



DQCI **Services**

Division of Diversified Laboratory Testing LLC

CULTIVO PARA MASTITIS SSGN



PLACAS CON CUADRANTES MANUAL DEL USUARIO

DQCI Services, 5205 Quincy Street, Mounds View, MN 55112
Teléfono: (763) 785-0484

Revisión 07/05

INTRODUCCION

El juego de ensayo DQCI para mastitis de vacas causada por Staph, Strep o por microorganismos Gram negativos (Ensayo SSGN) es un procedimiento para ayudar al productor lechero a identificar la prevalencia de estas bacterias en animales lactantes. Las terapias de seguimiento o las estrategias sanitarias deberán de ser implementadas bajo asesoría de un veterinario, un experto en ganado o el responsable de campo de la cooperativa. El uso apropiado del ensayo SSGN para mastitis de DQCI le ayudará al productor a tomar acciones correctivas más pronto, optimizando la calidad de la leche, y le ayudará a mantener la salud de hato ganadero.

MATERIALES REQUERIDOS

1. Una placa Petri dividida en cuadrantes que contenga cuatro medios diferenciales y selectivos para crecimiento de bacterias.
2. Una asa de inoculación de 10 microlitros.
3. Una gasa o hisopo mojado en alcohol
4. Un tubo estéril para recolección
5. Solución de blanqueador para ropa casero
6. Bolsas de plástico sellables para congelar

También se requiere una incubadora ajustada a 35°C (95° F). Cada sección de la placa con los cuadrantes contiene diferentes medios capaces de diferenciar distintos grupos de bacteria (vea la ilustración en la pagina 4). La **Sección 1** es agar con sangre no selectivo en el cual pueden crecer la mayoría de las bacterias. Se usa como un control de crecimiento. La **Sección 2** es específica para Gram negativos del medio ambiente tales como coliformes, *E. coli* y *Klebsiella*. La **Sección 3** es específica para Strep. La **Sección 4** es específica para Staph.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES: ¡¡POR FAVOR LEA CUIDADOSAMENTE!!

1. La recolección de la muestra es muy importante. Si la muestra de leche se contamina por el contacto con estiércol, manos sucias o tetillas mal lavadas, el cultivo de mastitis no será válido.
2. No use leche de un animal que haya sido tratado con antibióticos. Permita un tiempo suficiente para que se elimine del animal según las instrucciones del fabricante de antibióticos.
3. No use la leche recolectada de un medidor de flujo. Esta leche puede contener bacterias provenientes de otras vacas.
4. La muestra de leche deberá de ser sembrada en las placas bajo un ambiente limpio lejos de los animales.
5. Nunca toque las colonias en las placas con sus dedos. Estas colonias de microorganismos vivos pudieran ser esparcidas.
6. Después de que las placas **SSGN** hayan sido observadas y la información anotada, vacíe suficiente solución blanqueadora para inundar la superficie de la placa. Coloque los fondos y las tapas en bolsas sellables y tírelas a la basura lejos de los animales.
7. Si en una placa **SSGN** no se le ve señas de crecimiento, no deberá de ser usada nuevamente. Desinfecte la placa tal como se describe en el paso 6 y descártela.

Técnica de Recolección de Leche para el Hato Lechero Entero

La recolección de muestras de leche para determinar el estado de mastitis contagioso de cada vaca en su hato es un paso crítico si *Strep agalactiae* o *Staph aureus* se encuentran presentes. Es indispensable que usted siga los pasos enlistados debajo para asegurar resultados exactos. Los mejores resultados se lograran si las muestras son recolectadas a la hora normal de ordeña. Nosotros sugerimos una persona para ordenar y una persona para recolectar muestras.

