

MastDecide – Decision-making support for evidence-based mastitis treatment

Objective

This quick test makes it possible to check the sterility of quarter milk samples taken from dairy cows with clinical mastitis. This test is not intended to replace cytomicrobiological examinations in a laboratory.

Contents

Ready-to-use test with liquid test culture media (agar) in containers (medium 1: white cap; medium 2: yellow cap), single-use pipettes, autoclavable waste bag, sterile milk sampling test tubes (for quarter milk samples), and udder/teat cleaning wipes.

Other required materials (not provided)



Disposable paper towels and disinfectant (70% ethanol) for teat cleaning and disinfection, disinfectant for surface cleaning of working area, disposable gloves, sample rack, incubator (37 °C $\pm$ 2 °C).

Warning

The product contains irritant substances in highly diluted concentrations. Avoid direct contact with the skin. Wear gloves when using the product. In case of accidental contact with the eyes, rinse the affected eye gently with tap water for several minutes, remove contact lenses if worn, and rinse again. Consult an optician/ophthalmologist if necessary.

Used test-media containers must not be reopened and should be disposed of appropriately (rendered harmless prior to disposal with regular waste) in order to prevent environmental contamination with the micro-organisms that they contain.

Not for human consumption. Keep out of the reach of children.

Instruction manual

Milk sampling

Milk samples should be taken in as sterile a manner as possible in order to avoid false or inaccurate test results.

We recommend the following procedure:

- Wear disposable gloves during sampling.
- Clean the udder and teats in as dry a manner as possible to remove visible dirt.
- Discard the first three jets of milk per teat.
- Next, disinfect the teat, especially around the teat apex and the teat canal opening, using a disposable cloth soaked in a suitable disinfectant.
- Allow the teats to dry prior to sampling.
- During sampling, hold the milk sampling container as horizontally as possible. Opening and closing of the container should take place under the teat. Avoid touching the inside of the cap of the milk sample container (either with your hands or the teat).

Testing

Attention

Wear clean disposable gloves during testing. A clean working environment and the effective disinfection of the work surface before and after using the test materials is also recommended. The working area should be separated from rooms where food for humans is stored or consumed.

Preparation

Switch on the incubator. The working temperature is 37 °C $\pm$ 2 °C.

1. Use two test containers (test medium 1: white cap, test medium 2: yellow cap) for each sample (see steps 3. to 7.).



2. Gently mix (swish) the quarter milk sample that was obtained under aseptic conditions.



3. Under aseptic conditions and using the single-use pipette, take 0.1 ml of the well-mixed milk sample. The pipette must be completely full of milk.



4.

4. Carefully open the first test medium container (test medium 1: white cap). Do not touch the inner surfaces, only the outside of the container and lid.

5. Add the 0.1 ml milk sample to test medium 1 (white cap). Avoid touching the inside of the container with the tip of the pipette.



6. Carefully close the cap of the test medium and gently mix it (by swishing). Do not put down the pipette due to the risk of contamination. The test medium must not be reopened. Incubate at 37 °C.



7. Repeat steps 3. to 6. with test medium 2 (yellow cap).

8. Label the caps as required.



Analysis of the test samples

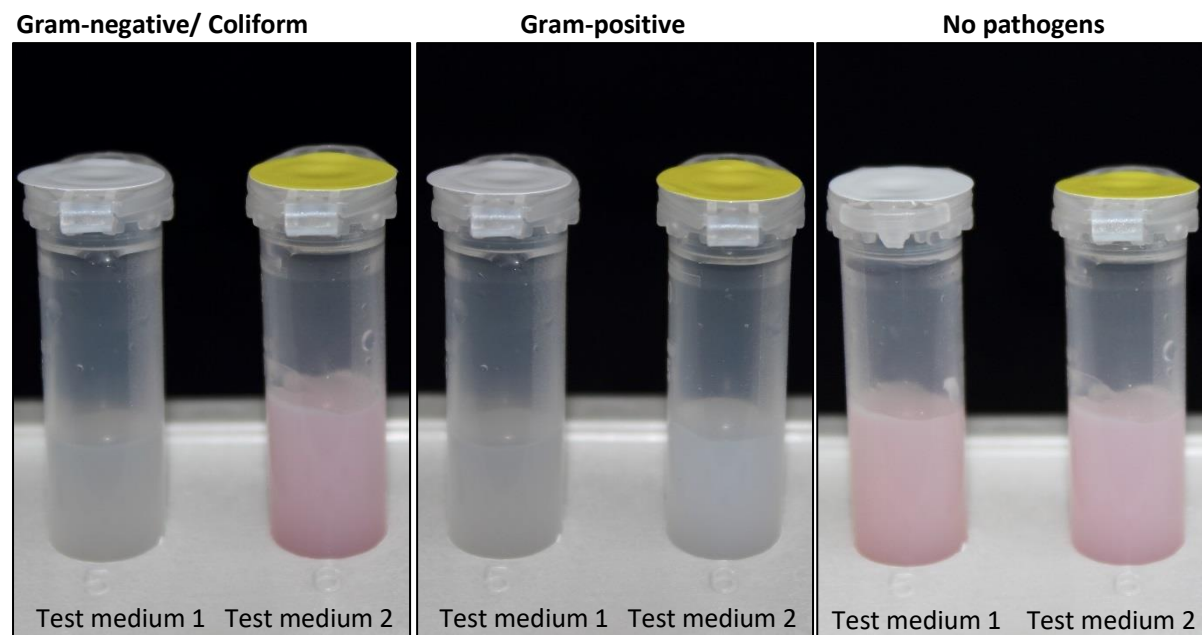
The test samples are examined after an incubation period of 12 to 14 hours. Assess the colour of both test media. Use the table below to assess the sterility of the samples tested:

Test medium 1 – white cap (general pathogen growth)	Test medium 2 – yellow cap (Gram-positive bacteria)	Test result
white	pink	Gram-negative/Coliform ^a
white	white	Gram-positive ^b
pink	pink	No pathogens detected

^a *E. coli*, *Klebsiella* spp., other coliform counts (*Citrobacter*, *Enterobacter*)

^b *S. aureus*, CNS, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, enterococci, *Lactococcus lactis*

No growth of: *Corynebacteria*, *Pseudomonads*, *Trueperella pyogenes*, yeasts, mycoplasmas



Notes of assessment

The test medium only changes colour from pink to white if microorganisms are growing in it. The change in colour might not affect the whole of the test medium; even if only parts have changed colour, this also indicates micro-organism growth and the result is considered to be positive. If both test media stay pink, no pathogen growth is detectable. If both test media change colour from pink to white, gram-positive microorganisms are present. If only test medium 1 (with the white cap) changes colour, gram-negative pathogens are likely to be present. In this case, we recommend incubating the test samples for a further two hours before re-evaluating (to increase the test sensitivity). If test medium 2 stays pink, gram-negative pathogens are present; if it turns white, gram-positive pathogens are present.

Storage and shelf life

The fresh test media are transparent with a distinct pink colour. If the fresh, unused media have changed colour or have become cloudy, they should not be used and should be disposed of.

The test media should be stored in a dark and cool place (preferably between 4 and 8 °C). Don't freeze them. The shelf life when stored correctly is up to 9 months. Do not use the test materials after the expiry date. The test media are intended for single use only. Keep used test media out of the reach of children.

Disposal

After assessing the test samples, the test media must be rendered harmless and disposed of safely. For intermediate storage, please place them in an autoclavable disposal bag. We recommend heating to 121 °C with at least 15 minutes at that temperature in a pressured atmosphere (e.g. in an autoclave). The test media that have been rendered harmless may be disposed of with regular household waste. Alternatively, the used test media may be disposed of by a veterinarian.

Troubleshooting

1. The test shows negative results or gram-negative bacterial growth, in contrast to gram-positive bacterial growth results from an official laboratory:

Please check the following points:

- Please pay attention to ensuring a high level of hygiene during sampling. Any contamination may lead to a false positive result, as bacteria might interfere with each other and stop each other from growing.
- The incubator should be pre-set and warmed up to 37 °C when placing the test agars.
- Check the incubation temperature with a thermometer, ensuring that it is at 37°C. If not, please correct.
- When adding milk to the test agar, check whether air was drawn into the pipette. If so, please repeat procedure, as there may be an insufficient amount of test media in the agar, leading to a negative test result.
- Only evaluate the test after 12 hours: an earlier reading may lead to an increased number of gram-negative and negative results.
- If an agar turns white at certain zones, it is regarded as positive (please note that not all the agar has to turn white for a result to be regarded positive).
- Don't shake or mix the test agar immediately prior to evaluation, as this may lead to a higher likelihood of more gram-negative growth or no growth.
- If the results show 'Gram-negative', you may incubate for another 2 hours (total of 14 hours) and re-evaluate the results. If so, record the results under 'notes'

2. The test shows gram-positive or gram-negative results, but no bacteria have been detected in a laboratory. Below are the possible reasons that explain this discrepancy:

- In laboratory assays, only 10 µl of milk are usually evaluated, whereas 100 µl are evaluated in this quick test. In light of this, the quick test may show up as correctly gram-positive or gram-negative in some of the samples that were tested negative in the laboratory.
- Possibly contaminated samples may be evaluated in the laboratory as having no growth or relevance, whereas in the quick test this contamination may lead to gram-positive or gram-negative results.

