



**Le mastiti negli animali da reddito**

# **MICROORGANISMI MASTIDOGENI: ISOLAMENTO E IDENTIFICAZIONE**

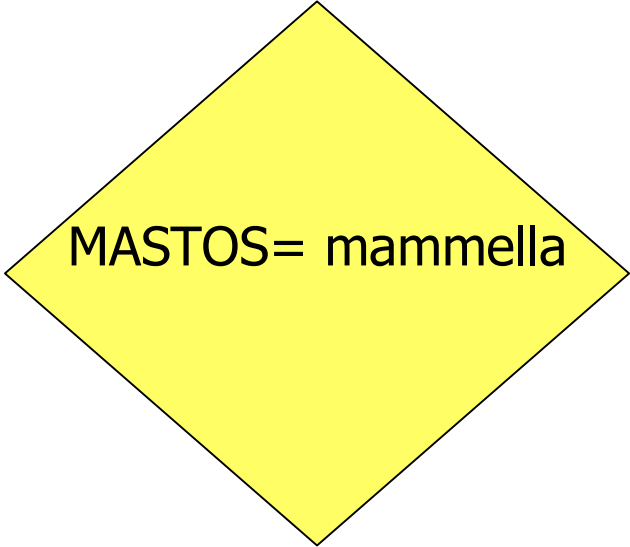
**Andreana Tammaro**

**Roma, 5 Ottobre 2011**



# MASTITE: DEFINIZIONE

---



MASTOS= mammella



-ITIS= infiammazione

**La mastite** è una infiammazione della ghiandola mammaria/mammella ed è solitamente causata da un agente batterico, traumi, alimentazione, mungitura, ambiente ecc..

- **CLINICA**
  - **SUBCLINICA**
- 



# TIPOLOGIA CAMPIONI

**SPECIE**

*BOVINA*  
*BUFALINA*  
*OVINA*  
*CAPRINA*  
*EQUIDI*

**TIPOLOGIA**

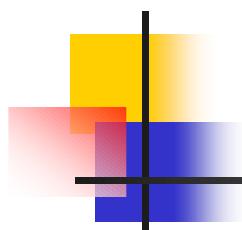
*QUARTO*  
*(bovino, bufalino)*  
*EMIMAMMELLA*  
*(pecora, capra, equidi)*  
*INDIVIDUALE*  
*MASSA*



## **Esame batteriologico su campioni di capezzolo e individuali**

### **Prelievo**

1. Pulire e disinfettare energicamente l'estremità dei capezzoli con salviette disinfettanti
  2. eliminare i primi getti di latte
  3. per i prelievi di capezzolo prelevare circa 10 ml di latte dai singoli quarti/emimammella e raccogliarli in provette di quarto
  4. per il prelievo individuale, raccogliere in una sola provetta di massa circa 10 ml di latte rappresentativi di ogni capezzolo.
- N.B. Evitare il contatto del capezzolo con la provetta, il contatto della mano con lo sfintere e inclinare la provetta di 45°C



# Esame batteriologico su campioni di capezzolo

## Prelievo

- le provette sono posizionate nelle scatole alveolate con il seguente ordine:

### **Bovino-bufalino**

- 1) anteriore sinistro (Asx)
- 2) posteriore sinistro (Psx)
- 3) anteriore destro (Adx)
- 4) posteriore destro (Pdx)

### **Ovino-caprino-equidi**

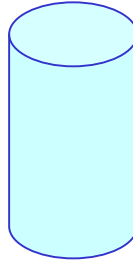
- 1) sinistro
- 2) destro

***N.B.*** *I campioni devono essere immediatamente refrigerati e seminati entro 24 – 48 ore dal prelievo.  
Oltre questo periodo, i campioni devono essere congelati e conservati per un breve periodo.*

# Isolamento primario

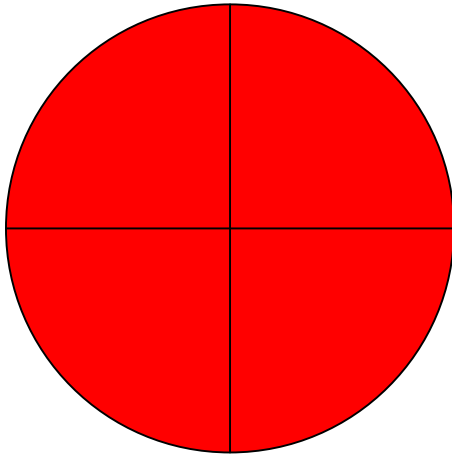
Agitare il campione

10 $\mu$ l



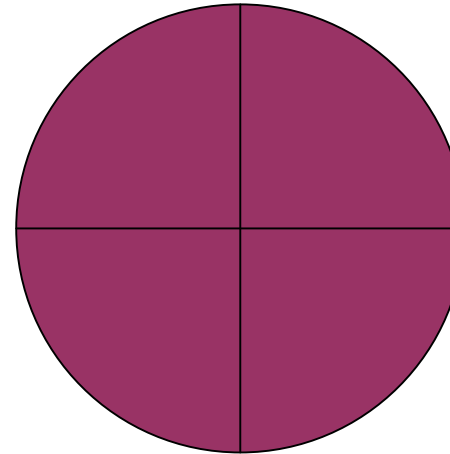
e seminare

10 $\mu$ l



***Agar Sangue (AS)***

***Terreno di accrescimento con  
evidenziazione dell'emolisi***



***Edwards medium modificate (EMM)***

***Terreno selettivo e differenziale***

***Incubare in termostato a 37°C***

***Osservare l'eventuale crescita a 24 e 48 ore***

# Microrganismi più frequentemente isolati

## Gram negativi

AMBIENTALI

E.coli,  
Klebsiella spp,  
Serratia spp,  
Enterobacter spp,  
Proteus spp,  
Pseudomonas spp,  
Pasteurella

Str.uberis  
Str.canis

## Gram positivi

St.coagulasi positivi  
(S.intermedius, S.hyicus)  
Corynebacterium bovis  
Streptococchi spp  
Staf.coagulasi negativi  
Bacilli spp, Str.dysgalactiae  
Arcanobacterium pyogenes

CONTAGIOSI

St.aureus  
Str.agalactiae  
Mycoplasma bovis e  
M.agalactiae

ALGHE

Prototheca zopfii, Prototheca wickerhamii

MICETI

Cryptococcus neoformans, Candida spp.





