

ACHIEVE
BETTER MILK
TOGETHER



UN NUOVO DISPOSITIVO AUTOMATIZZATO PER L'ANALISI BATTERIOLOGICA DEL LATTE: MASTATEST

Studio di valutazione della concordanza dei risultati ottenuti con Mastatest rispetto ad una tecnica convenzionale su agar.

Salat O., Lemaire G., Chalier M.

Clinica veterinaria Haute Auvergne, 15100 Saint-Flour - veterinaire.st-flour@wanadoo.fr





RIASSUNTO

Mastatest è un dispositivo automatico per l'esecuzione di analisi batteriologiche e antibiogrammi su campioni di latte di bovine con mastite clinica.

Il dispositivo richiede una connessione stabile a Internet e il suo utilizzo è molto semplice. È sufficiente riempire una cartuccia con il latte di un quarto infetto, inserirla nel dispositivo e avviare l'analisi. **Il risultato dell'analisi batteriologica e le MIC degli antibiotici presenti nella cartuccia* sono disponibili in meno di 24 ore.** Nello studio, 199 campioni di latte sono stati oggetto di una doppia analisi, utilizzando Mastatest e la metodica batteriologica semplificata in uso presso la Clinica Veterinaria Haute Auvergne.

I risultati ottenuti hanno dimostrato un'elevata concordanza nella determinazione della natura del germe su scala Gram+/- e un buon grado di concordanza nella precisa identificazione batterica. Mastatest si rivela uno strumento di analisi batteriologica del latte particolarmente interessante, molto semplice da usare, che fornisce un risultato rapido, indirizzando direttamente ad una terapia appropriata. Si presta quindi perfettamente all'utilizzo in campo, anche da parte di un operatore inesperto. Come per qualsiasi risultato di analisi, l'interpretazione deve essere confrontata con elementi anamnestici essenziali e richiede il parere esperto di un veterinario.



Foto 1: Dispositivo di analisi (o Lapbox)

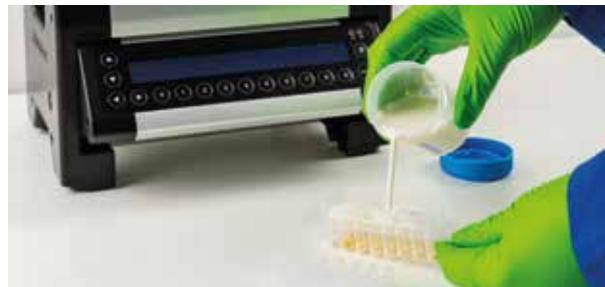


Foto 2: Riempimento delle cartucce con il campione di latte

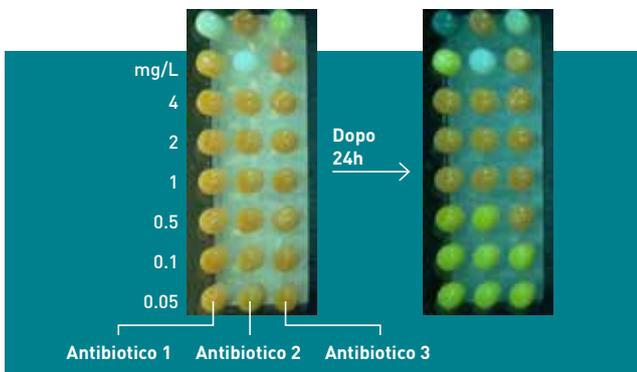


Foto 3: Ripartizione e lettura dei pozzetti



Foto 4 e 5: Rendering computerizzato dei risultati ottenuti in meno di 24 ore



DESCRIZIONE DEI MATERIALI

Questo dispositivo diagnostico è stato sviluppato in Nuova Zelanda. Consiste in un analizzatore (foto 1) collegato via Internet a una piattaforma informatica e cartucce a 24 pozzetti che contengono diversi reagenti che danno informazioni colorimetriche specifiche. Il latte da analizzare viene versato nella cartuccia (foto 2).

