

www.vetoquinol.pt

UMA NOVA FERRAMENTA AUTOMATIZADA PARA A BACTERIOLOGIA DO LEITE: MASTATEST

Estudo para avaliar a concordância dos resultados obtidos com o Mastatest e com uma técnica convencional de ágar.

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

ACHIEVE BETTER MILK TOGETHER



ABSTRACT

O Mastatest é um dispositivo automatizado para a análise bacteriológica e teste de sensibilidade aos antibióticos do leite de vacas com mastite clínica.

Requer uma ligação estável à Internet e é muito fácil de utilizar. Um cartucho é enchido com leite de um quarto infetado, colocado no dispositivo e testado. Os resultados das análises bacteriológicas e os valores CMI de 3 antibióticos convencionalmente utilizados para a mastite estão disponíveis em menos de 24 horas. **Foram testadas duas vezes 199 amostras de leite utilizando o Mastatest e a técnica bacteriológica simplificada utilizada na Clínica Veterinária de Haute-Auvergne.**

Os resultados revelaram uma elevada concordância na determinação do tipo Gram e uma boa concordância na identificação precisa das bactérias. O Mastatest é uma ferramenta particularmente interessante para a bacteriologia do leite. É muito fácil de utilizar e fornece resultados rápidos que permitem escolher a terapia correcta. Por conseguinte, é ideal para ser utilizado por operadores sem experiência. **Como qualquer resultado de análise, deve ser interpretado em conjunto com a história clínica da exploração e o conselho de um especialista: o veterinário.**



Foto 1: A Lapbox



Foto 2: Enchimento do cartucho com a amostra de leite

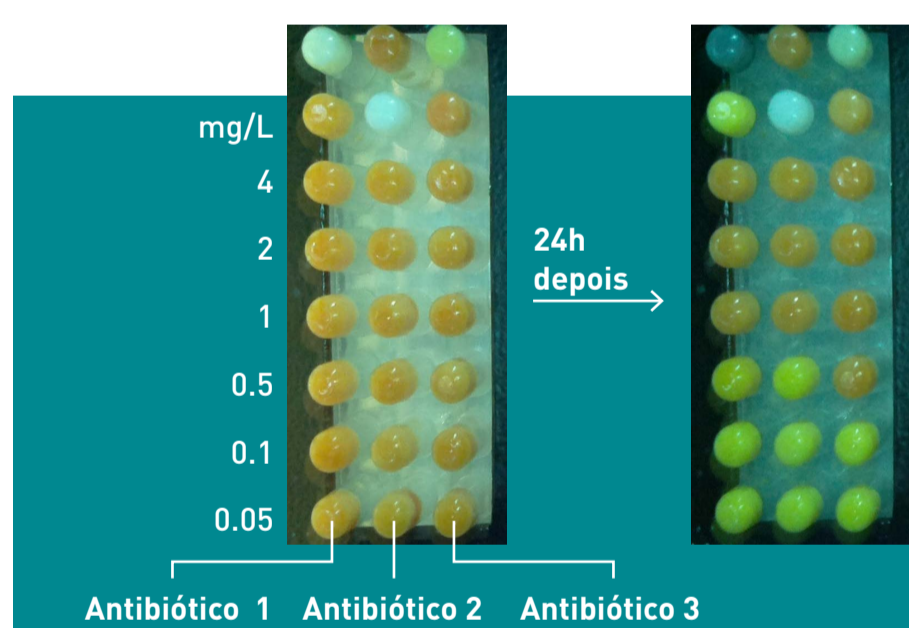
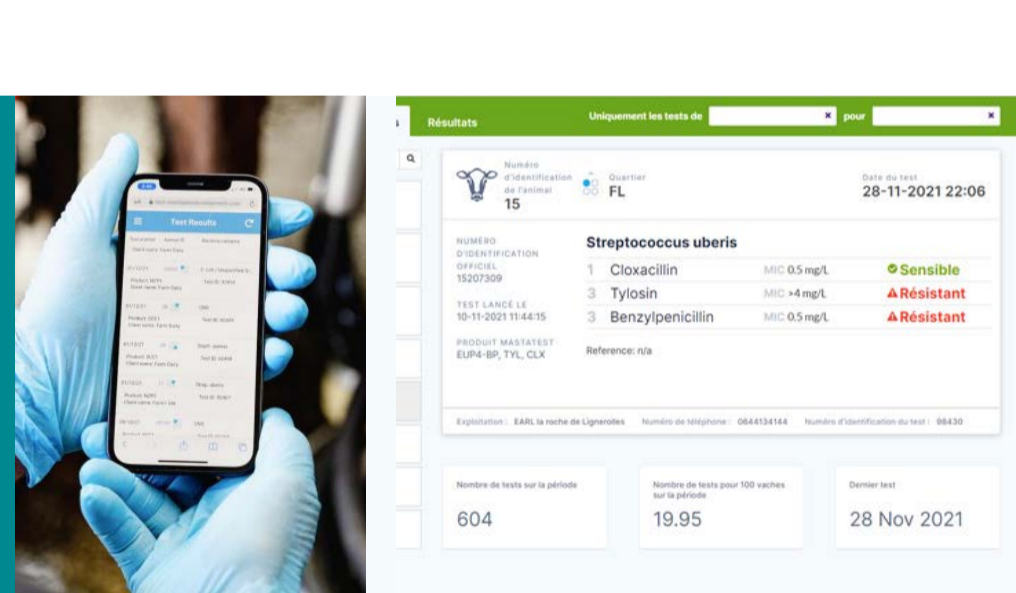