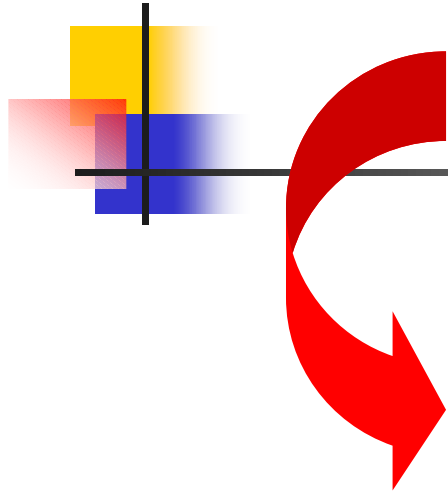
Campione alterato



Campione alterato



# Perché un campione alterato può risultare negativo



Presenza di

- elevati contenuti cellulari
- elevati contenuti umorali
- residui antibiotici

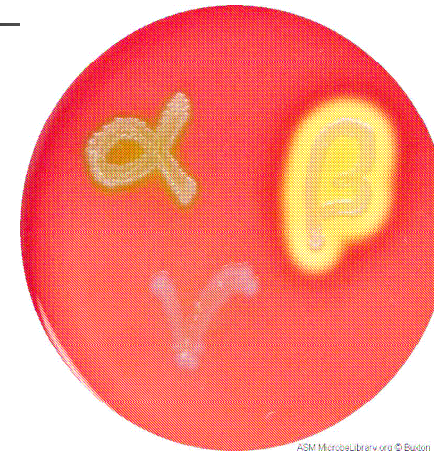


# lettura

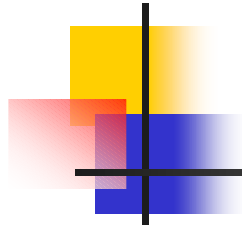
## Caratteristiche delle colonie:

- grandezza
- forma
- margine
- consistenza
- pigmentazione
- odore
- emolisi

EMOLISI DA STREPTOCOCCO



ASM Microbiology © Bolton



# lettura

---

- Quando da un campione di latte di quarto si osserva la crescita di oltre **tre differenti tipi di colonie**, il campione si deve considerare **CONTAMINATO**.
  
- Si possono individuare due livelli di contaminazione:
  - Basso livello di contaminazione: quando insieme ad una coltura pura di un patogeno sono presenti sullo striscio, poche colonie di diverso tipo.
  - Alto livello di contaminazione: quando la crescita di tre o più colonie diverse è presente sullo striscio con sviluppo massivo.



## **Principali fonti di contaminazione**

---

- Estremità del capezzolo non accuratamente disinfettato,
- mani che vengono a contatto con il latte, dita che toccano la parte interna della provetta, provette non sterili,
- campionamento dei primi getti di latte ect.



## ESPRESSIONE DEI RISULTATI

---

- nel caso di bassa contaminazione in **assenza** di microrganismi mastidogeni:
  - ESAME BATTERIOLOGICO NEGATIVO
- nel caso di alta contaminazione che impedisce la corretta interpretazione dell'esame batteriologico:
  - CAMPIONE CONTAMINATO SI CONSIGLIA DI RIPETERE IL PRELIEVO



***...COMUNQUE***

---

***LA LETTURA DELLE PIASTRE PER LA  
DIAGNOSI DI MASTITE DEVE ESSERE  
EFFETTUATA DA UN OPERATORE ESPERTO  
IN GRADO DI SCEGLIERE LE COLONIE  
SOSPETTE DI AGENTI MASTIDOGENI.***

***SI PROCEDE POI ALLA IDENTIFICAZIONE SEGUENDO LE  
PROCEDURE IDONEE PER I VARI MICRORGANISMI IN BASE  
ANCHE ALLE LORO CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE E  
AFFINITA' TINTORIALI***





# Terreni di coltura

---

- Di accrescimento
- Selettivi
- Differenziali
- Elettivi
- Selettivi/Differenziali



# COLORAZIONE DI GRAM

---

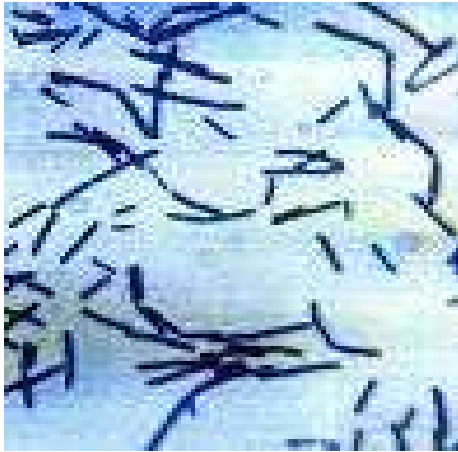
## **BATTERI GRAM POSITIVI**

- STAFILOCOCCI**
- STREPTOCOCCI**
- CORYNEFORMI**

## **BATTERI GRAM NEGATIVI**

- PASTEURELLE**
- ENTEROBATTERI**
- PSEUDOMONAS**

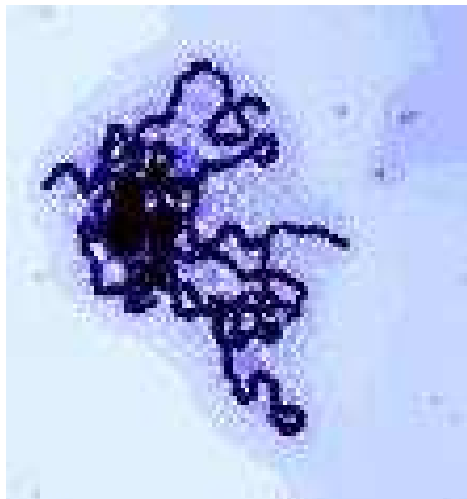
# Esempi di preparati con colorazione di GRAM



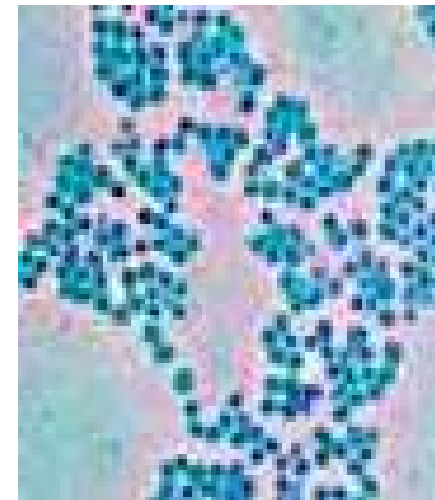
**Forma:** cocci,  
bacilli, filamenti,  
spirali

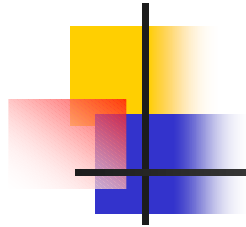


**Disposizione:**  
singoli, appaiati, a  
grappolo, a catena



**Dimensioni :**  
minuti, piccoli,  
grandi, medi





# Gram +

---



Catalasi positivi :

