

UNA NUEVA HERRAMIENTA AUTOMATIZADA PARA BACTERIOLOGÍA DE LA LECHE: MASTATEST

Estudio para evaluar la concordancia de los resultados obtenidos con Mastatest y una técnica de agar convencional

Salat O., Lemaire G., Chalier M.
Haute Auvergne Veterinary Clinic, 15100 Saint-Flour, France - veterinaire.st-flour@wanadoo.fr

ACHIEVE BETTER MILK TOGETHER



ABSTRACT

Mastatest es un dispositivo automatizado para el análisis bacteriológico y las pruebas de sensibilidad a los antibióticos de la leche de vacas con mastitis clínica.

Requiere una conexión a Internet estable y es muy fácil de usar. Se llena un cartucho con leche de un cuarto infectado, se coloca en el dispositivo y se realiza el análisis. Los resultados de los análisis bacteriológicos y los valores de CIM de 3 antibióticos utilizados convencionalmente para la mastitis están disponibles en menos de 24 horas. Se analizaron dos veces 199 muestras de leche utilizando Mastatest y la técnica bacteriológica simplificada utilizada en la Clínica Veterinaria de Alta Auvernia.

Los resultados revelaron una alta concordancia en la determinación del tipo de Gram y una buena concordancia en la identificación bacteriana precisa. Mastatest es una herramienta particularmente interesante para la bacteriología de la leche. Es muy fácil de usar y da resultados rápidos para que se pueda elegir la terapia adecuada. Por lo tanto, es ideal para que lo utilicen operadores sin experiencia. **Como ocurre con cualquier resultado de análisis, debe interpretarse en conjunto con la historia clínica esencial y el consejo de un experto: el veterinario.**



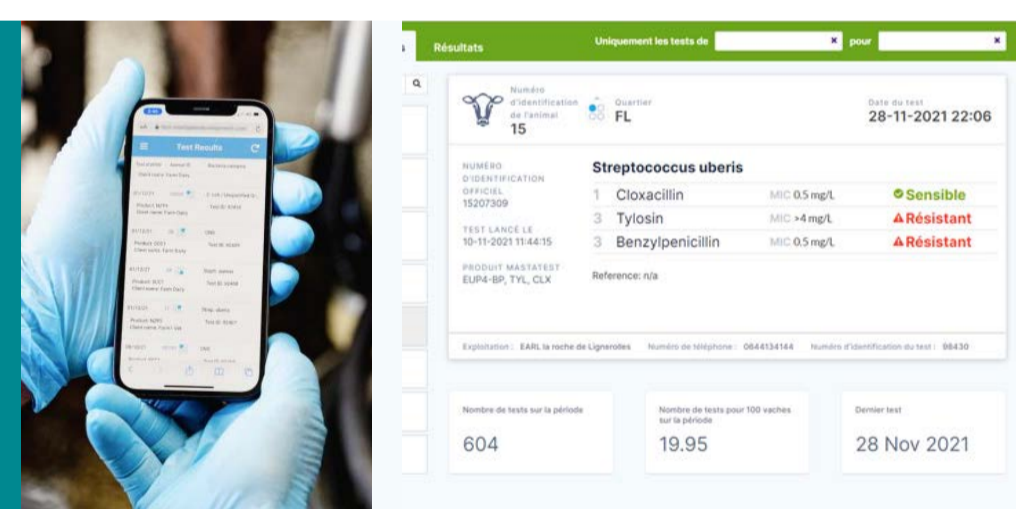
Foto 1: El Lapbox o analizador



Foto 2: Rellenando los cartuchos con la muestra de leche



Foto 3: Distribución y lectura de los pocillos



Fotos 4 y 5: Informes de los resultados obtenidos en menos de 24h



DESCRIPCIÓN DEL EQUIPAMIENTO

Este analizador fue desarrollado en Nueva Zelanda. Consta de un dispositivo conectado a una plataforma informática a través de Internet (foto 1) y cartuchos de 24 pocillos que contienen diferentes reactivos que proporcionan información colorimétrica específica.

La leche a analizar se vierte en el cartucho (foto 2).

Se utilizan seis pocillos para la identificación bacteriana y, si solo se identifica 1 germen, los otros 18 se utilizan para determinar los valores de CMI para 3 antibióticos (penicilina, cloxacilina y tilosina para bacterias Gram positivas) (foto 3).

El objetivo principal del dispositivo es tomar fotografías repetidas del contenido de los pocillos que contienen indicadores (la mayoría están coloreados). Las imágenes se interpretan de forma remota mediante un algoritmo que determina la presencia y naturaleza de una bacteria en menos de 24 horas.

El crecimiento diferenciado según la concentración de antibióticos dentro de los pocillos también proporciona un valor de CIM y resultados de susceptibilidad para cada uno de los 3 antibióticos presentes (fotos 4 y 5).

Bibliografía

Bates A., Ewen R., Bork O., Hay M., McDowell J., Saldias B. (2020) Selective and deferred treatment of clinical mastitis in seven New Zealand dairy herds. *Prev Vet Med. Man*; 176: 104915.
Jones G., Bork O., Ferguson S.A., Bates A. (2019) Comparison of an on-farm point-of-care diagnostic with conventional culture in analysing bovine mastitis samples. *J. Dairy Res.* 86: 222-225.
Lago A and Godden SM (2018) Use of rapid culture systems to guide clinical mastitis treatment decisions. *The Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice* 34: 389-412.
Salat O., Lemaire G., Perrot F. (2016) Etiologie des mammittes en fonction de la sévérité clinique et conséquences pour le traitement ? *Nouv. Prat.*, 9: 23-32.