Foto 3: Distribuição e leitura dos poços



Fotos 4 e 5: Relatório dos resultados obtido em menos de 24h



DESCRIÇÃO DO EQUIPAMENTO

Este analisador foi desenvolvido na Nova Zelândia. É constituído por um dispositivo ligado a uma plataforma informática através da Internet (foto 1) e por cartuchos de 24 poços contendo diferentes reagentes que fornecem informações colorimétricas específicas.

A amostra de leite a testar é vertida no cartucho (foto 2).

Seis alvéolos são utilizados para a identificação bacteriana e, se apenas uma bactéria for identificada, os restantes 18 alvéolos são utilizados para determinar os valores CMI de 3 antibióticos (penicilina, cloxacilina e tilosina para as bactérias Gram positivas) (foto 3).

O principal objetivo do dispositivo é tirar fotografias repetidas do conteúdo dos poços que contém indicadores (a maior parte deles são coloridos). As imagens são interpretadas à distância por um algoritmo que determina a presença e a natureza de uma bactéria em menos de 24 horas.

O crescimento diferenciado de acordo com a concentração de antibiótico nos poços também fornece o valor CMI e os resultados de suscetibilidade para cada um dos 3 antibióticos presentes (fotos 4 e 5).

Bibliografia

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 mammites en fonction de la sévérité clinique et conséquences pour le traitement ? *Nouv. Prat.*; 9: 23-32.



ESTUDOS COMPARATIVOS

Este estudo foi realizado por produtores de leite da Clinique Vétérinaire de Haute-Auvergne (CVHA, 15100 Saint-Flour, França) e incluiu apenas amostras de leite de quartos com mastite clínica. **Cada amostra de leite testada com o Mastatest foi também submetida a cultura bacteriológica utilizando o "método 3-ágar" da CVHA (descrição detalhada em Salat et al., 2016).**

Os resultados de suscetibilidade a antibióticos do Mastatest foram comparados com os obtidos na clínica utilizando o método de cultura de acordo com a NF 47-107.



RESULTADOS

Foram analisadas um total de 199 amostras e os resultados são apresentados no quadro 3. Os resultados dos quadros 1 e 2 referem-se apenas a culturas puras (111 amostras). No que diz respeito à identificação dos principais agentes patogénicos (37 amostras), a concordância foi de 86,5% para os coliformes (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, etc.). Para além disso, a concordância foi de 70% para *Staphylococcus aureus* (10 amostras) e de 73% para *Streptococcus uberis* (33 amostras).