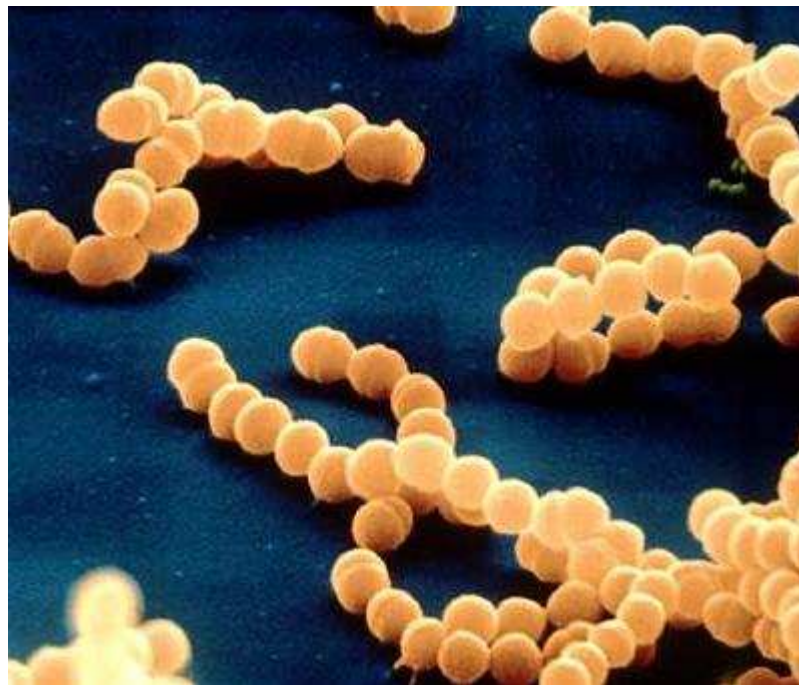
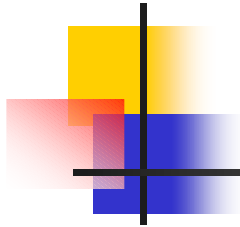
STAFILOCOCCHI  
o MICROCOCCHI

Catalasi negativi:

STREPTOCOCCHI  
O ENTEROCOCCHI

# IDENTIFICAZIONE STREPTOCOCCOCHI

---



## Streptococchi e Enterococchi più frequentemente isolati e morfologia delle colonie su AS e EMM

<b>specie</b>	<b>AS</b>	<b>EMM</b>
<b>S.agalactiae</b>	<b>piccole, traslucide, convesse, <math>\pm</math> <math>\beta</math>-emolitiche</b>	<b>violacee, traslucide, <math>\pm</math> <math>\beta</math>-emolitiche</b>
<b>S.dysgalactiae</b>	<b>medie, lucide bianco-grigie, emolisi viridante sotto la colonia, più evidente in crescita massiva</b>	<b>Puntiformi, <math>\alpha</math>-emolitiche, a volte con doppio alone viridante</b>
<b>S.uberis</b>	<b>medie, grigie, non emolitiche, a volte mucose</b>	<b>Medie, celesti, ampio alone scuro, a volte mucose</b>
<b>E.faecium</b>	Medie, biancastre, $\pm$ $\alpha$ -emolitiche,	Medie, grigie con medio alone scuro, confondibili con S. uberis
<b>E.faecalis</b>	medie, grigie, non emolitiche,	Medie, celesti, ampio alone scuro, confondibili con S. uberis
<b>S.canis</b>	Piccole, bianche, $\beta$ -emolitiche	Puntiformi, viridanti
<b>S.mutans</b>	Medie, lucide bianco-grigie	grigie o violette, confondibili con S. uberis
<b>S.bovis</b>	Medie, lucide bianco-grigie	celesti con o senza centro nero confondibili con S. uberis
<b>A.viridans</b>	Piccole, $\alpha$ -emolitiche (viridanti), bianche o grigie	Piccole, viridanti, confondibili con S. dysgalactiae
<b>S.mitis</b>	Piccole, viridanti, grigiastre	Puntiformi, celesti, viridanti, confondibili con S. dysgalactiae
<b>S.equisimilis</b>	Puntiformi, $\alpha$ -emolitiche (viridanti), biancastre	Puntiformi, a volte con doppio alone viridante confondibili con S. dysgalactiae
<b>S.zooepidemicus</b>	Piccole, bianche, $\beta$ -emolitiche	Puntiformi biancastre emolitiche

## PROCEDURA DI ISOLAMENTO E IDENTIFICAZIONE

Colonia sospetta

**AS e/oBS**

24 h 37 °C

**Zuccheri:**

man, sor, lat, tre, inu, ATE,  
ABE

24 h 37 °C → Lettura

**A. sangue da BS/oAS** per  
identificazione e/o CAMP test  
in caso di sospetto  
S.agalactiae o S.uberis.

24 h 37 °C → Lettura

Eventuale tipizzazione con  
**API Strep** ed ABG.

24 h 37 °C → Lettura

Tempi di identificazione: 96 h

ATE

Agar triptosio  
esculina(S.uberis: +)

ABE

Agar bile esculina  
(inibisce S. uberis: -)

Procedura rapida per  
sospetto di  
S.agalactiae

**CAMP test\***,

**ATE, A.sangue**

24 h 37 °C → Lettura

Se CAMP+ ATE -,  
eseguire tipizzazione  
con **API Strep** ed  
eventuale ABG.