Further information

All information above was provided in good faith and to the best of our knowledge. None of the information contained herein may be interpreted as a guarantee or warranty. 'As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the veterinarian after all clinical and laboratory findings have been evaluated'.

Contact/producer

Veterinary Enterprises Europe B.V.

Graafschap Hornelaan 137A, 6001 AC Weert, The Netherlands



Veterinary Enterprises
EUROPE

MastDecide - para tomar decisiones basadas en la evidencia con respecto al tratamiento de la mastitis

Finalidad

Esta prueba rápida hace posible analizar la esterilidad de las muestras de leche de cuarto obtenidas de vacas lecheras con mastitis clínica. Esta prueba no pretende sustituir a los análisis citomicrobiológicos de laboratorio.

Contenido

Una prueba lista para usar con un medio de cultivo de prueba (agar) en tubos de ensayo (medio 1: tapa blanca, medio 2: tapa amarilla), micropipetas para un solo uso, una bolsa de residuos autoclavable, tubos de muestreo de leche estériles (para muestras de leche de cuarto) y toallitas para la limpieza de ubres y pezones.

Otros materiales necesarios (no incluidos)



Toallitas de papel desechables y desinfectante (etanol 70%) para la limpieza y desinfección de los pezones, desinfectante para la limpieza de la superficie de trabajo, guantes desechables, gradilla para tubos de ensayo e incubadora ($37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Advertencia

Este producto contiene sustancias irritantes en concentraciones altamente diluidas. Evite el contacto directo con la piel. Use guantes al utilizar este producto. En caso de contacto con los ojos, enjuague con cuidado el ojo afectado con agua del grifo durante varios minutos. Si usa lentes de contacto, retírelas y vuelva a enjuagar. Si es necesario, acuda a un óptico/oftalmólogo.

Los tubos de medios de prueba usados no deben volver a abrirse y deben desecharse de la manera correcta (deben hacerse inofensivos antes de desecharlos con los residuos normales) para evitar la contaminación medioambiental por los microbios presentes en los medios de prueba.

No son aptos para uso humano. Mantener fuera del alcance de los niños.

Instrucciones

Obtención de muestras de leche

Las muestras de leche deben obtenerse de una manera lo más estéril posible para evitar resultados falsos positivos o imprecisos. Recomendamos el siguiente procedimiento:

- Use guantes desechables al tomar las muestras.
- Limpie la ubre y los pezones de la manera más seca posible para eliminar la suciedad visible.
- Ordeñe cada pezón y deseche los tres primeros chorros de leche.
- Desinfecte el pezón, especialmente alrededor de la punta del pezón y de la abertura del canal del pezón, con una toallita desechable y desinfectante.
- Permita que los pezones se sequen antes de proceder a tomar la muestra de leche.
- Sostenga el tubo de muestreo de leche lo más horizontalmente posible para recoger la muestra de leche. El tubo debe abrirse y cerrarse debajo del pezón. Se debe evitar el contacto de las manos o del pezón con el interior de la tapa o del tubo de muestra.

Ejecución de la prueba

¡Atención!

Use guantes desechables limpios durante la ejecución de la prueba. También se recomienda trabajar en un entorno limpio y realizar una desinfección eficaz de la encimera antes y después de usar los materiales de prueba. El lugar de trabajo debe estar separado de los espacios donde se almacena o consume comida humana.

Preparación

Encienda la incubadora. La temperatura de trabajo es de $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

1. Use dos tubos de ensayo para cada muestra (medio de prueba 1: tapa blanca, medio de prueba 2: tapa amarilla), consulte los pasos 3 a 7.



2. Dele cuidadosamente la vuelta a la muestra de leche de cuarto recogida en condiciones asépticas para mezclarla.



3. Extraiga, en condiciones asépticas, 0,1 ml de la muestra de leche bien mezclada del tubo de ensayo. Utilice una pipeta desechable. La pipeta debe llenarse completamente con leche.



4. Abra con cuidado el primer tubo con medio de prueba (medio de prueba 1: tapa blanca). No toque el interior. Solo se puede tocar el exterior del tubo y la tapa.

5. Deje que goteen 0,1 ml de la muestra de leche en el medio de prueba (tapa blanca). No toque el interior del tubo con el extremo de la pipeta.



6. Con cuidado, cierre la tapa del medio de prueba y mezcle dándole la vuelta al tubo. No apoye la pipeta, ya que de lo contrario habría riesgo de contaminación. El medio de prueba no se puede volver a abrir. Incube a 37 °C.



7. Repita los pasos 3 a 6 con el medio de prueba 2 (tapa amarilla).

8. En caso necesario, marque los tubos.



Análisis de las muestras de ensayo

Las muestras de prueba se analizan después de un período de incubación de 12 a 14 horas. Evalúe el color de ambos medios de prueba. Utilice la siguiente tabla para evaluar la esterilidad de las muestras analizadas:

Medio de prueba 1- tapa blanca (crecimiento bacteriano general)	Medio de prueba 2- tapa amarilla (bacterias grampositivas)	Resultado de la prueba
blanco	rosa	Gramnegativo/coliforme
blanco	blanco	Grampositivo ^b
rosa	rosa	No se han detectado bacterias

^a *E. coli*, *Klebsiella* spp., (otros) recuentos coliformes (*Citrobacter*, *Enterobacter*),

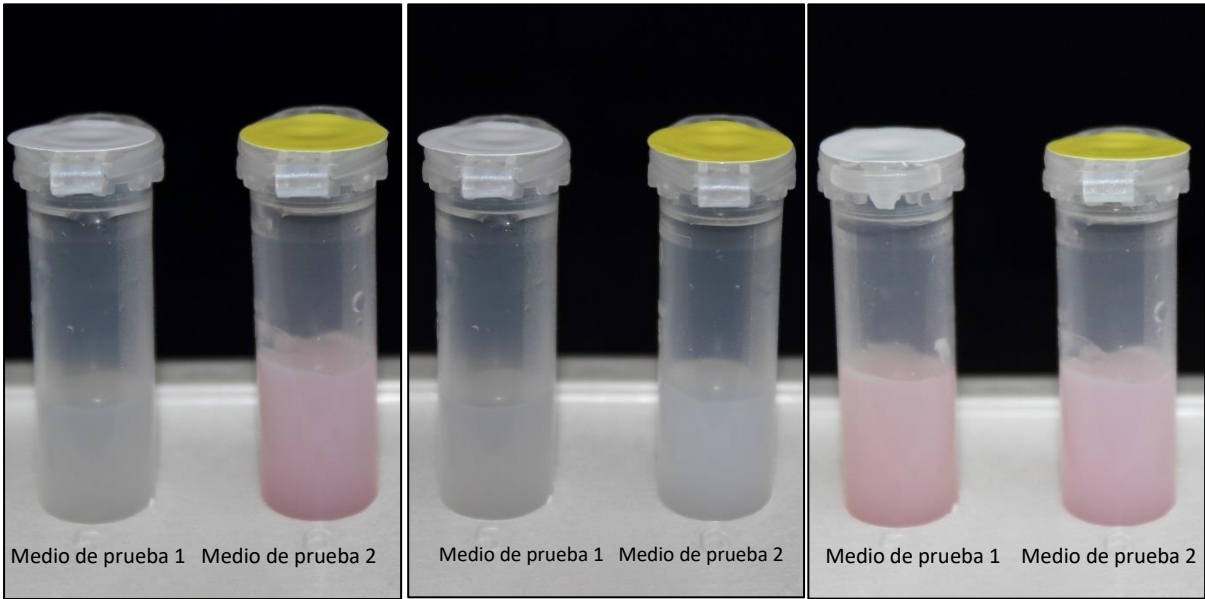
^b *S. aureus*, CNS, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, enterococci, *Lactococcus lactis*

No se propaga: corinebacterias, *Pseudomonas*, *Trueperella pyogenes*, levaduras, micoplasma

Gramnegativo/ Coliforme

Grampositivo

No hay bacterias



Valoración

El medio de prueba solo cambia de rosa a blanco cuando crecen microorganismos en el mismo. Es posible que no todos los medios de prueba cambien de color. Asimismo, incluso si solo una parte cambia de color, nos encontramos ante un aumento de los microorganismos y el resultado se considera positivo. Si ambos medios de prueba se mantienen de color rosa, esto significa que no se ha detectado ningún crecimiento bacteriano. Si ambos medios de prueba cambian de un color rosa a un color blanco, hay microorganismos grampositivos presentes. Si solo el medio de prueba 1 (con la tapa blanca) cambia de color, esto significa que hay bacterias gramnegativas presentes. En ese caso, recomendamos ampliar dos horas la incubación y, a continuación, volver a valorar. Si el medio de prueba 2 permanece de color rosa, esto significa que hay bacterias gramnegativas presentes. Si este medio de prueba se vuelve blanco, esto significa que hay bacterias grampositivas presentes.

Almacenamiento y caducidad

Los medios de prueba frescos son transparentes, con un color rosa llamativo. Si los medios frescos, no utilizados, han cambiado de color o se han vuelto turbios, ya no se podrán utilizar y deberán desecharse.

