'un test bacteriologique rapide « Thèse veterinaire, ENVN, 30/10/01
- (2) MADIN F., "Nouvelles techniques d'analyses microbiologiques rapides utilisables par et pour le praticien", congresso CNVSPA, nov. 1995
- (3) DAUMALIN L. « A la recherche des bacteries a moindre cout », Activeto N°16, janvier 2003
- (4) « mammites, l'analyse bacteriologique au service du praticien », Activeto N°18, mars 2003
- (5) FAROULT B. « definition du plan de traitement des mammites en lactation specifique du troupeau : le referentiel GTV partenaire », Journées nationales GTV, Tours 2002.

Distribuito da : VIRBAC s.r.l.
Via Caldera, 21
20153 Milano
Tel : (39) 02 40 92 47 1
Fax : (39) 02 40 92 47 77
www.virbac.it



Prodotto da
BIO VETO TEST
285, avenue de Rome
83500 LA SEYNE SUR MER - FRANCE
Tel : +33 4 94 10 58 94 – Fax : +33 4 94 10 58 90
Mail : bvt@bvt.fr – Web : www.bvt.fr