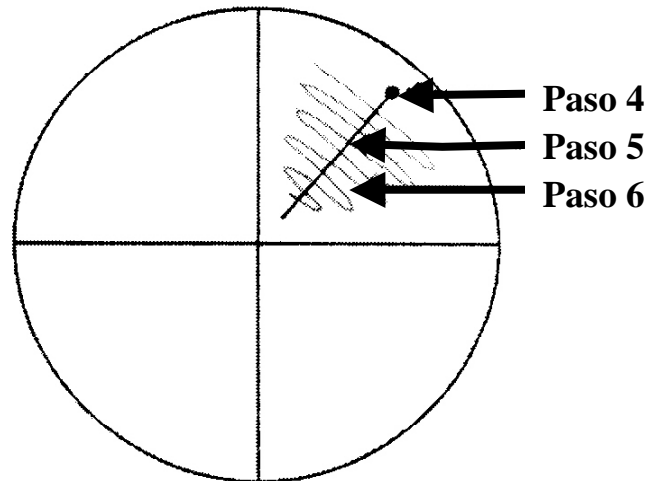
- Los medidores de flujo no son aceptables para recolectado de muestras de leche. Toda la leche circula a través de la misma tubería. Por lo tanto, todas muestras que se colecten de esta manera estarán contaminadas con los mismos tipos de bacterias. ¡Siga las instrucciones de abajo cuando haga la recolección!
- Las vacas tratadas con antibióticos no deberán de ser muestreadas por 72 horas después del tratamiento o de acuerdo a requerimientos de tiempos de espera para su eliminación indicados en la etiqueta.

1. Identifique el tubo estéril de recolección con el número de identificación de la vaca o use tubos previamente numerados. NO ponga los dedos, las tetillas o cualquier otro objeto dentro del tubo o la tapa.
2. Lave con mucho cuidado y seque las tetillas de la vaca para ordeñar. Ponga cuidado en particular de la punta de la tetilla.

3. Use una gasa con alcohol por cada vaca y sanitice muy bien la punta de la tetilla. Si la gasa se ensucia, use otra hasta que esta permanezca limpia después de pasarla. Empiece con las tetillas que están más lejos de usted de manera que sus brazos no vuelvan a depositar bacterias en las puntas de las tetillas.
4. Recolecte cantidades iguales de leche de todas las cuatro tetillas. Empiece con las tetillas más cercanas a usted de manera que no vuelva a depositar bacterias en las puntas de las tetillas.
5. Exprima 2-3 chorritos de leche para enjuagar el canal de la tetilla, luego exprima un chorro en el tubo de recolección de cada tetilla. Mantenga el tubo al lado de manera que no le caiga estiércol cuando esté exprimiendo la tetilla. Solo llene los tubos hasta la mitad.
6. Tape el tubo y póngalo en una cubeta con hielo.
7. Lávese y séquese las manos, entonces continúe con la siguiente vaca.
8. Si usted no puede inocular la placa SSGN dentro de los siguientes 15 minutos después de la recolección, refrigere, mantenga en hielo o congele la muestra.

Procedimiento Para la Inoculación de las Placas de Cultivo SSGN para Mastitis

1. Marque en el exterior de la base de la placa, el nombre o número de la vaca.
2. Invierta el tubo que contiene la leche varias veces para asegurar que se mezcle adecuadamente.
3. Inserte la parte redonda del asa estéril en la leche para llenar el asa.
4. Toque con el asa la superficie del primer cuadrante de agar.
5. Suavemente esparza la gotita de leche hacia el centro de la superficie del agar. No agujere la superficie del agar.
6. Suavemente restriegue la superficie varias veces atravesando el esparcido inicial para distribuir la muestra en la mayor parte de la superficie del cuadrante como sea posible.
7. Repita los pasos 3 – 6 para los tres cuadrantes adicionales.
8. Tape la placa con su cubierta y voltéela boca abajo.
9. Ponga las placas en la incubadora puesta a **35°C. (95°F.)** y examínelas a intervalos de 24 y 48 horas para identificar reacciones. Consulte la hoja de interpretación para la identificación.
10. Siga las instrucciones adjuntas para el desecho apropiado de las placas.



	Fecha	ID del Animal/Cuarto	Resultados del Cuadrante 1	Resultados del Cuadrante 2	Resultados del Cuadrante 3	Resultados del Cuadrante 4	Identificación del Organismo
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

PLACA DE CUADRANTES SSGN PARA MASTITIS



Cada sección de la placa en cuadrantes contiene diferentes nutrientes para bacterias que son capaces de distinguir diferentes grupos de bacteria.

Sección 1 .. Agar-sangre no selectivo capaz en el cual la mayoría de las bacterias crecen. Se usa como un control de crecimiento.

Sección 2 .. Es específica para Gram negativos tales como coliformes, *E. coli*, y *Klebsiella*.

Sección 3 .. Es específica para Strep.

Sección 4 .. Es específica para Staph.