24 h 37 °C

*\*Alcuni ceppi di  
S.uberis possono  
essere **CAMP+***

Tempi di identificazione: 48 h

# CAMP TEST





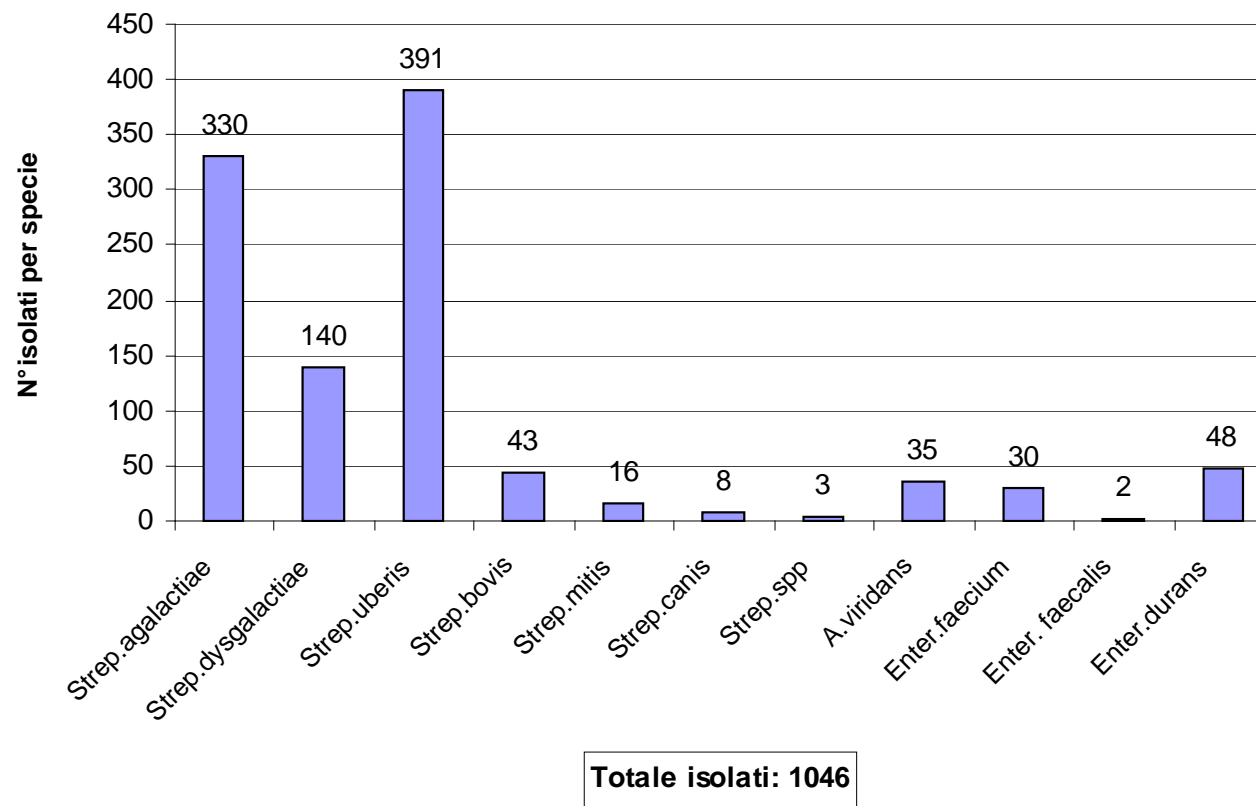
# SCHEMA DI IDENTIFICAZIONE

specie	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	ATE	ABE	$\beta$ emolisi	CAMP
S.agalactiae	-	-	+/-	+	-	-	-	+/-	+
S.dysgalactiae	-	+/-	+	+	-	-	-	-	-
S.uberis	+	+	+	+	+/-	+	-	-	+/-
E.faecium	+	+/-	+	+	+/-	+	+	-	-
E.faecalis	+	+	+	+	-	+	+	-	-
S.canis	-	-	+	-	-	+/-	-	+	-
S.mutans	+	+	+	+	+	+	+	-	-
S.bovis	+/-	-	+	+/-	+/-	+	+	-	-
A.viridans	+/-	+/-	+	+	-	+	-	-	-
S.mitis	-	-	+	-	-	-	-	-	-
S. dysg.equisimilis	-	-	-/+	+	-	-/+	-	-	-
S.zooepidemicus	-	+	+	-	-	-	-	+	-

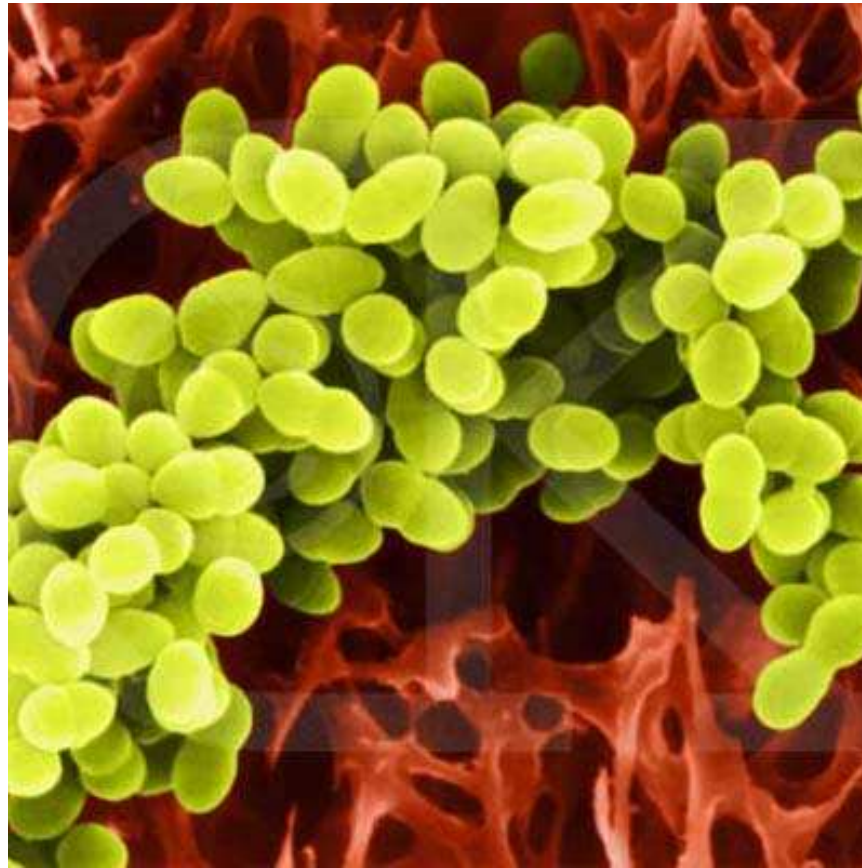
**+ , - > 75% di probabilità; +/- <75% di probabilità**



## Distribuzione delle specie appartenenti ai generi Streptococcus e Enterococcus



# IDENTIFICAZIONE STAFILOCOCCI





# ISOLAMENTO STAFILOCOCCI

---

Colonie di colore bianco, crema gialle, emolitiche ( $\alpha$  e/o  $\beta$ ) o non emolitiche.

Colonie sospette: colorazione di Gram (cocchi Gram+ a grappolo), test della catalasi (positiva)

# Test della coagulasi

## **BP-RPF (\*)**

24 h a 37°C. Lettura

A.sangue e/o A.nutrient da  
colonie SCP o SCN

24h a 37 ° C → Lettura

eventuale Api Staph ed ABG.

24h a 37 ° C → Lettura

## **BHI**

24 h a 37 ° C → Lettura

Coagulasi in provetta  
4-24 h a 37 ° C → Lettura

A.sangue e/o A.nutrient da  
colonie SCP o SCN

24h a 37 ° C → Lettura

eventuale Api Staph ed ABG.