Los medios de prueba deben almacenarse en un lugar oscuro y fresco (preferentemente, entre 4 y 8 °C). ¡No congele los medios de prueba! Con el almacenamiento correcto, los medios de prueba pueden conservarse hasta nueve meses. Después de la fecha de caducidad, los materiales de prueba ya no podrán volver a utilizarse. Los medios de prueba están destinados a un solo uso. Mantenga los medios de prueba usados fuera del alcance de los niños.

Eliminación

Después de evaluar las muestras de prueba, los medios de prueba deben hacerse inofensivos y se deben desechar de una manera segura. Inmediatamente después de su uso, póngalos en una bolsa de residuos autoclavables. Se recomienda calentar esta bolsa bajo presión durante al menos 15 minutos a 121 °C (por ejemplo, en un autoclave). Los medios de prueba que se han hecho inofensivos pueden eliminarse con los residuos domésticos normales. Los medios de prueba también pueden ser desechados por un veterinario.

Resolución de problemas

1. La prueba indica un resultado negativo o un crecimiento bacteriano gramnegativo, mientras que en un laboratorio oficial se han encontrado bacterias grampositivas:

Compruebe los siguientes puntos:

- Garantice una higiene segura al tomar muestras: la contaminación puede conllevar a resultados falsos positivos, porque las bacterias pueden interferir entre sí e impedir la propagación.
- La incubadora debe precalentarse a una temperatura de 37 °C cuando empiece a incubar los agares de prueba.
- Compruebe con un termómetro que la incubadora se mantiene en la temperatura adecuada (37 °C). Ajuste la temperatura si este no es el caso.
- Compruebe que, al verter la leche en el agar de prueba, no entra aire en la pipeta. Si este es el caso, repita el procedimiento, ya que posiblemente no haya suficiente medio de prueba en el agar. Esto puede ocasionar un resultado negativo.
- Valore la prueba solo después de 12 horas. Una evaluación antes de este plazo puede conllevar a más resultados gramnegativos y negativos.
- Si un agar se vuelve blanco en ciertas zonas, la prueba se considera positiva, incluso si el medio no ha cambiado completamente de color.
- Nunca agite los tubos de ensayo antes de analizarlos. Esto puede conllevar a más resultados gramnegativos o a resultados que indiquen que no hay propagación.
- Si el resultado es gramnegativo, puede volver a incubar durante dos horas (un total de 14 horas) y volver a valorar los resultados. Registre los resultados en “observaciones”.

2. La prueba ofrece un resultado grampositivo o gramnegativo, pero no se han detectado bacterias en un laboratorio. Estas son las posibles razones que explican esta diferencia:

- En las pruebas de laboratorio, generalmente solo se evalúan 10 µl de leche, mientras que en esta prueba rápida se analizan 100 µl. En consecuencia, esta prueba rápida puede producir un resultado grampositivo o gramnegativo correcto para muestras que se han analizado como negativas en el laboratorio.
- Las muestras pueden haber sido contaminadas, como resultado de lo cual el resultado de la prueba de laboratorio es “ninguna propagación” o “ningún crecimiento relevante”, mientras que la contaminación en esta prueba rápida puede conllevar a un resultado grampositivo o gramnegativo.

Más información:

La información anterior se proporciona de buena fe y de acuerdo con nuestros mejores conocimientos. Nada de esta información puede interpretarse como una garantía. Al igual que ocurre con todas las pruebas diagnósticas, un diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en los resultados de una única prueba, sino que solo debe ser realizado por el veterinario después de haber evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

Datos de contacto del fabricante

Veterinary Enterprises Europe B.V.

Graafschap Hornelaan 137A, 6001 AC Weert, The Netherlands



Veterinary Enterprises
EUROPE

MastDecide - Entscheidungshilfe für evidenzbasierte Mastitistherapie

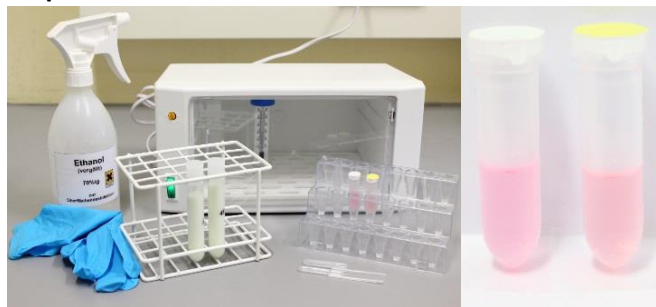
Verwendungszweck

Schnelltest zur Überprüfung der Sterilität von (Viertelanfangs-)Gemelksproben von Milchkühen mit klinischer Mastitis zur Therapieentscheidung. Dieser Schnelltest ersetzt nicht die zytomikrobiologische Untersuchung in einem entsprechenden Labor.

Inhalt

Gebrauchsfertige Tests mit flüssigen Testnährmedien (Testmedium 1: weißer Deckel, Testmedium 2: gelber Deckel), Einmalpipetten, autoklavierbare Entsorgungsbeutel, sterile Probenröhrchen zur Entnahme der Viertelanfangsgemelksproben, Zitzenreinigungstücher.

Empfohlene weitere Materialien



Einwegpapiertücher und Desinfektionsmittel (Ethanol 70%ig) zur Zitzenreinigung und -desinfektion, Desinfektionsmittel zur Oberflächendesinfektion des Arbeitsbereiches, Einmalhandschuhe, Probenständer, Inkubator ($37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$).

Warnung

Das Produkt enthält reizende Substanzen in stark verdünnter Konzentration. Ein direkter Hautkontakt sollte vermieden werden. Bei der Anwendung sind Handschuhe zu tragen. Bei versehentlichem Augenkontakt das betroffene Auge mehrere Minuten behutsam mit Leitungswasser spülen, Kontaktlinsen entfernen und weiter spülen. Bei Bedarf einen Augenarzt aufsuchen.

Gebrauchte Testmedien dürfen nicht mehr geöffnet werden und müssen vor der Entsorgung über den Hausmüll unschädlich gemacht werden (s. Entsorgung), um eine Kontamination der Umwelt durch enthaltene Mikroorganismen zu vermeiden.

Nicht zum menschlichen Verzehr geeignet. Für Kinder unzugänglich aufbewahren.

Gebrauchsanweisung

Probenahme

Die Proben, die mit diesem Test untersucht werden, müssen möglichst steril entnommen werden, um falsche Testergebnisse zu vermeiden. Folgendes Vorgehen wird empfohlen:

- Tragen Sie bei der Probenahme saubere Einmalhandschuhe.
- Reinigen Sie Euter und Zitzen möglichst trocken von groben Verschmutzungen.
- Die ersten drei Milchstrahlen pro Zitze werden verworfen.
- Desinfizieren Sie anschließend die Zitze, vor allem jedoch die Zitzenspitze mit der Zitzenkanalöffnung, mit einem Einmaltuch, das mit einem geeigneten Desinfektionsmittel getränkt ist.
- Die Zitzen müssen vor der Probenahme abtrocknen.
- Zur Probenahme wird das Probenröhrchen möglichst horizontal unter die Zitze gehalten. Öffnen und Verschließen des Röhrchens erfolgen unter der Zitze. Die Stopfeninnenseite und das Röhrchen dürfen weder mit den Händen noch mit der Zitze berührt werden.

Durchführung des Tests

Achtung

Bei der Durchführung des Tests müssen saubere Einmalhandschuhe getragen werden. Ein sauberes Arbeitsumfeld und eine wirksame Desinfektion der Arbeitsflächen vor und nach dem Umgang mit dem Testsystem werden empfohlen. Der Arbeitsbereich sollte getrennt von Räumen eingerichtet werden, in denen Lebensmittel aufbewahrt oder verzehrt werden.

Vorbereitung

Schalten Sie den Inkubator ein. Die Temperatur muss 37 °C betragen.

1. Setzen Sie pro Probe zwei Testmedien (Testmedium 1: weißer Deckel, Testmedium 2: gelber Deckel) an (siehe Schritte 3.-7.).



2. Schwenken Sie die unter aseptischen Bedingungen gewonnene Viertelanfangsgemelksprobe.



3. Entnehmen Sie mit der Einmalpipette unter aseptischen Bedingungen 0,1 ml der zuvor gut durchmischten Gemelksprobe; die Pipette muss hierzu gänzlich gefüllt sein.



4. Öffnen Sie vorsichtig das erste Testgefäß (Testmedium 1: weißer Deckel). Dabei dürfen nur die Außenwände des Gefäßes und des Deckels mit den Fingern berührt werden.

5. Geben Sie die entnommenen 0,1 ml der Probe in das Testmedium 1 (weißer Deckel). Berühren Sie mit der Pipettenspitze möglichst nicht das Gefäß.



6. Schließen Sie den Deckel des Gefäßes mit dem Testmedium sorgfältig und schwenken Sie dieses mehrmalig. Legen Sie dabei die Pipette nicht ab. Das Gefäß darf nicht erneut geöffnet werden. Die Bebrütung erfolgt bei 37 °C.