Per l'identificazione batterica vengono utilizzati 6 pozzetti e, se presenti colture pure, gli altri 18 pozzetti consentono di determinare le MIC per gli antibiotici presenti nella cartuccia (nello studio sono state utilizzate cartucce contenenti penicillina, cloxacillina e tilosina) (foto 3).

Il dispositivo serve essenzialmente a raccogliere ripetutamente immagini del contenuto dei pozzetti, in cui sono presenti indicatori colorimetrici. Le immagini così ottenute vengono interpretate da remoto da un algoritmo che determinerà così la presenza e la natura dei batteri in meno di 24 ore.

La crescita differenziata in funzione delle concentrazioni degli antibiotici contenuti nei pozzetti consentirà inoltre di fornire la MIC e la sensibilità per ciascuno dei 3 antibiotici presenti (foto 4 e 5).

* In questo studio è stato utilizzato un tipo di cartuccia contenente 3 antibiotici. In Italia è disponibile la cartuccia contenente 6 antibiotici.



STUDIO COMPARATIVO

Questo studio è stato condotto su bovine da latte di allevamenti seguiti dalla clinica veterinaria di Haute Auvergne (CVHA - 15100 Saint-Flour FR), includendo solo latte prelevato da quarti che presentavano mastite clinica. Ogni campione di latte analizzato con Mastatest è stato inoltre sottoposto ad analisi batteriologica utilizzando il metodo CVHA 3-agar (descrizione precisa in Salat et al. 2016). **I risultati dell'antibiogramma forniti da Mastatest sono stati inoltre confrontati con quelli ottenuti dalla clinica utilizzando il metodo di diffusione in agar secondo lo standard NF 47-107.**



RISULTATI

Sono stati analizzati 199 campioni (Tabella 3). I risultati nelle Tabelle 1 e 2 si riferiscono solo alle colture pure (111 campioni). Per quanto riguarda l'identificazione dei principali patogeni (37 campioni), la corrispondenza è dell'86,5% per i coliformi (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, ecc.), del 70% per *Staphylococcus aureus* (10 campioni) e del 73% per *Streptococcus uberis* (33 campioni).

Per l'antibiogramma, la corrispondenza dei risultati forniti dal Mastatest con il metodo di diffusione in agar utilizzato presso la clinica è presentata in Tabella 4.

Confronto su scala Gram+/-	Risultato
Corrispondenza	91%
No concordance	9%

Tabella 1: Confronto su scala Gram+/- dei risultati ottenuti con Mastatest rispetto alla tecnica CVHA 3-agar.

Identificazione batterica	Risultati di MASTATEST
Corrispondenza esatta di genere e specie	55%
Corrispondenza di genere	12%
Nessuna corrispondenza	33%

Tabella 2: Confronto dei risultati a livello di genere/specie batterica ottenuti con Mastatest rispetto alla tecnica CVHA 3-agar.

		MASTATEST				Totale
		Sterile	1 germe	2 germe	Contaminato	
CVHA	Sterile	17	10	0	0	27
	1 germe	11	113	16	1	141
	2 germe	0	12	3	0	15
	Contaminato	0	7	9	0	16
	Totale	28	142	28	1	199

Tabella 3: Confronto dei risultati complessivi delle analisi batteriologiche ottenuti con Mastatest e con la tecnica CVHA 3-agar.

		MASTATEST					
		Penicillina		Cloxacillina		Tilosina	
		Sensibile	Resistente	Sensibile	Resistente	Sensibile	Resistente
CVHA	Sensibile	27	2	24	5	22	3
	Resistente	0	0	0	0	1	2

Tabella 4: Confronto dei risultati di Mastatest e della tecnica CVHA 3-agar relativi alla sensibilità agli antibiotici dei ceppi isolati di *Streptococcus*.