24h a 37 ° C → Lettura

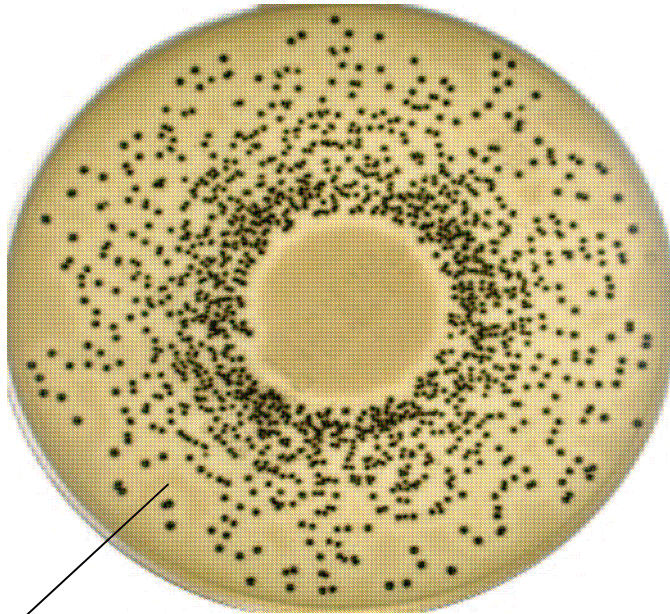
Tempi di identificazione: 72 h

Tempi di identificazione: 96 h

(\*)Una piastra di BP-RPF può essere utilizzata per testare almeno 4 colonie.

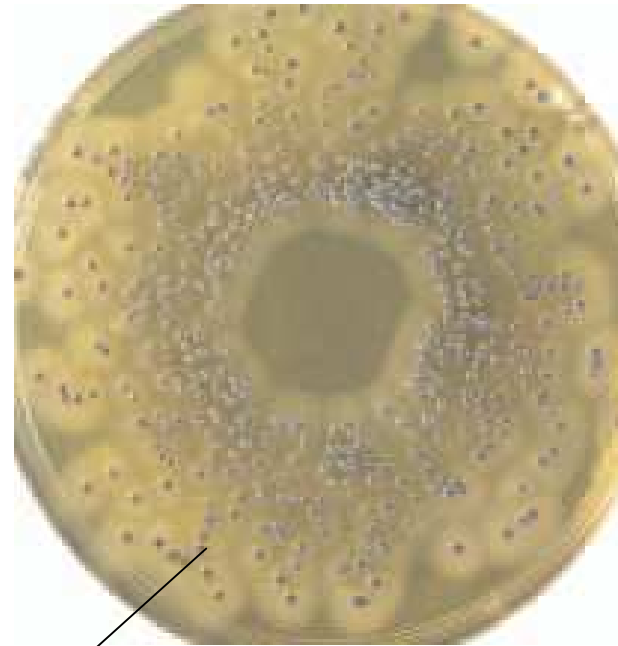


## Baird Parker agar



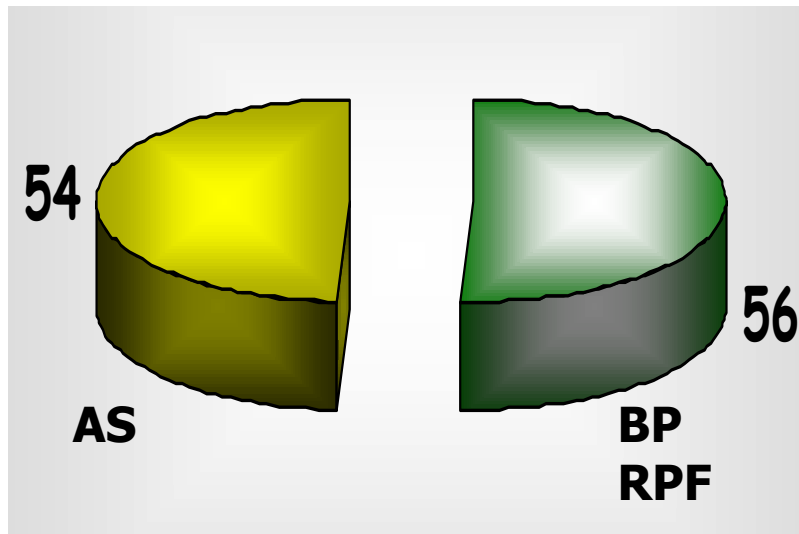
**Lecitinasi:**  
alone di chiarificazione

## Baird Parker RPF agar

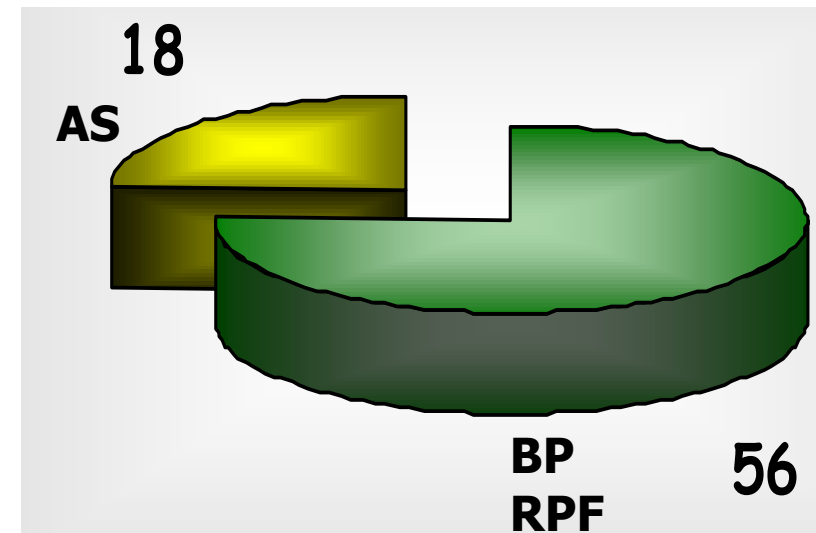


**Coagulasi:**  
alone di precipitazione

# Identificazione delle colonie SCP (AS/BP RPF)



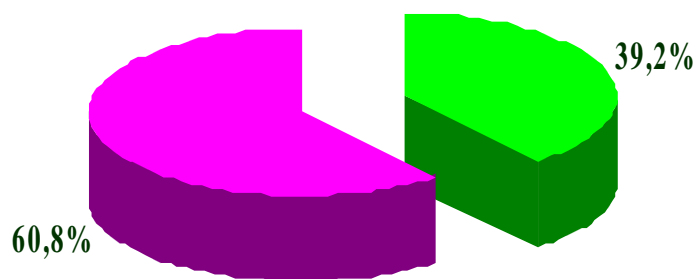
colonie sottoposte a conferma da  
AS e BPRPF