7. Wiederholen Sie die Schritte 3.-6. mit Testmedium 2 (gelber Deckel).

8. Beschriften Sie die Testgefäße nach Bedarf.



Auswertung des Tests

Die Testauswertung erfolgt nach 12-14-stündiger Bebrütung. Beurteilen Sie dabei die Farbe der beiden Testmedien. Zur Beurteilung der Sterilität der untersuchten Probe gehen Sie nach dem folgenden Schema vor:

Testmedium 1 - weiß markiert (Erregerwachstum allgemein)	Testmedium 2 - gelb markiert (Gram-positiv)	Testergebnis
weiß	rosa	Gram-negativ bzw. Coliforme ^a
weiß	weiß	Gram-positiv ^b
rosa	rosa	kein Erreger nachgewiesen

^a *E. coli*, *Klebsiella* spp., (andere) coliforme Keime (*Citrobacter*, *Enterobacter*),

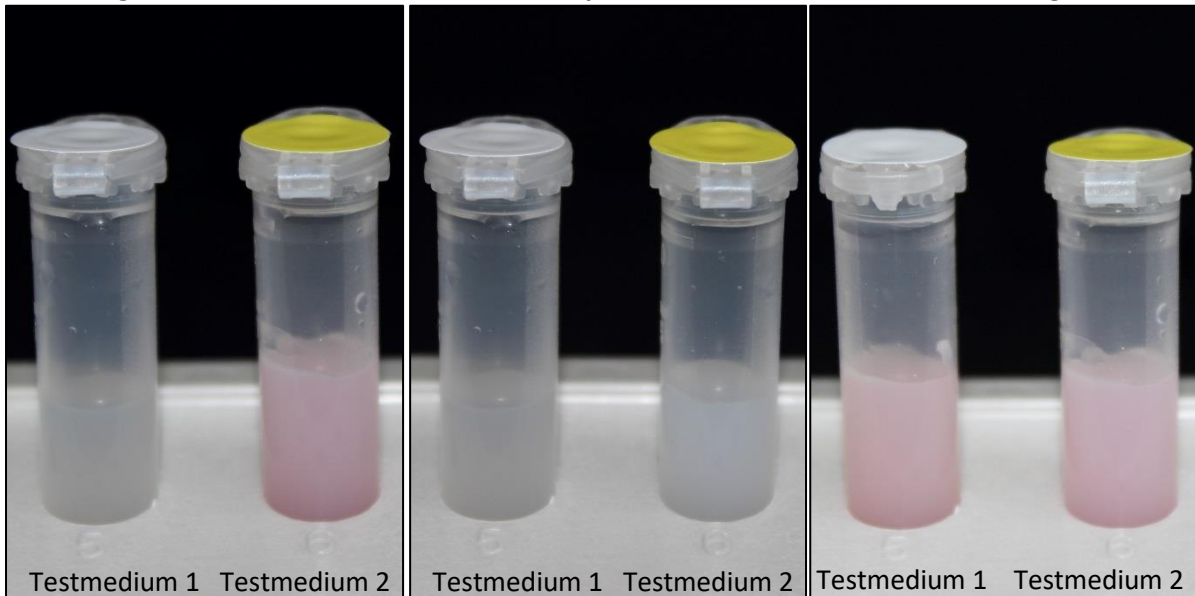
^b *S. aureus*, KNS, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, Enterokokken, *Lactococcus lactis lactis*

Kein Wachstum von: Corynebakterien, Pseudomonaden, *Trueperella pyogenes*, Hefen, Mykoplasmen

Gram-negativ/ Coliforme

Gram-positiv

kein Erreger



Hinweise zur Auswertung

Die Testmedien entfärben sich nur von rosa zu weiß, wenn Mikroorganismen in den Medien wachsen. Dabei muss die Entfärbung nicht das gesamte Medium betreffen, auch eine beginnende Entfärbung ist als solche zu werten. Bleiben beide Testmedien rosafarben, ist kein Erregerwachstum nachweisbar. Entfärben sich beide Testmedien, handelt es sich um Gram-positive Mikroorganismen. Entfärbt sich nur Testmedium 1, handelt es sich höchstwahrscheinlich um Gram-negative Erreger. In diesem Fall empfiehlt es sich zur Erhöhung der Sensitivität, den Test noch weitere zwei Stunden zu bebrüten und dann erneut auszuwerten. Bleibt das Testmedium 2 rosafarben, handelt es sich um Gram-negative Erreger, bei Entfärbung handelt es sich um Gram-positive Erreger.

Lagerung und Haltbarkeit

Die frischen Testmedien sind klar mit einer deutlichen Rosafärbung. Im Falle einer Entfärbung oder Trübung der frischen, nicht benutzten Testmedien sollten diese nicht mehr verwendet, sondern entsorgt werden.

Die Medien sollten dunkel und kühl (vorzugsweise bei 4 bis 8 °C) gelagert werden. Frieren Sie die Testmedien nicht ein. Die Haltbarkeit beträgt bei korrekter Lagerung 9 Monate. Nutzen Sie das Testsystem nicht nach Ablauf des Verfallsdatums. Die Testmedien dürfen nur einmalig verwendet werden. Die gebrauchten Tests für Kinder unzugänglich aufbewahren.

Entsorgung

Nach Auswertung des Tests müssen die Reaktionsgefäße unschädlich gemacht und entsorgt werden. Zur Zwischenlagerung nutzen Sie bitte die autoklavierbaren Entsorgungsbeutel. Empfohlen wird eine Erhitzung auf 121 °C mit einer Heizhaltezeit von mindestens 15 Minuten in einer gespannten Atmosphäre (z.B. Autoklav). Die unschädlich gemachten Testmedien dürfen über den Hausmüll entsorgt werden. Alternativ wird eine Entsorgung der benutzten Testmedien über den Haustierarzt empfohlen.

Fehlerquellen

1. Der Test fällt negativ oder Gram-negativ aus, im Laborbefund werden jedoch Gram-positive Erreger angegeben:

Folgende Punkte müssen überprüft oder berücksichtigt werden:

- Bei der Probenahme akribisch auf Hygiene achten: Kontaminationen können zu einem falschen Testergebnis führen, da sich die Erreger im Wachstum hemmen können.
- Den Inkubator vorheizen, damit er schon auf 37 °C hochgeheizt hat, wenn die Röhrchen hineingestellt werden.
- Die Bebrütungstemperatur mit Hilfe des Thermometers überprüfen und falls nötig auf 37 °C korrigieren.
- Bei der Beimpfung kontrollieren, ob Luft in die Pipette eingezogen wurde – in diesem Fall den Vorgang wiederholen, sonst kommt zu wenig Probenmaterial in die Teströhrchen, und der Test fällt negativ aus.
- Den Test erst nach 12 Stunden auswerten, zu frühe Auswertung führt zu erhöhter Anzahl Gram-negativer und negativer Ergebnisse.
- Den Test schon als positiv bewerten, wenn er beginnt sich zu entfärben (weiße Zone sichtbar), er muss nicht komplett entfärbt sein.
- Den Test direkt vorm Ablesen nicht schütteln oder schwenken, dies führt zu vermehrt Gram-negativem Wachstum und keinem Wachstum.
- Bei Ergebnis „Gram-negativ“ noch zwei Stunden weiterbebrüten (insgesamt 14 Stunden) und nochmals ablesen, Ergebnis mit Anmerkungen nachtragen.

2. Der Test fällt Gram-positiv oder Gram-negativ aus, im Labor werden jedoch keine Erreger nachgewiesen.

- Im Labor werden nur 10 µl Milch untersucht, im Schnelltest 100 µl. Der Schnelltest zeigt dadurch bei den im Labor negativ getesteten Proben zum Teil richtig Gram-positiv oder Gram-negativ an.
- Möglicherweise werden kontaminierte Proben im Laborbefund als o.b.B. angegeben, im Schnelltest können diese Kontaminationen jedoch zu einem Gram-positiven oder Gram-negativen (oder negativen) Ergebnis führen.

Weitere Informationen

Die hier enthaltenen Informationen wurden nach unserem besten Wissen zusammengestellt. Keine der hier enthaltenen Informationen darf aber als Garantie oder Gewährleistung ausgelegt werden.

Haftungsbeschränkungen

Aus den Testergebnissen lassen sich keinerlei Rechts- oder Schadensansprüche ableiten. Wie bei allen diagnostischen Tests sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzelnen Tests beruhen, sondern nur durch den Tierarzt vorgenommen werden, nachdem alle klinischen und Laborbefunde ausgewertet wurden.

Veterinary Enterprises Europe B.V.

Graafschap Hornelaan 137A, 6001 AC Weert, The Netherlands



Veterinary Enterprises
EUROPE

MastDecide - pour la prise de décision fondée sur des preuves concernant le traitement de la mastite

Objectif

Ce test rapide permet de tester la stérilité d'échantillons de lait de quartier qui ont été pris sur des vaches laitières atteintes de mastite clinique. Ce test n'a pas pour but de remplacer l'analyse cyto-microbiologique en laboratoire.

Contenu

Test prêt à l'emploi avec milieux de culture liquides (agar-agar) en éprouvettes tests (milieu 1 : bouchon blanc, milieu 2 : bouchon jaune), micropipettes à usage unique, sac poubelle autoclavable, éprouvettes d'échantillonnage de lait stériles (pour échantillons de lait de quartier) et chiffons pour nettoyer la mamelle/les trayons.

Autre matériel nécessaire (non fourni)



Petites serviettes jetables en papier et désinfectant (éthanol 70 %) pour nettoyer et désinfecter les trayons, désinfectant pour le nettoyage du plan de travail, gants jetables, porte-éprouvettes, incubateur ($37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$).