A concordância entre os resultados de suscetibilidade a antibióticos do Mastatest e os do método de comparação é apresentada na tabela 4.

Comparação do Tipo Gram	Resultados
Concordante	91%
Não concordante	9%

Tabela 1: Comparação dos resultados obtidos com o Mastatest e com a técnica CVHA sobre o tipo de Gram.

Identificação bacteriana	MASTATEST
Concordância exata de género e espécie	55%
Concordância de género	12%
Sem concordância	33%

Tabela 2: Comparação dos resultados obtidos com o Mastatest e a técnica CVHA sobre a identificação bacteriana.

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

Tabela 3: Comparação global dos resultados obtidos com o Mastatest e a técnica CVHA.

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

Tabela 4: Comparação dos resultados obtidos com o Mastatest e a técnica CVHA sobre a sensibilidade antibiótica.



DISCUSSÃO

A concordância dos resultados no tipo Gram é elevada (>90%). Lago e Godden (2018) mostraram uma precisão de deteção de Gram positivos de 78 % para ágar multicompartimentais (bi- ou triplate). A exatidão da identificação bacteriana é aceitável: 70% e 73% dos resultados são consistentes com a técnica de identificação baseada em ágar utilizada na clínica para para *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis*. Jones (2019) demonstrou a não inferioridade entre os resultados do Mastatest e o método de ágar laboratorial (que está em conformidade com as normas NMC). A concordância de coliformes entre os dois métodos foi superior: 86,5%. No mesmo estudo, Jones (2019) concluiu que o Mastatest foi mais sensível (p 0,032) do que o método de controlo. Em 17 ocasiões, nem o dispositivo nem a cultura bacteriana conseguiram determinar a presença de bactérias.

Foram colocados 200 µl de leite por poço, o que é mais do que a quantidade convencionalmente usada para uma cultura bacteriana (10 a 60 µl por poço): isto aumenta as hipóteses de deteção de um agente infeccioso.

No entanto, o dispositivo foi largamente incapaz de detetar amostras contaminadas com várias bactérias (1 de 17). Isto não é surpreendente, dada a metodologia de teste. A amostra de leite estéril deve ser de alta qualidade para todos os métodos de diagnóstico bacteriológico; Por conseguinte, a formação do operador é essencial para garantir resultados relevantes. **A concordância da classificação foi considerada elevada (80 a 92%) e próxima do limiar de 90% da norma ISO 20776-2.**

A comparação com os testes laboratoriais convencionais de suscetibilidade a antibióticos mostrou uma tendência do Mastatest para sobrestimar a resistência; no entanto, os valores de CMI são determinados no leite, o que está mais próximo da realidade. Poderá ser recomendada a confirmação de um resultado de resistência com um teste de suscetibilidade a antibióticos convencional, enquanto se aguarda a validação numa população maior.



APLICAÇÃO PRÁTICA

Este aparelho possui 3 características fundamentais:

É muito fácil de utilizar, fornece um resultado em menos de 24 horas e não necessita de um operador experiente para obter um resultado.

A generalização da análise bacteriológica do leite é uma condição prévia para a utilização correta e prudente dos antibióticos. **Tal como a bacteriologia convencional, o Mastatest pode ser utilizado em casos de mastite grave e recorrente, ou de insucesso do tratamento e também como parte de uma estratégia de tratamento seletivo para a mastite clínica ligeira e moderada.** Por conseguinte, pode reduzir a utilização de antibióticos (em 24% de acordo com Bates, 2020).

Pode ser utilizado por clínicos veterinários, nomeadamente em situações de baixo potencial bacteriológico do leite, em explorações com um número de animais suficientemente elevado para justificar uma utilização regular, ou através da centralização de amostras de leite de explorações adjacentes.