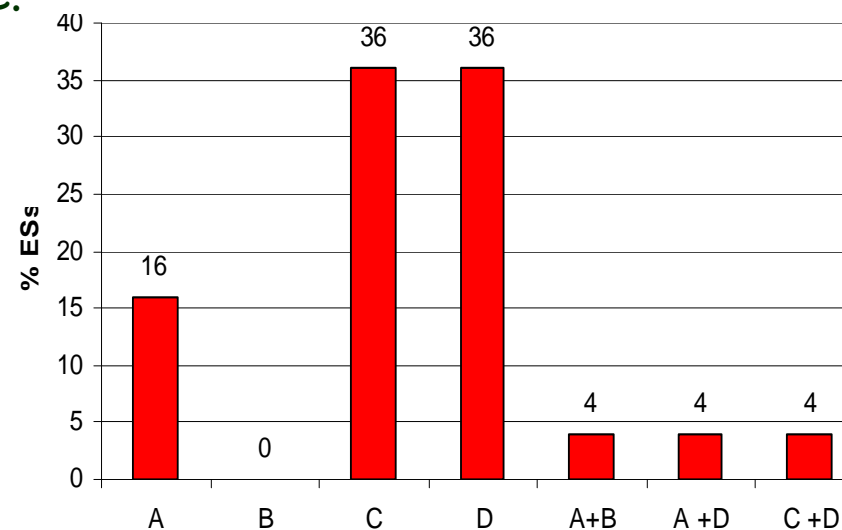
colonie confermate come SCP

# PRODUZIONE DI ENTEROTOSSINE DA *Staphylococcus aureus* ISOLATI DA LATTE DI CAPEZZOLO BOVINO

L'obiettivo del seguente studio è stato quello di valutare, nel Lazio, la prevalenza di stafilococchi enterotossici, tra gli *S.aureus* isolati da latte di bovine con mastite.



La prevalenza di stipiti enterotossici negli allevamenti controllati è stata del 39,2%



Distribuzione di Es (A,B,C,D) prodotte da *S.aureus*



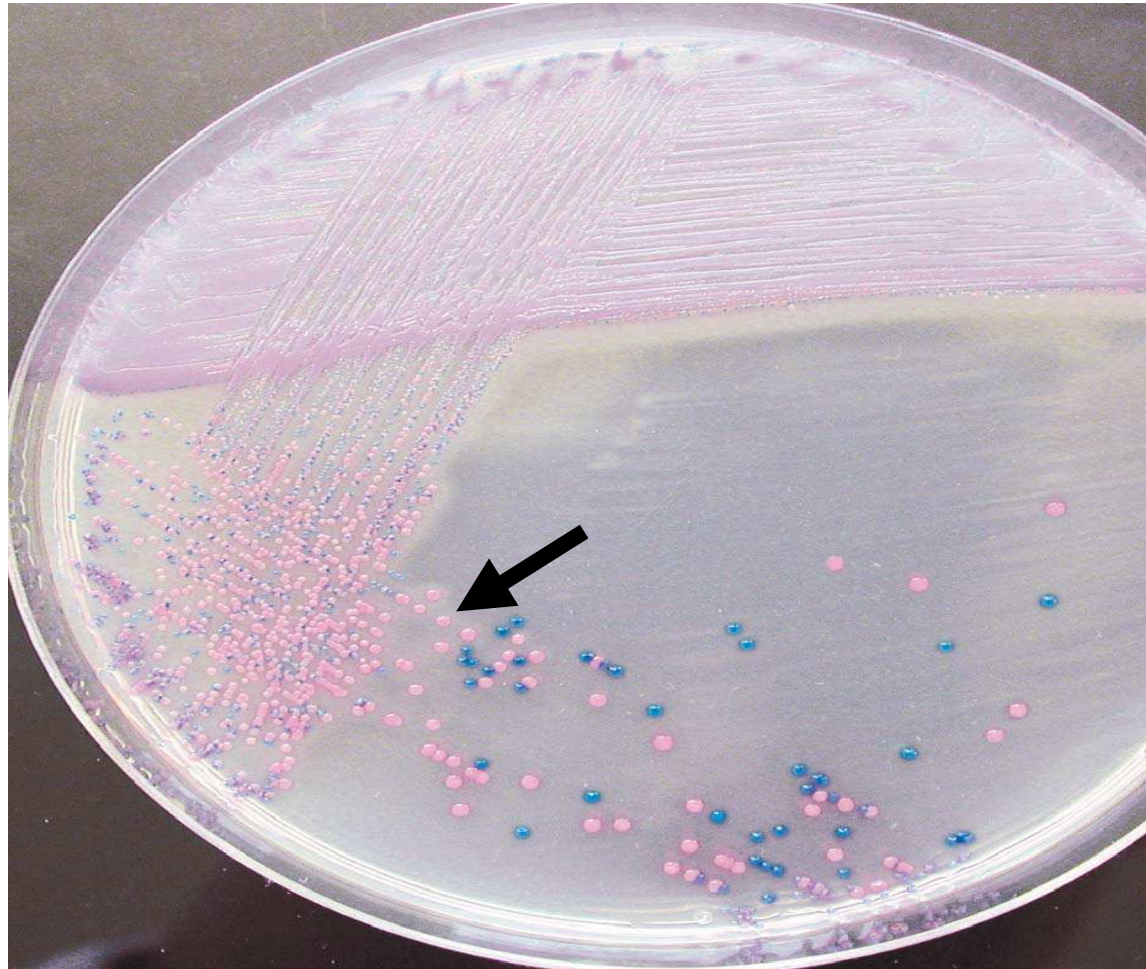


# Ricerca di MRSA

---

- 1cc di campione in esame seminato in MH 6,5% NaCl (37 °C per 24 ore)
- Semina della brodocoltura con ansa monouso sterile in CHROMagar MRSA (37°C con lettura a 24 – 48 ore)
- Le colonie tipiche (colore malva con alone malva) vengono sottoposte a:
  1. test della coagulasi
  2. valutazione dell'emolisi
  3. verifica fenotipica della meticillino-resistenza mediante test di diffusione in agar, secondo le standard CLSI
  4. conferma della presenza del gene *mecA* mediante PCR.