Avertissement

Ce produit contient des substances irritantes dans une concentration fortement diluée. Éviter tout contact direct avec la peau. Porter des gants lors de l'utilisation de ce produit. En cas de contact avec les yeux, rincer avec précaution l'œil concerné pendant quelques minutes avec de l'eau courante, enlever les lentilles de contact éventuellement portées et rincer à nouveau. Consulter un opticien/oculiste si nécessaire.

Les éprouvettes de milieux de culture déjà utilisées pour les tests ne doivent pas être ouvertes à nouveau et doivent être éliminées de manière correcte (elles doivent être rendues inoffensives avant d'être jetées avec les déchets habituels) pour éviter toute pollution de l'environnement par les microbactéries présentes dans les milieux de culture du test.

Non destiné à un usage humain. Tenir hors de portée des enfants.

Instructions

Prise des échantillons de lait

Les échantillons de lait doivent être pris de manière aussi stérile que possible pour éviter des résultats inexacts ou faussement positifs. Nous recommandons la procédure suivante :

- Utiliser des gants jetables lors de la prise des échantillons.
- Nettoyer la mamelle et les trayons de la manière la plus sèche possible pour enlever la saleté visible.
- Jeter les trois premiers jets de lait pour chaque trayon.
- Désinfecter le trayon, surtout au voisinage de son extrémité et de l'ouverture du canal du trayon, avec un chiffon jetable et un désinfectant approprié.
- Laisser les trayons sécher avant de prendre les échantillons de lait.
- Tenir l'éprouvette d'échantillonnage de lait le plus horizontalement possible pour collecter l'échantillon de lait. L'éprouvette doit être ouverte et fermée sous le trayon. Éviter tout contact des mains ou du trayon avec la face interne du bouchon ou de l'éprouvette d'échantillonnage.

Exécution du test

Attention !

Porter des gants jetables propres pendant que vous effectuez le test. Il est également recommandé d'assurer un environnement propre et une désinfection efficace du plan de travail avant et après l'utilisation du matériel de test. Le lieu de travail doit être séparé des espaces où des produits pour l'alimentation humaine sont stockés ou consommés.

Préparation

Allumer l'incubateur. La température de travail est 37 °C +/- 2 °C.

1. Pour chaque échantillon, utiliser deux éprouvettes tests (milieu test 1 : bouchon blanc, milieu test 2 : bouchon jaune), voir les étapes 3 à 7.



2. Faire tourner avec précaution l'échantillon de lait de quartier pris dans des conditions aseptiques pour mélanger.



3. Retirer de l'éprouvette dans des conditions aseptiques 0,1 ml de l'échantillon de lait bien mélangé. Utiliser une pipette à usage unique. La pipette doit être complètement remplie de lait.



4. Ouvrir avec précaution la première éprouvette avec le milieu test (milieu test 1 : bouchon blanc). Ne pas toucher la face interne de l'éprouvette. Seules peuvent être touchées les faces externes de l'éprouvette et du bouchon.

5. Laisser goutter 0,1 ml de l'échantillon de lait dans le milieu test (bouchon blanc). Ne pas toucher la face interne de l'éprouvette avec l'extrémité de la pipette.



6. Fermer soigneusement le bouchon du milieu test et mélanger avec précaution en faisant tourner l'éprouvette. Ne plus poser la pipette en raison du risque de contamination. Le milieu test ne doit plus être ouvert à nouveau. Incuber à 37 °C.



7. Répéter les étapes 3 à 6 avec le milieu test 2 (bouchon jaune).

8. Le cas échéant, marquer les éprouvettes.



Analyse des échantillons tests

Les échantillons tests sont analysés après une durée d'incubation de 12 à 14 heures. Examiner la couleur des deux milieux tests. Utiliser le tableau ci-dessous pour évaluer la stérilité des échantillons testés :

Milieu test 1 – bouchon blanc (croissance bactérienne générale)	Milieu test 2 – bouchon jaune (Bactéries Gram positif)	Résultat du test
blanc	rose	Gram négatif/coliforme ^a
blanc	blanc	Gram positif ^b
rose	rose	Pas de bactéries détectées

^a *E. coli*, *Klebsiella* spp., (autres) comptages coliformes (*Citrobacter*, *Enterobacter*),

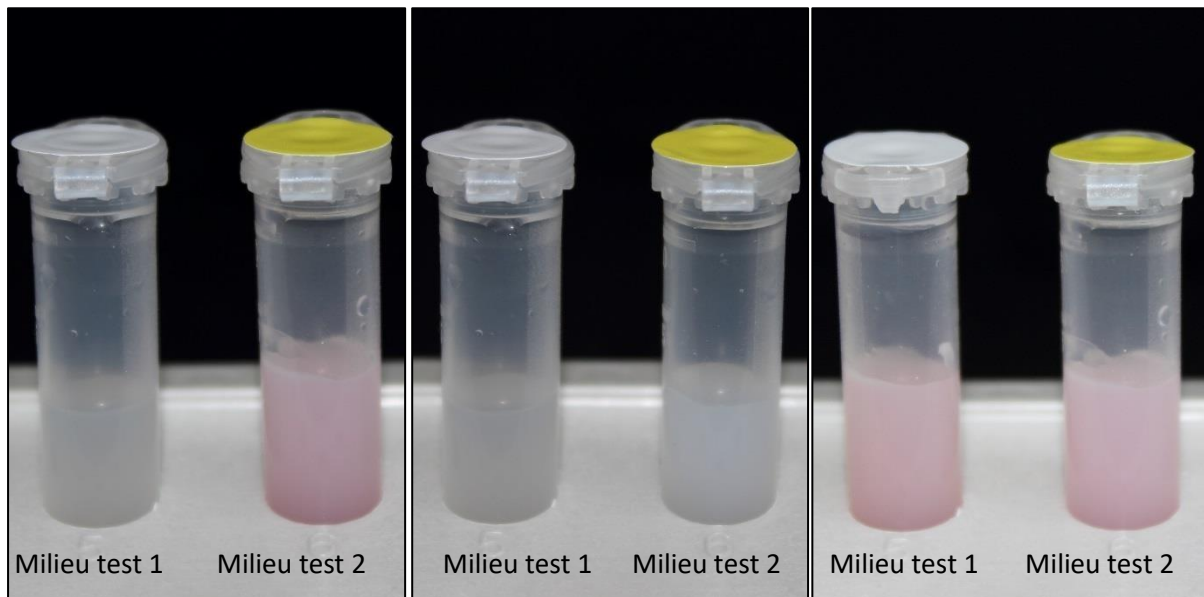
^b *S. aureus*, CNS, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, enterococci, *Lactococcus lactis*

Pas de multiplication de : *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Trueperella pyogenes*, levures, mycoplasma

Gram négatif/ Coliforme

Gram positif

Pas de bactéries



Évaluation

Le milieu test vire du rose au blanc uniquement en cas de croissance de microorganismes. Il peut arriver que le milieu test ne se colore pas entièrement. Même si seule une partie se colore, il est question de multiplication de microorganismes et le résultat est considéré comme positif. Si les deux milieux tests restent roses, cela signifie qu'aucune croissance bactérienne n'a été détectée. Si les deux milieux tests virent du rose au blanc, cela indique la présence de microorganismes Gram positif. Si seul le milieu test 1 (avec le bouchon blanc) change de couleur, cela indique la présence probable de bactéries Gram négatif. Dans ce cas, nous vous conseillons de prolonger la durée d'incubation de 2 heures et d'effectuer ensuite une nouvelle évaluation. Si le milieu test 2 reste rose, cela indique la présence de bactéries Gram négatif. Si ce milieu test devient blanc, cela indique la présence de bactéries Gram positif.

Stockage et date de péremption

Les milieux tests frais sont transparents avec une couleur rose frappante. Si les milieux frais non utilisés ont pris une autre couleur ou sont devenus troubles, ils ne doivent plus être utilisés et doivent être éliminés.

Les milieux tests doivent être conservés dans un endroit frais et sombre (de préférence entre 4 et 8 ° C). Ne pas congeler les milieux tests. Lors d'un stockage correct, les milieux tests se conservent jusqu'à neuf mois. Ne plus utiliser le matériel de test après la date de péremption. Les milieux tests sont destinés à un usage unique. Tenir les milieux tests utilisés hors de portée des enfants.

Élimination

Après l'évaluation des échantillons tests, les milieux tests doivent être rendus inoffensifs et évacués d'une manière sûre. Après usage, les mettre immédiatement dans un sac poubelle autoclave. Il est recommandé de chauffer ce sac pendant au moins 15 minutes sous pression jusqu'à 121 °C (par exemple dans un autoclave). Les milieux tests rendus inoffensifs peuvent être jetés avec les déchets ménagers habituels. Les milieux tests peuvent également être enlevés par un vétérinaire.