Instrucciones para la Interpretación de Placas SSGN

Las siguientes fotos ilustran las reacciones bioquímicas típicas de los microorganismos de interés sobre las cuatro secciones de los medios nutrientes selectivos. Debido a que los microorganismos crecen a diferentes velocidades de crecimiento, observe la placa SSGN a las 24 y 48 horas. Si la placa SSGN no muestra ninguna reacción típica después de 24 horas, continúe la incubación y obsérvelas nuevamente a las 40-48 horas. No observe la placa si se ha incubado por más de 50 horas. Si la placa muestra una reacción típica como se describe en el siguiente resumen después de 24 horas o después de la segunda observación a las 40-48 horas, acciones correctivas apropiadas deberán de ser implementadas. Deseche la placa después de un solo uso aún si no hubo nada de crecimiento en la placa.

RESUMEN DE REACCIONES EN LOS MEDIOS SSGN

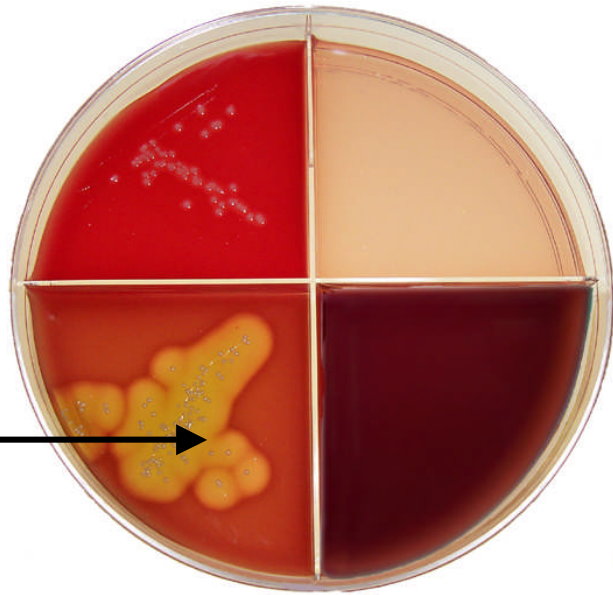
1. Coloque la placa SSGN sobre una superficie plana y limpia con la sección 2 (Gram negativos), color rosa claro, en la esquina superior derecha, tal como se muestra en la ilustración de la página 4.
2. **STAPH AUREUS:** Crecimiento en la sección 1 y la sección 4. Las colonias en la sección cuatro mostrarán hemólisis o aclaración del color rojo del medio que rodea a la colonia. Vea la ilustración en la pagina 6. Crecimiento o no crecimiento en las secciones 2 y 3 no afectan este diagnóstico.
3. **STAPH AMBIENTAL:** Crecimiento en la sección 1 y la sección 4. Las colonias en la sección 4 no mostrarán hemólisis o aclaración del color rojo del medio. Vea la ilustración en la página 6. Crecimiento o no crecimiento en las secciones 2 y 3 no afectan este diagnóstico.
4. **STREP AGALACTIAE:** Crecimiento en las secciones 1, 3 y 4. Las colonias en la sección 3 mostrarán hemólisis o aclaración del color rojo del medio alrededor de las colonias. Vea la ilustración en la página 7. Crecimiento o no crecimiento en la sección 2 no afecta este diagnóstico.
5. **STREP AMBIENTAL:** Crecimiento en las secciones 1, 3 y 4. Las colonias en la sección 3 pueden tener un color café, pero sin hemólisis. Vea la ilustración en la página 7.
6. **COLIFORMES/E. COLI:** Crecimiento en las secciones 1 y 2 es indicativo de organismos Gram negativos. Un precipitado rosa en el medio que rodea las colonias es evidencia de la presencia de organismos *E. coli*. Vea la ilustración en la página 8.
7. **NO-COLIFORMES:** Crecimiento en las secciones 1 y 2 es indicativo de organismos Gram negativos. Los organismos que no son coliformes producen colonias blancas. Vea la ilustración en la página 8.
8. **OTROS:** Si hay crecimiento solo en la sección 1 o nada de crecimiento en ninguno de los cuadrantes, los síntomas clínicos se pueden deber a organismos que no se presentan en este manual. Contacte a su veterinario o a un laboratorio de referencia.

Las colonias demostradas en estas páginas son cultivos puros de laboratorio y son usadas para ilustrar reacciones microbianas típicas en el medio de crecimiento selectivo. Las muestras de leche cruda de mastitis se ven bastante diferentes debido a los múltiples tipos de bacteria que crecen en la muestra, sobre crecimiento, o recolección deficiente de la muestra. Vea las páginas 9 y 10 para ejemplos.