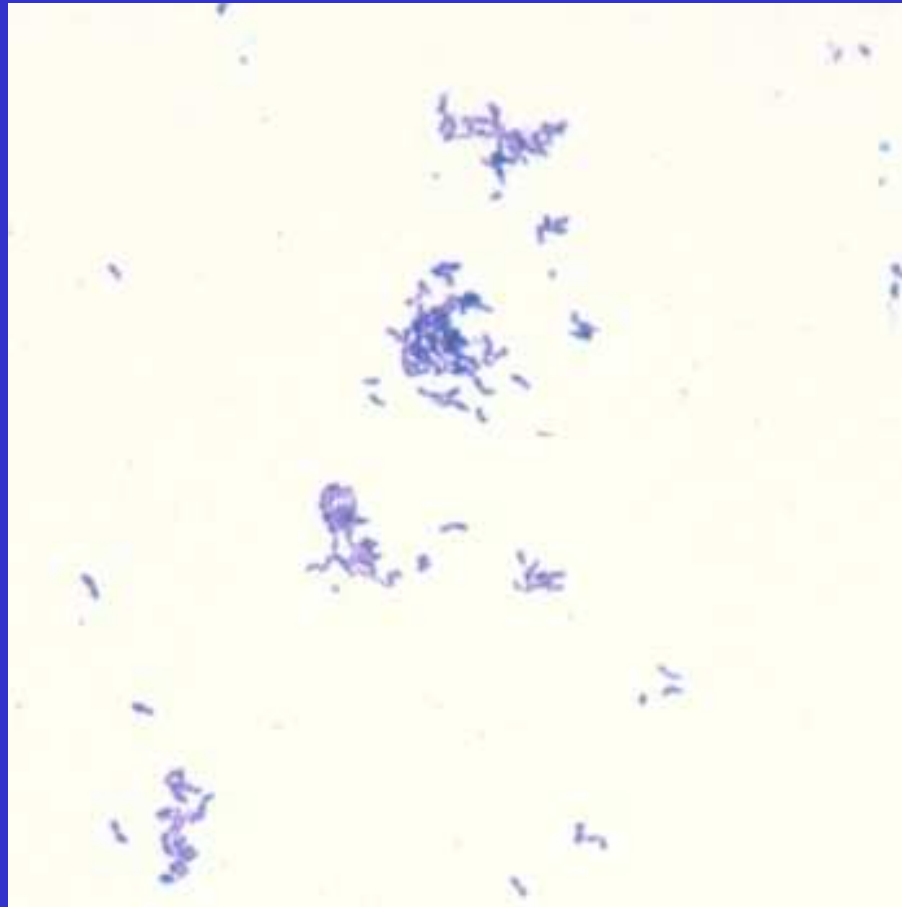
# CHROMagar MRSA





# Corinebatteri

---



# IDENTIFICAZIONE CORINEBATTERI

## Aspetto colonie su Agar sangue:

Puntiformi, lucide, biancastre con margini netti con o senza emolisi. **Non crescono su EMM.**

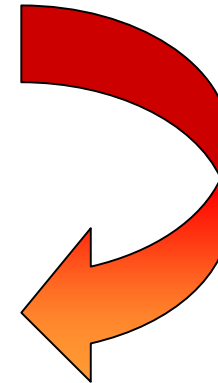
- **Colorazione di Gram:**  
bastoncelli corti Gram + disposti a scrittura cinese.
- **Catalasi:** +/-

## -Isolamento su A.sangue

24 h/48 h a 37 °C

## -Identificazione di specie con API Coryne

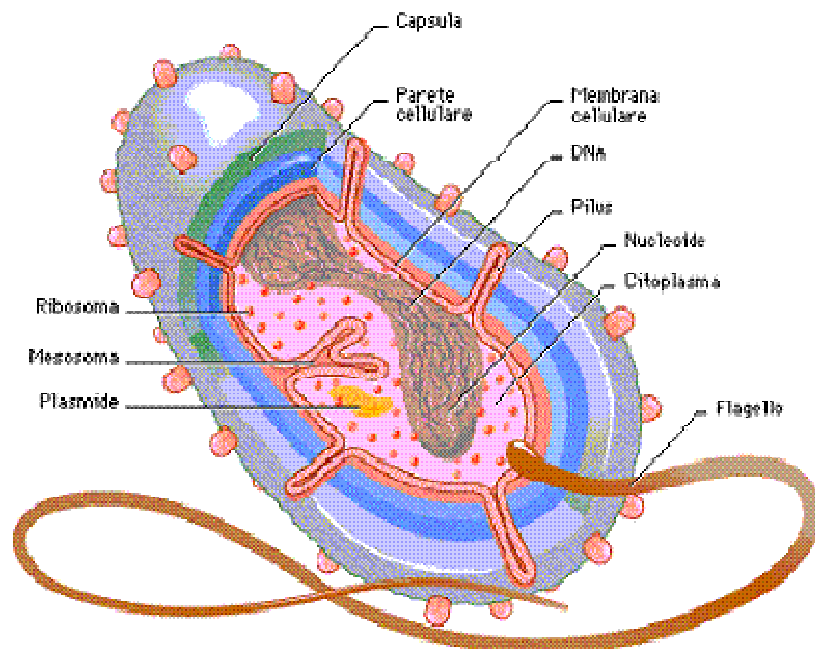
24-48 h a 37 °C



**Corynebacterium bovis:** colonia non emolitica catalasi positiva

**Arcanobacterium pyogenes:** colonia emolitica catalasi negativa

# Gram negativi





# Identificazione Gram -

**TSI**

**Triple sugar iron agar**

{ Ferro citrato  
Rosso fenolo  
Lattosio Saccarosio Destrosio



## TERRENI DIFFERENZIALI

- terreni di coltura che permettono la valutazione di una o più caratteristiche fisiologiche/biochimiche dei microrganismi per la loro identificazione.

Sono utilizzati anche come terreni di isolamento.