Résolution de problèmes

1. Le test donne un résultat négatif ou une croissance de bactéries Gram négatif, alors que des bactéries Gram positif ont été identifiées dans un laboratoire officiel :

Contrôler les points suivants :

- Veiller à observer une parfaite hygiène lors de l'échantillonnage : une contamination peut conduire à des résultats faussement positifs car les bactéries peuvent interférer entre elles et empêcher une multiplication.
- L'incubateur doit avoir été préchauffé à une température de 37 °C lorsque vous incubez les agars-agars tests.
- Contrôler avec un thermomètre si l'incubateur reste à la bonne température (37 °C). Ajuster la température le cas échéant.
- Lors de l'ajout du lait goutte à goutte à l'agar-agar test, contrôler si de l'air est entré dans la pipette. Si tel est le cas, répéter la procédure car il se peut qu'il y ait trop peu de milieu test dans l'agar-agar. Cela peut entraîner un résultat négatif.
- Évaluer le test seulement après 12 heures. Une évaluation trop rapide peut conduire à un plus grand nombre de résultats Gram négatif et à des résultats négatifs.
- Si certaines zones d'un agar-agar se colorent en blanc, le test est considéré comme positif, même si le milieu n'est pas entièrement blanc.
- Ne jamais agiter les éprouvettes tests juste avant l'évaluation. Cela peut conduire à un plus grand nombre de résultats Gram négatif ou à des résultats qui n'indiquent aucune multiplication.
- Si le résultat est Gram négatif, vous pouvez encore incuber deux heures supplémentaires (au total 14 heures) et évaluer à nouveau les résultats. Noter les résultats sous « remarques ».

2. Le test donne un résultat Gram positif ou Gram négatif, mais aucune bactérie n'a été détectée en laboratoire. Cette différence peut s'expliquer comme suit :

- En laboratoire, l'évaluation est faite en général sur seulement 10 µl de lait, alors que ce test rapide utilise 100 µl. Par conséquent, il peut arriver que ce test rapide donne un résultat correct Gram positif ou Gram négatif pour des échantillons testés comme négatifs en laboratoire.
- Il se peut que les échantillons aient été contaminés, le résultat du test en laboratoire indiquant « pas de multiplication » ou « croissance non pertinente », alors que la contamination dans ce test rapide peut conduire à un résultat Gram positif ou Gram négatif.

Autres informations :

Les informations ci-dessus ont été fournies de bonne foi et en l'état actuel de nos connaissances. Aucune de ces informations ne peut être interprétée comme une garantie. Comme pour tous les tests de diagnostic, un diagnostic clinique définitif ne doit pas être fondé sur les résultats d'un seul test, mais ne peut être établi par le vétérinaire qu'après évaluation de tous les résultats cliniques et résultats de laboratoire.

Coordonnées du fabricant

Veterinary Enterprises Europe B.V.

Graafschap Hornelaan 137A, 6001 AC Weert, The Netherlands



Veterinary Enterprises
EUROPE

MastDecide – voor evidence-based besluitvorming omtrent behandeling van mastitis

Doel

Deze sneltest maakt het mogelijk de steriliteit van kwartiermelkmonsters te testen die zijn genomen van melkkoeien met klinische mastitis. Deze test is niet bedoeld als vervanging van cytomicrobiologisch laboratoriumonderzoek.

Inhoud

Kant-en-klare test met vloeibare testweekmedia (agar) in testbuizen (medium 1: witte dop, medium 2: gele dop), micropipetten voor eenmalig gebruik, een autoclaveerbare afvalzak, steriele melkbemonsteringsbuizen (voor kwartiermelkmonsters) en uier-/speenreinigingsdoekjes.

Overige benodigde materialen (niet meegeleverd)



Papieren wegwerphanddoekjes en desinfectiemiddel (ethanol 70%) voor speenreiniging en -desinfectie, desinfectiemiddel om het werkoppervlak te reinigen, wegwerphandschoenen, reageerbuisrek, incubator ($37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Waarschuwing

Dit product bevat irriterende stoffen in sterk verdunde concentratie. Vermijd direct contact met de huid. Draag handschoenen bij gebruik van dit product. Bij contact met de ogen het getroffen oog voorzichtig enkele minuten spoelen met kraanwater, lenzen verwijderen indien deze worden gedragen en opnieuw spoelen. Ga indien nodig naar een opticien/oogarts.

Gebruikte testmediabuizen mogen niet opnieuw worden geopend en moeten op de juiste wijze worden afgevoerd (onschadelijk worden gemaakt alvorens bij het normale afval te worden weggegooid) om milieuvervuiling door de microbacteriën in de testmedia te voorkomen.

Niet voor menselijk gebruik. Buiten het bereik van kinderen houden.

Instructies

Winnen van melkmonsters

De melkmonsters moeten zo steriel mogelijk worden verkregen om valspositieve of onnauwkeurige resultaten te voorkomen. We bevelen de volgende procedure aan:

- Gebruik wegwerphandschoenen bij het nemen van de monsters.
- Reinig de uier en spenen op een zo droog mogelijke manier om zichtbaar vuil te verwijderen.
- Melk bij elke speen de eerste drie stralen melk weg.
- Desinfecteer de speen, vooral rond de speentop en de speenkanaalopening, met een wegwerpdoekje en een geschikt desinfectiemiddel.
- Laat de spenen drogen voordat u overgaat tot de bemonstering van de melk.
- Houd het melkbemonsteringsbuisje zo horizontaal mogelijk om het melkmonster te vergaren. Het buisje moet onder de speen worden geopend en gesloten. Contact van de handen of de speen met de binnenkant van de dop of het monsterbuisje moet worden vermeden.

Uitvoeren van de test

Let op!

Draag schone wegwerphandschoenen tijdens het uitvoeren van de test. Een schone omgeving en doeltreffende desinfectie van het werkblad voor en na gebruik van de testmaterialen worden ook aanbevolen. De werkplek moet gescheiden zijn van ruimten waar menselijke voeding wordt opgeslagen of geconsumeerd.

Voorbereiding

Schakel de incubator in. De werkt temperatuur is $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1. Gebruik voor elk monster twee testbuizen (testmedium 1: witte dop, testmedium 2: gele dop), zie stap 3 t/m 7.



2. Zwenk voorzichtig met het onder aseptische omstandigheden gewonnen kwartiermelkmonster om te mengen.



3. Neem onder aseptische omstandigheden 0,1 ml van het goed gemengde melkmonster uit het buisje. Gebruik een wegwerppipet. De pipet moet volledig met melk zijn gevuld.



4. Open voorzichtig het eerste buisje met testmedium (testmedium 1: witte dop). Raak de binnenkant niet aan. Alleen de buitenkant van het buisje en de dop mogen worden aangeraakt.

5. Laat 0,1 ml van het melkmonster in het testmedium druppelen (witte dop). Raak de binnenkant van het buisje niet aan met het uiteinde van de pipet.



6. Sluit de dop van het testmedium zorgvuldig en meng voorzichtig door met het buisje te zwenken. Leg de pipet niet neer vanwege het risico op contaminatie. Het testmedium mag niet opnieuw worden geopend. Incubeer bij 37 °C.



7. Herhaal stap 3 t/m 6 met testmedium 2 (gele dop).

8. Markeer indien nodig de buisjes.



Analyse van de testmonsters

De testmonsters worden onderzocht na een incubatieperiode van 12 tot 14 uur. Beoordeel de kleur van beide testmedia. Gebruik onderstaande tabel om de steriliteit van de geteste monsters te beoordelen:

Testmedium 1 – witte dop (algemene bacteriële groei)	Testmedium 2 – gele dop (Grampositieve bacteriën)	Testresultaat
wit	roze	Gramnegatief/coliform ^a
wit	wit	Grampositief ^b
roze	roze	Geen bacteriën gedetecteerd

^a *E. coli*, *Klebsiella* spp., (andere) coliforme tellingen (*Citrobacter*, *Enterobacter*),

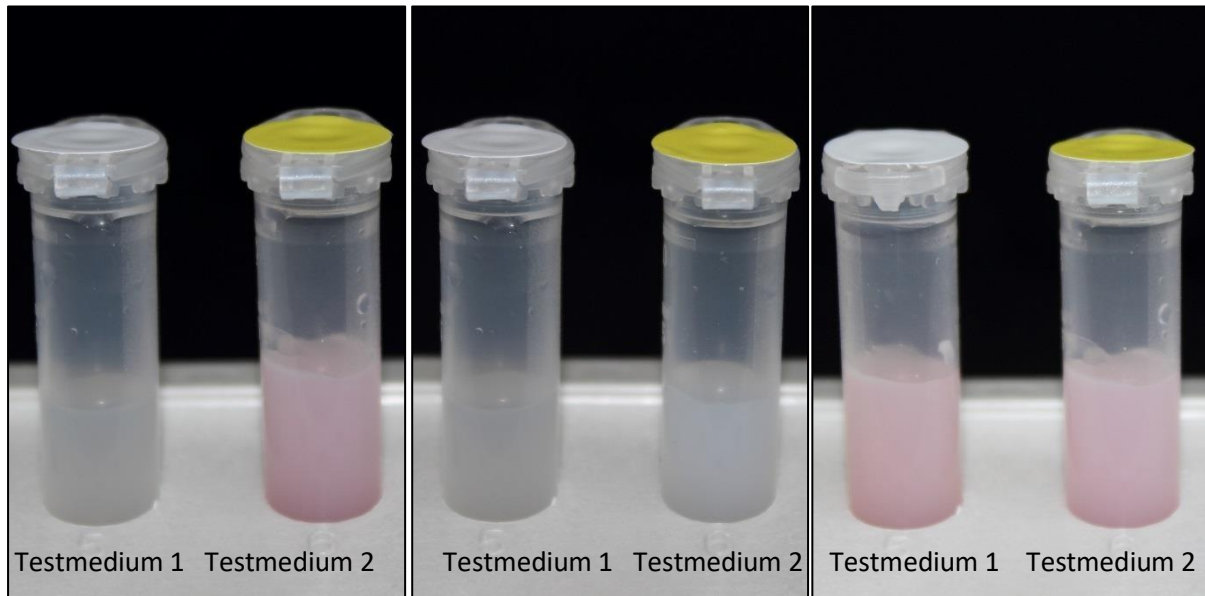
^b *S. aureus*, CNS, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, enterococci, *Lactococcus lactis lactis*