STAPH AUREUS

Crecimiento en agar sangre

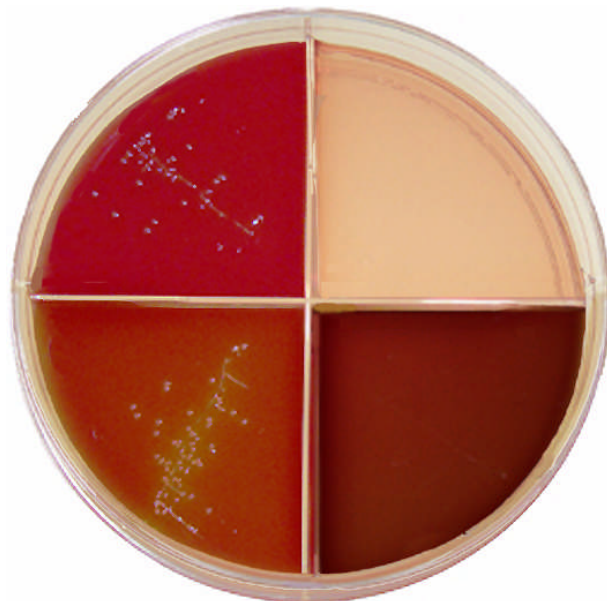
Crecimiento con hemólisis aumentada en agar Staph