DISCUSSIONE

La corrispondenza dei risultati su scala Gram+/- è elevata (>90%). Lago e Godden (2018) hanno mostrato un'accuratezza di rilevamento dei Gram+ del 78% per gli agar Tri-plate o Bi-plate. L'accuratezza di identificazione batterica rimane accettabile con il 70% e il 73%, rispettivamente per *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis*, dei risultati concordanti con la tecnica utilizzata per l'identificazione mediante agar presso la clinica. Jones et al. (2019) hanno dimostrato la non-inferiorità tra i risultati del Mastatest e il metodo su agar di laboratorio (conforme agli standard NMC). La corrispondenza tra i due metodi per i coliformi è maggiore, con una concordanza dell'86,5%. Nello stesso studio Jones et al. (2019) concludono affermando che Mastatest ha una maggiore sensibilità ($p = 0,032$). In 17 casi né il dispositivo elettronico né la coltura batterica sono stati in grado di determinare la presenza di batteri.

Con Mastatest si inoculano 200 μ L di latte per pozzetto, una quantità superiore a quella convenzionalmente utilizzata per la coltura batterica (da 10 a 60 μ L): in tal modo aumentano le possibilità di identificazione di un agente infettivo. Per contro, il dispositivo non è riuscito in gran parte a rilevare campioni contaminati (1 su 17). Questo non sorprende, data la metodologia di analisi. La qualità del campionamento del latte in condizioni di asepsi è essenziale per tutti i metodi diagnostici batteriologici, per questo la formazione degli operatori è essenziale per la pertinenza dei risultati. **Nonostante il numero esiguo, le corrispondenze di categorizzazione sarebbero alte (dall'80 al 92%) e vicine alla soglia del 90% dello standard ISO 20776-2.**

Il confronto con il classico antibiogramma di laboratorio ha mostrato una tendenza a sovrastimare le resistenze da parte di Mastatest, ma va notato che le MIC sono determinate nel latte, quindi in una condizione più realistica. Potrebbe essere consigliabile confermare un risultato di Resistenza con un antibiogramma classico, in attesa della convalida su un campione più ampio.

APPLICAZIONI PRATICHE

Questo dispositivo ha 3 qualità fondamentali: è molto facile da utilizzare, fornisce un risultato in meno di 24 ore e non richiede la lettura del risultato da parte di un operatore esperto.

La diffusione delle analisi batteriologiche del latte è un prerequisito essenziale per l'uso razionale degli antibiotici. Mastatest può essere utilizzato in caso di mastiti gravi e ricorrenti o di insuccessi terapeutici, ma anche nel contesto del trattamento selettivo di mastiti cliniche lievi e moderate. Questo permetterebbe di ridurre l'uso di antibiotici (del 24% secondo Bates et al., 2020).

Il suo utilizzo può essere previsto presso le strutture veterinarie o negli allevamenti con mandrie sufficientemente numerose da giustificare un uso regolare.



COMPONENTI DEL SISTEMA MASTATEST

CARTUCCIA



- 24 pozzetti indipendenti, per 24 reazioni simultanee
- Riempire versando il latte ed eliminando l'eccesso
- **Cartuccia clinica:** scatola da 10 test

LAPBOX™



- Contiene fino a 4 cartucce Mastatest
- Avvio del test in qualsiasi momento, direttamente dal Labox o via Internet, dalla console cliente
- Analisi del campione su Cloud, ed invio automatico dei risultati entro le 24 ore

CONSOLE CLIENTE



- Accesso al veterinario e all'allevatore tramite Desktop o dispositivo mobile
- Accesso ai risultati dei test 24 ore su 24 e 7 giorni su 7
- Analisi dei dati facile da gestire, con report immediati e personalizzati per azienda

Bibliografia. Bates A., Laven 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.* Mar;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 S.M. (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

**ACHIEVE
BETTER MILK
TOGETHER**

vetoquinol
ACHIEVE MORE TOGETHER

Vétoquinol Italia S.r.l.

vetoquinol.it - Tel. +39 0543 462411 - italy@vetoquinol.com