Geen vermeerdering van: corynebacteriën, *Pseudomonas*, *Trueperella pyogenes*, gisten, mycoplasma

Gramnegatief/ Coliform

Grampositief

Geen bacteriën



Beoordeling

Het testmedium verkleurt alleen van roze naar wit als er micro-organismen in groeien. Het kan gebeuren dat niet al het testmedium verkleurt. Ook als slechts een deel ervan kleurt, is er sprake van vermeerdering van micro-organismen en wordt het resultaat als positief beschouwd. Als beide testmedia roze blijven, is er geen bacteriegroei gedetecteerd. Als beide testmedia verkleuren van roze naar wit, zijn er grampositieve micro-organismen aanwezig. Als alleen testmedium 1 (met de witte dop) verkleurt, zijn er waarschijnlijk gramnegatieve bacteriën aanwezig. In dit geval raden we aan om de incubatie met twee uur te verlengen en vervolgens opnieuw te beoordelen. Als testmedium 2 roze blijft, zijn er gramnegatieve bacteriën aanwezig. Als dit testmedium wit wordt, zijn er grampositieve bacteriën aanwezig.

Opslag en houdbaarheid

De verse testmedia zijn transparant met een opvallende roze kleur. Als de verse, niet-gebruikte media een andere kleur hebben gekregen of troebel zijn geworden, mogen ze niet meer worden gebruikt en moeten ze worden afgedankt.

De testmedia moeten op een donkere en koele plaats worden bewaard (bij voorkeur tussen 4 en 8 °C). Vries de testmedia niet in. Bij juiste opslag zijn de testmedia tot negen maanden houdbaar. Na de vervaldatum mogen de testmaterialen niet meer worden gebruikt. De testmedia zijn bedoeld voor eenmalig gebruik. Houd gebruikte testmedia buiten het bereik van kinderen.

Verwijdering

Na het beoordelen van de testmonsters moeten de testmedia onschadelijk worden gemaakt en op een veilige manier worden afgedankt. Stop ze direct na gebruik in een autoclaveerbare afvalzak. Aanbevolen wordt om deze zak gedurende minimaal 15 minuten onder druk te verwarmen tot 121 °C (bijv. in een autoclaaf). Onschadelijk gemaakte testmedia mogen bij het normale huishoudelijke afval worden weggegooid. De testmedia kunnen ook worden afgevoerd door een dierenarts.

Problemen oplossen

1. De test geeft een negatief resultaat of gramnegatieve bacteriegroei terwijl in een officieel laboratorium grampositieve bacteriën zijn gevonden:

Controleer de volgende punten:

- Let op een secure hygiëne bij bemonstering: contaminatie kan leiden tot valspositieve resultaten doordat bacteriën met elkaar kunnen interfereren en vermeerdering kunnen verhinderen.
- De incubator moet vooraf worden opgewarmd tot een temperatuur van 37 °C wanneer u de testagars gaat incuberen.
- Controleer met een thermometer of de incubator op temperatuur (37 °C) blijft. Pas de temperatuur aan indien dit niet het geval is.
- Controleer bij het druppelen van melk in de testagar of er geen lucht in de pipet is gekomen. Als dit het geval is, herhaal dan de procedure omdat er mogelijk te weinig testmedium in de agar zit. Dit kan een negatief resultaat opleveren.
- Beoordeel de test pas na 12 uur. Een eerdere beoordeling kan leiden tot meer gramnegatieve en negatieve resultaten.
- Als een agar in bepaalde zones wit kleurt, wordt de test als positief beschouwd, ook als het medium niet volledig is doorgekleurd.
- Schud de testbuisjes nooit vlak vóór het beoordelen. Dit kan leiden tot meer gramnegatieve resultaten of resultaten die wijzen op geen vermeerdering.
- Als het resultaat gramnegatief is, kunt u nogmaals twee uur incuberen (in totaal 14 uur) en de resultaten opnieuw beoordelen. Noteer de resultaten onder 'opmerkingen'.

2. De test geeft een grampositief of gramnegatief resultaat, maar er zijn geen bacteriën gedetecteerd in een laboratorium. Mogelijke redenen die dit verschil verklaren:

- In laboratoriumtests wordt meestal slechts 10 µl melk beoordeeld; bij deze sneltest gaat het om 100 µl. Bijgevolg kan het voorkomen dat deze sneltest een correct grampositief of gramnegatief resultaat geeft bij monsters die in het laboratorium als negatief zijn getest.
- Mogelijk zijn de monsters gecontamineerd waardoor de uitslag van de laboratoriumtest 'geen vermeerdering' of 'niet relevante groei' is terwijl de contaminatie in deze sneltest tot een grampositief of gramnegatief resultaat kan leiden.

Verdere informatie:

De hierboven vermelde informatie is te goeder trouw en naar ons beste weten verstrekt. Niets van deze informatie kan worden geïnterpreteerd als garantie. Zoals bij alle diagnostische tests dient een definitieve klinische diagnose niet te worden gebaseerd op de resultaten van één enkele test, maar pas door de dierenarts te worden gesteld nadat alle klinische bevindingen en laboratoriumresultaten zijn beoordeeld.

Contactgegevens producent

Veterinary Enterprises Europe B.V.

Graafschap Hornelaan 137A, 6001 AC Weert, The Netherlands



Veterinary Enterprises
EUROPE

MastDecide – per un processo decisionale basato sull'evidenza in merito al trattamento della mastite

Obiettivo

Test rapido che consente di verificare la sterilità dei campioni di latte di quarto, prelevati da vacche da latte con mastite clinica. Il suddetto test non è destinato a sostituire la ricerca citomicrobiologica di laboratorio.

Contenuto

Test pronto all'uso con terreno liquido di coltura (agar) in provette (terreno 1: tappo bianco, terreno 2: tappo giallo), micropipette monouso, un sacchetto di smaltimento dei rifiuti per autoclave, provette per il prelievo del latte (per campioni di latte di quarto) e salviettine per la detersione delle mammelle/capezzoli.

Altri materiali richiesti (non forniti)



Asciugamani di carta monouso e disinfettante (etanolo 70%) per la detersione e la disinfezione delle mammelle, disinfettante per pulire il piano di lavoro, guanti monouso, rack portaprovette, incubatore ($37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Avvertenza

Il prodotto contiene sostanze irritanti in concentrazione fortemente diluita. Evitare il contatto diretto con la pelle. Indossare i guanti prima di manipolare il prodotto. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare accuratamente per alcuni minuti con acqua corrente l'occhio colpito, rimuovere le lenti a contatto, se indossate, e sciacquare ancora. Se necessario, consultare un ottico/oculista.

Le provette utilizzate per i terreni di prova non devono essere riaperte e dovranno essere smaltite correttamente (rese innocue prima di venire smaltite con i rifiuti normali), per prevenire la contaminazione ambientale da parte dei microbatteri nel mezzo di prova.

Non adatto all'uso umano. Tenere fuori della portata dei bambini.

Istruzioni

Prelievo dei campioni di latte

I campioni di latte devono essere ottenuti nel modo più sterile possibile, per evitare risultati falsi positivi o inaccurati. Raccomandiamo la seguente procedura:

- Utilizzare i guanti monouso per il prelievo dei campioni.
- Detergere la mammella e i capezzoli e asciugarli il meglio possibile, per eliminare la sporcizia più evidente.
- Eliminare i primi tre getti di latte munto da ciascun capezzolo.
- Disinfettare il capezzolo, specialmente attorno all'apice e ai dotti, con una salviettina monouso e un disinfettante appropriato.
- Lasciar asciugare i capezzoli prima di passare al prelievo dei campioni di latte.
- Mantenere la provetta per il prelievo latte il più orizzontale possibile, per raccogliere il campione. La provetta deve essere aperta e chiusa sotto il capezzolo. Evitare il contatto tra le mani o il capezzolo e l'interno del tappo della provetta con il campione.

Esecuzione del test

Attenzione!

Indossare guanti monouso puliti durante l'esecuzione del test. Sono inoltre raccomandati un ambiente pulito e un'efficace disinfezione del piano di lavoro, prima e dopo l'utilizzo dei materiali per il test. La postazione di lavoro deve essere separata dagli spazi di stoccaggio o consumo degli alimenti per l'uso umano.

Preparazione

Accendere l'incubatore. Temperatura d'esercizio: 37°C +/- 2°C.