STAPH AMBIENTAL

Crecimiento en agar sangre

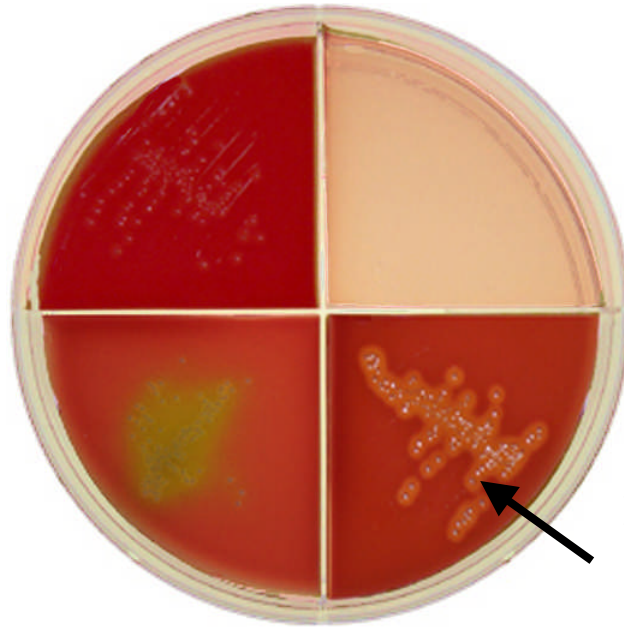
Crecimiento sin hemólisis en agar Staph



STREP AGALACTIAE

**Crecimiento
en agar
sangre**

**Crecimiento
en agar
Staph**

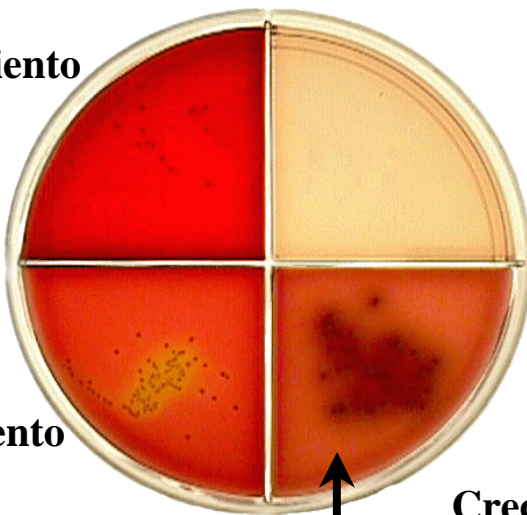


**Crecimiento con
hemólisis
aumentada en agar
Strep**

STREP AMBIENTAL

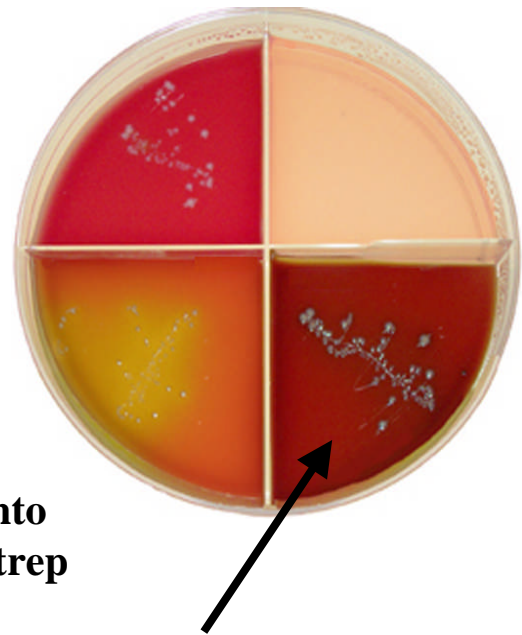
**Crecimiento
en agar
sangre**

**Crecimiento
en agar
Staph**



**Crecimiento
en agar Strep**

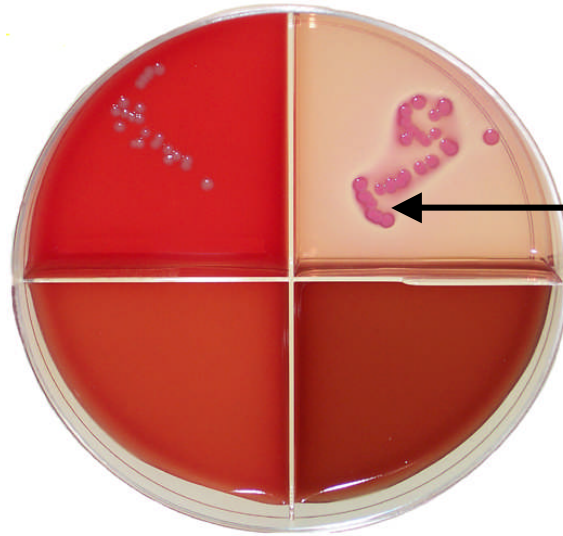
**Crecimiento en agar Strep puede
ser con o sin oscurecimiento o color
café**