ESTUDIO COMPARATIVO

Este estudio se llevó a cabo entre los productores de leche de la Clínica Veterinaria de Alta Auvernia (CVHA, 15100 Saint-Flour, Francia) y solo incluyó leche extraída de cuartos con mastitis clínica. Cada muestra de leche analizada con Mastatest también se sometió a un cultivo bacteriológico utilizando el CVHA "3- método de agar" (descripción detallada en Salat et al., 2016). **Los resultados de susceptibilidad a los antibióticos de Mastatest se compararon con los obtenidos en la clínica mediante el método de cultivo de acuerdo con la norma NF 47-107.**



RESULTADOS

Se analizaron 199 muestras y los resultados se presentan en la Tabla 3. Los resultados de las Tablas 1 y 2 solo se refieren a cultivos puros (111 muestras). En cuanto a la identificación de patógenos principales (37 muestras), la concordancia fue del 86,5% para coliformes (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, etc.). Además, la concordancia fue del 70% para *Staphylococcus aureus* (10 muestras) y del 73% para *Streptococcus uberis* (33 muestras).

La concordancia entre los resultados de susceptibilidad a los antibióticos del Mastatest y los del método de comparación utilizado en la clínica se presenta en la Tabla 4.

Comparativa del Tipo Gram	Resultados
Concordance	91%
No Concordancia	9%

Tabla 1: Comparación de los resultados obtenidos con Mastatest y la técnica CVHA sobre el tipo Gram

Identificación bacteriana	MASTATEST resultados
Concordancia exacta de género y especie	55%
Concordancia de género	12%
Sin concordancia	33%

Tabla 2: Comparación de los resultados obtenidos con Mastatest y la técnica CVHA sobre la identificación bacteriana

CVHA	MASTATEST	MASTATEST				Total
		Estéril	1 germen	2 gérmenes	Contaminada	
Estéril	17	10	0	0	27	
1 germen	11	113	16	1	141	
2 gérmenes	0	12	3	0	15	
Contaminada	0	7	9	0	16	
Total	28	142	28	1	199	

Tabla 3: Comparación global de los resultados obtenidos con Mastatest y la técnica CVHA

CVHA	MASTATEST	MASTATEST					
		Penicilina		Cloxacilina		Tilosina	
		Sensible	Resistente	Sensible	Resistente	Sensible	Resistente
Sensible	27	2	24	5	22	3	
Resistente	0	0	0	0	1	2	

Tabla 4: Comparación de los resultados obtenidos con Mastatest y la técnica CVHA sobre la sensibilidad antibiótica



DISCUSIÓN

La concordancia de los resultados en el tipo Gram es alta (>90%). Lago y Godden (2018) mostraron una precisión de detección de Gram positivos del 78 % para agares multicompartimentales (bi o triplaca). La precisión de la identificación bacteriana es aceptable: el 70 % y el 73 % de los resultados concuerdan con la técnica de identificación basada en agar utilizada en la clínica para *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus uberis*. Jones (2019) demostró la no inferioridad entre los resultados de Mastatest y el método de agar de laboratorio (que cumple con los estándares del NMC). La concordancia de coliformes entre los dos métodos fue más alta: 86,5%. En el mismo estudio, Jones (2019) concluyó que Mastatest era más sensible (p 0,032) que el método control. En 17 ocasiones, ni el dispositivo ni el cultivo bacteriano pudieron determinar la presencia de bacterias.

Se muestrean 200 µl de leche con Mastatest por pocillo, cantidad superior a la convencionalmente utilizada para el cultivo bacteriano (de 10 a 60 µl): esto aumenta las posibilidades de detectar un agente infeccioso. Sin embargo, el dispositivo no pudo detectar en gran medida muestras contaminadas con múltiples bacterias (1 de 17). Esto no es sorprendente dada la metodología de análisis. La muestra de leche estéril debe ser de alta calidad para todos los métodos de diagnóstico bacteriológico; por lo tanto, la capacitación del operador es esencial para garantizar resultados relevantes. **A pesar de las pequeñas cifras, la concordancia de clasificación se consideró alta (80 a 92%) y cercana al umbral del 90% del ISO 20776-2.**

La comparación con la prueba de sensibilidad a los antibióticos de laboratorio convencional mostró una tendencia a sobrestimar la resistencia, sin embargo los valores de CMI se determinan en la leche, lo que se acerca más a la realidad. Se podría recomendar confirmar un resultado de resistencia con una prueba de susceptibilidad a los antibióticos convencional, pendiente de validación en una población más grande.



APLICACIÓN PRÁCTICA

Este dispositivo tiene 3 cualidades fundamentales:

1- Es muy fácil de usar, proporciona un resultado en menos de 24 horas y no requiere un operador experimentado para obtener un resultado.

2- La generalización del análisis bacteriológico de la leche es un requisito previo para el uso adecuado y prudente de los antibióticos. Al igual que la bacteriología convencional, Mastatest puede utilizarse en casos de mastitis grave y recurrente o de fracasos del tratamiento y también como parte de una estrategia de tratamiento selectivo para mastitis clínicas leves y moderadas.

Por tanto, puede reducir el uso de antibióticos (en un 24% según Bates, 2020).

3- Puede ser utilizado por parte de veterinarios clínicos, particularmente en situaciones con bajo potencial de bacteriología de la leche, en granjas que manejan un número suficientemente grande de animales para soportar el uso regular, o centralizando muestras de leche de granjas adyacentes.