1. Utilizzare due provette per ciascun campione (terreno 1: tappo bianco, terreno 2: tappo giallo), vedi punti 3-7.



2. Agitare delicatamente per miscelare il campione di latte di quarto, prelevato in condizioni asettiche.



3. Prendere 0,1 ml del campione di latte ben mescolato dalla provetta, in condizioni asettiche. Utilizzare una pipetta monouso. La pipetta deve venire riempita completamente di latte.

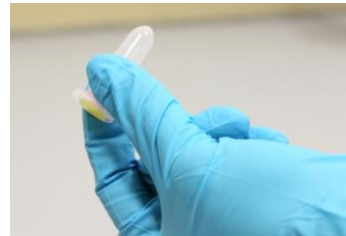


4. Aprire con attenzione la prima provetta con il terreno (terreno 1: tappo bianco). Non toccare l'interno. Soltanto l'esterno e il tappo della provetta potranno essere toccati.

5. Far gocciolare 0,1 ml del campione di latte nel terreno (tappo bianco). Non toccare l'interno della provetta con l'estremità della pipetta.



6. Chiudere attentamente il tappo del terreno e mescolare delicatamente, agitando la provetta. Non deporre la pipetta a causa del rischio di contaminazione. Il terreno non dovrà essere riaperto. Incubare a 37°C.



7. Ripetere le fasi 3-6 con il terreno 2 (tappo giallo).

8. Se necessario, contrassegnare le provette.



Analisi dei campioni del test

I campioni del test verranno esaminati dopo un periodo d'incubazione dalle 12 alle 14 ore. Valutare il colore di entrambi i terreni. Servirsi della tabella sottostante per valutare la sterilità dei campioni sottoposti a test:

Terreno 1: tappo bianco (crescita batterica generale)	Terreno 2: tappo giallo (batteri Gram-positivi)	Risultati test
bianco	rosa	Gram-negativo/coliforme ^a
bianco	bianco	Gram-positivo ^b
rosa	rosa	Nessun batterio rilevato

^a *E. coli*, *Klebsiella* spp., (altri) conteggi di coliformi (*Citrobacter*, *Enterobacter*),

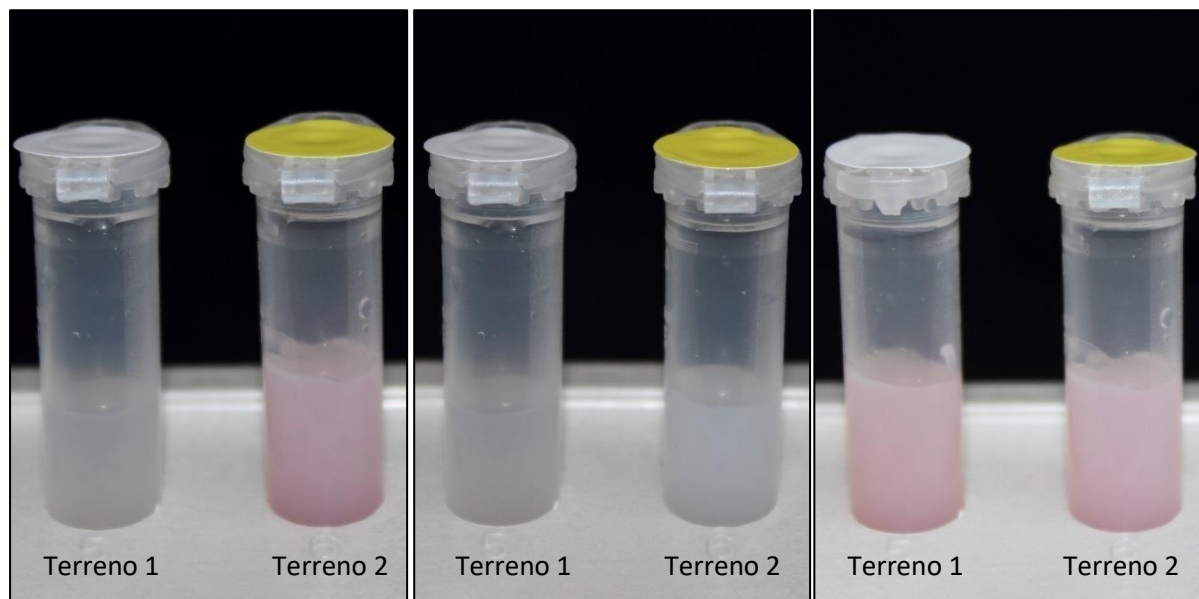
^b *S. aureus*, CNS, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, enterococchi, *Lactococcus lactis*

Nessun aumento di: corinebatteri, *Pseudomonas*, *Trueperella pyogenes*, lieviti, micoplasma

Gram-negativo/Coliforme

Gram-positivo

Nessun batterio



Valutazione

Il terreno scolorisce da rosa a bianco soltanto se vi crescono dei microrganismi. Può accadere che non tutti i terreni scoloriscano. Anche se solo una parte risulta colorata, significa che c'è un aumento dei microrganismi e il risultato è considerato positivo. Se entrambi i terreni dei test rimangono rosa, non è stata rilevata alcuna crescita batterica. Se entrambi i terreni dei test scoloriscono da rosa a bianco, sono presenti microrganismi gram-positivi. Se soltanto il terreno 1 (con tappo bianco) scolorisce, sono probabilmente presenti batteri gram-negativi. In questo caso, consigliamo di prolungare l'incubazione di due ore e quindi di ripetere la valutazione. Se il terreno 2 rimane rosa, sono presenti batteri gram-negativi. Se questo terreno diventa bianco, sono presenti batteri gram-positivi.

Stoccaggio e conservazione

I terreni freschi sono trasparenti e dal colore visibilmente rosa. Se i terreni freschi e non usati risultano di colore diverso o torbidi, non potranno più essere utilizzati e dovranno venire smaltiti.

I terreni devono essere conservati in luogo fresco al buio (preferibilmente tra i 4 e gli 8°C). Non congelare i terreni. I terreni stoccati correttamente si conservano fino a nove mesi. Dopo la data di scadenza, i materiali per il test non dovranno più venir utilizzati. I terreni per il test sono destinati a un uso singolo. Tenere i terreni usati fuori della portata dei bambini.

Eliminazione

Dopo la valutazione dei campioni per il test, i terreni dovranno essere resi innocui e smaltiti in sicurezza. Subito dopo l'uso, inserirli nel sacchetto di smaltimento dei rifiuti per autoclave. Si raccomanda di scaldare il sacchetto sotto pressione fino a 121°C, per un minimo di 15 minuti (per es. in un'autoclave). I terreni resi innocui potranno essere smaltiti con i normali rifiuti domestici. I terreni per i test possono anche venire eliminati da un veterinario.

Soluzione dei problemi

1. Il test dà un risultato negativo o di crescita di batteri gram-negativi, mentre in un laboratorio ufficiale sono stati trovati batteri gram-positivi:

Controllare i seguenti punti:

- Prestare attenzione all'igiene durante il campionamento: la contaminazione può causare risultati falsi positivi, in quanto i batteri possono interferire tra loro e inibire l'aumento.
- L'incubatore deve essere riscaldato fino alla temperatura di 37°C, prima di incubarvi gli agar per il test.
- Controllare con un termometro che l'incubatore resti a temperatura (37°C). Regolare la temperatura qualora non sia così.
- Durante il gocciolamento del latte nell'agar per il test, controllare che non sia entrata aria nella pipetta. In questo caso, ripetere la procedura, poiché è possibile che vi sia troppo poco terreno nell'agar. Ciò può causare un risultato negativo.
- Valutare il test soltanto dopo 12 ore. Una valutazione prematura può portare a più risultati gram-negativi e negativi.
- Se l'agar si colora di bianco in alcune zone, il test è considerato positivo, anche se il terreno non risulta completamente colorato.
- Non agitare mai le provette per il test poco prima della valutazione. Ciò può portare a più risultati gram-negativi o a risultati che non indicano alcun aumento.
- Se il risultato è gram-negativo, si può lasciar incubare per altre due ore (14 ore in totale) e valutare nuovamente i risultati. Riportare i risultati sotto "annotazioni".

2. Il test dà un risultato gram-positivo o gram-negativo, ma in laboratorio non sono stati rilevati batteri. Vi sono diversi motivi che spiegano questa differenza:

- Nei test di laboratorio vengono valutati per lo più 10 µl di latte: in questo test rapido, invece, 100 µl. Di conseguenza, può accadere che il test rapido dia un risultato corretto gram-positivo o gram-negativo, per campioni che in laboratorio sono stati testati come negativi.
- I campioni possono essere stati contaminati, per cui il risultato del test di laboratorio è "nessun aumento" o "crescita non rilevante", mentre la contaminazione nel test rapido può portare a un risultato gram-positivo o gram-negativo.

Informazioni supplementari:

Le informazioni qui contenute sono fornite in buona fede e al meglio delle nostre conoscenze. Nessuna delle suddette informazioni può essere interpretata come garanzia. Come nel caso di tutti i test diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non dovrà fondarsi sui risultati di un singolo test, ma dovrà essere effettuata esclusivamente dal veterinario, al termine della valutazione dei risultati clinici e di laboratorio.

Dati di contatto del produttore

Veterinary Enterprises Europe B.V.

Graafschap Hornelaan 137A, 6001 AC Weert, The Netherlands



Veterinary Enterprises
EUROPE