GRAM NEGATIVOS

COLIFORMES/E. COLI

Crecimiento
en agar
sangre



Colonias rosas
indican
coliformes.
Precipitado rosa
adicional indica
E. coli

NO-COLIFORMES

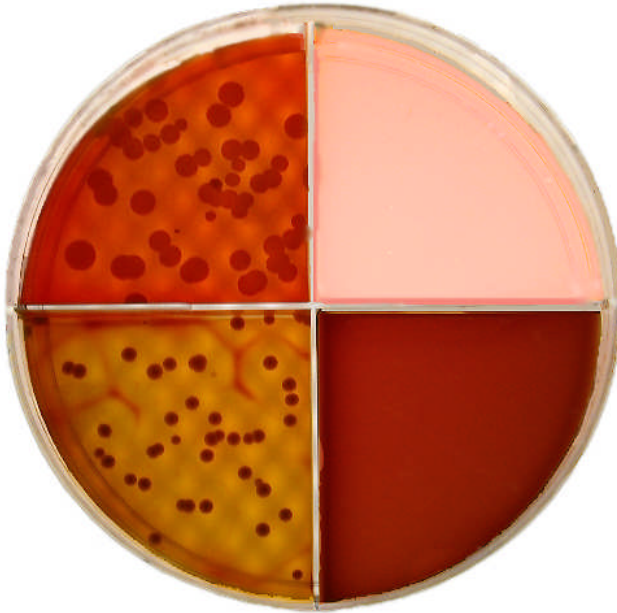
Crecimiento
en agar
sangre



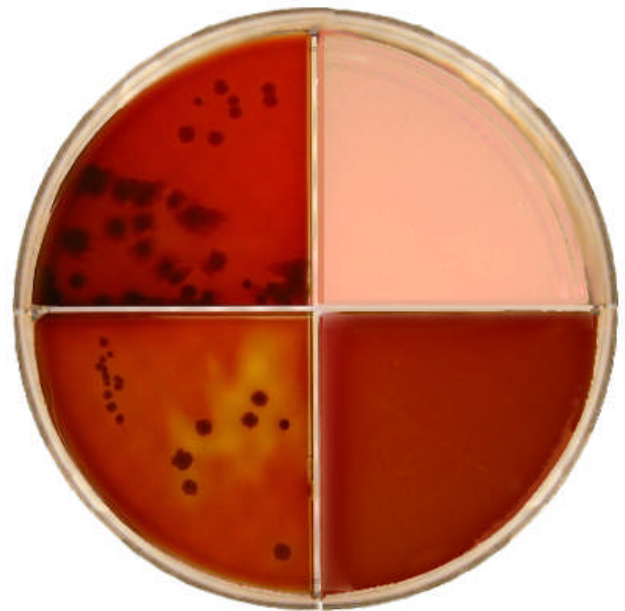
Colonias blancas
indican Gram negativos

EJEMPLOS DE OTRAS PLACAS

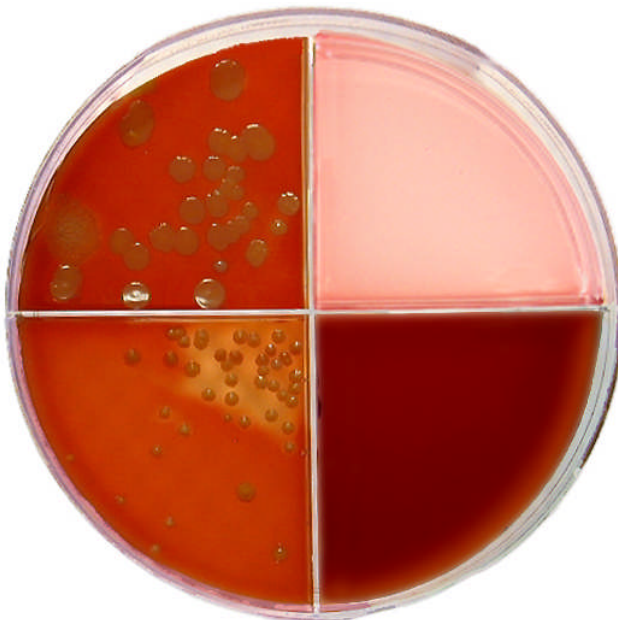
STAPH AUREUS



STAPH AMBIENTAL

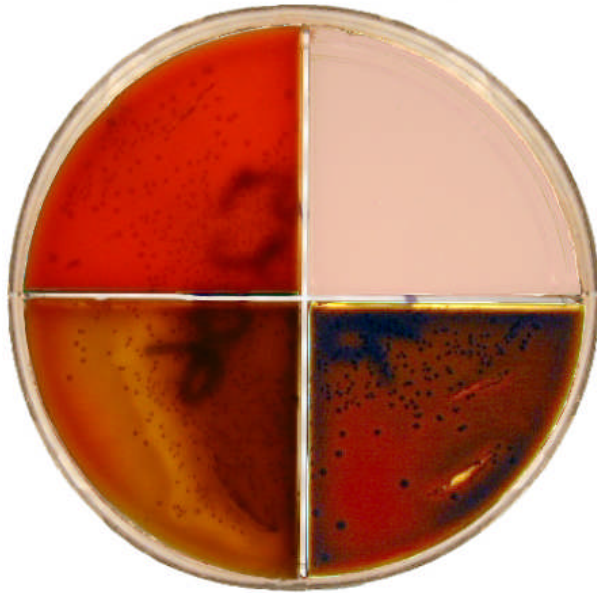


STAPH AMBIENTAL



SOBRECRECIMIENTO

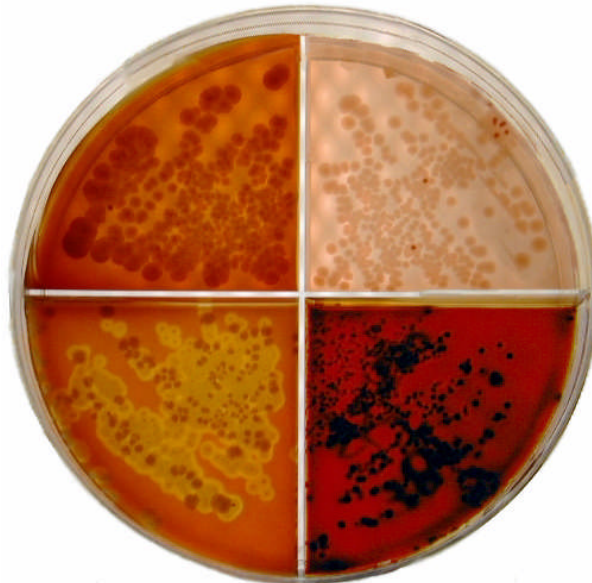
**Necesita
volver a ser
muestreada**



MEZCLA

**Coliformes
No-coliformes
Staph
Strep**

**Necesita volver a ser
muestreada**



	FECHA	ID del Animal/Cuarto	Resultados del Cuadrante 1	Resultados del Cuadrante 2	Resultados del Cuadrante 3	Resultados del Cuadrante 4	Identificación del Organismo
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							