**TSI AGAR (TRIPLE  
SUGAR IRON AGAR)**

<b>Specie batterica</b>	<b>A.sangue</b>	<b>ossidasi</b>	<b>TSI (*)</b>
<b>E.coli</b>	Medie, grigie, lucide, odore fecale. Con o senza emolisi	-	A/A, G
<b>Klebsiella spp</b>	Medie, grigie, lucide mucose. No emolisi	-	A/A, G
<b>Enterobacter spp</b>	Medie, grigie, lucide, odore fecale. No emolisi	-	A/A, G
<b>Serratia spp</b>	Medio-piccole, rosso-arancio	-	K/A
<b>Pseudomonas spp</b>	Medie, grigio-verde metalliche, margini irregolari. Odore fruttato	+	K/K
<b>Proteus vulgaris</b>	Grigie, lucide, sciamanti. Odore putrido	-	A/A, S
<b>Proteus mirabilis</b>	Grigie, lucide, sciamanti. Odore putrido	-	K/A, S
<b>Pasteurella spp</b>	Medio-piccole, lucide mucose irregolari. Con o senza emolisi	+ debole	A/A (V)

**(\*) SLANT/FONDO A=acido; K=alcalino; G= gas; S= H2S; V=variabile**



# IDENTIFICAZIONE DI GENERE /SPECIE

Dal TSI semina per isolamento su A.sangue e/o A. nutrient  
per identificazione ed eventuale ABG.

ossidasi



```
graph TD; A[ossidasi] --> B[Negativa:  
API 20E]; A --> C[Positiva:  
API 20NE];
```

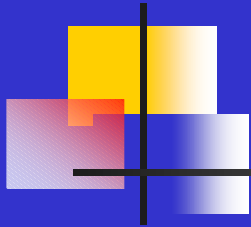
Negativa:  
API 20E

Positiva:  
API 20NE

Tempi di identificazione: 72-96 h



# GRAM - : IMMAGINI



**Proteus**



**E.coli**



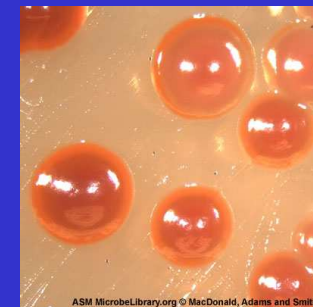
**Serratia**



**Pseudomonas**

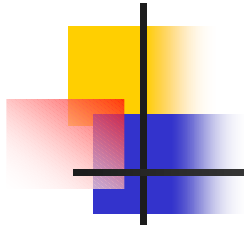


**Pseudomonas**



**Serratia**

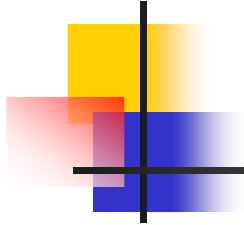
# Prototheca



## CARATTERISTICHE

- alga unicellulare
- priva di clorofilla
- immobile
- diffusa nell'ambiente preferibilmente caldo-umido dove è presente materiale organico
- uniche specie patogene: **P. wickerhamii**; **P. zopfii**
- riproduzione per via asessuata mediante la formazione di sporangiospore all'interno di uno sporangio che vengono liberate e disperse nell'ambiente

# Prototheca



## RICERCA

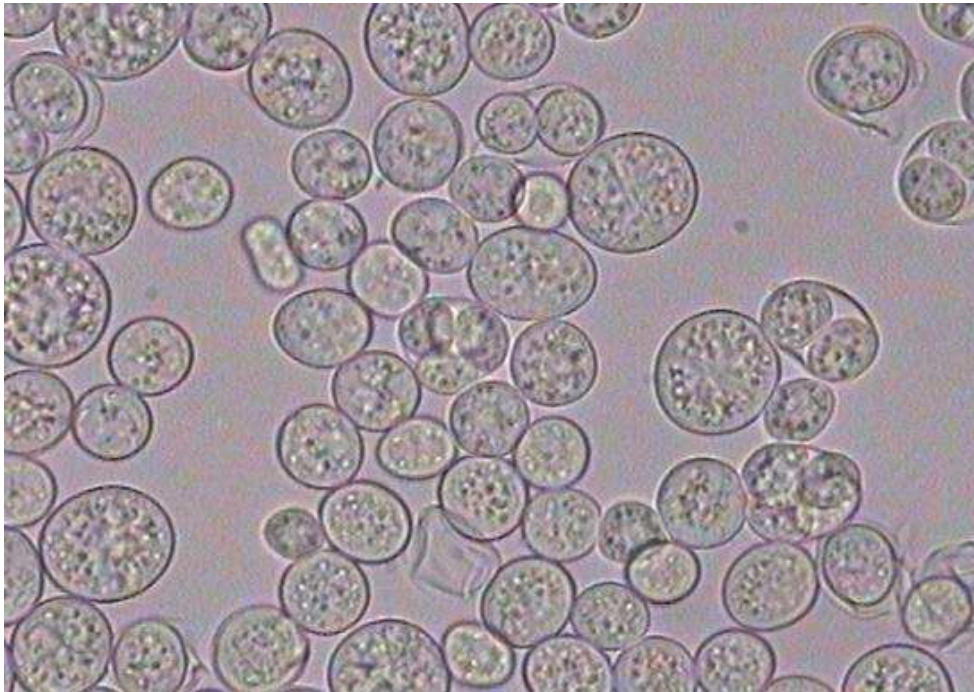
terreno selettivo agarizzato - *Prototheca isolation agar PIA*

Procedura di isolamento:

- Seminare circa 10µl del campione sul terreno selettivo.
- Incubare a 30°C in aerobiosi per 48- 72 h.

*In caso di assenza di crescita prolungare incubazione fino a una settimana.*

## DALLE COLONIE SOSPETTE SI ALLESTISCONO VETRINI A FRESCO (OSSERVAZIONE AD IMMERSIONE 100X)

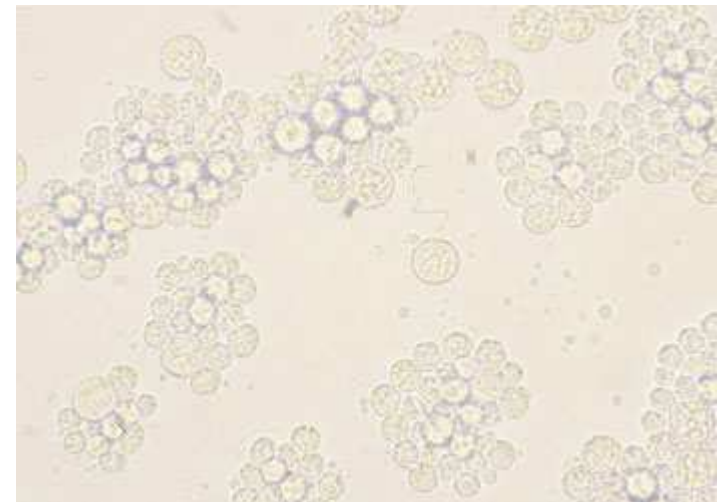


### **Prototheca zoopfi:**

cellule **ovali**, di varia taglia,  
sporangi maturi e immaturi  
contenenti endospore

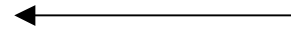
### **Prototheca wickerhamii:**

cellule **rotonde** di varia taglia,  
sporangi maturi e immaturi  
contenenti endospore





Crescita su A. sangue



Crescita su PIA →



## Identificazione della specie:

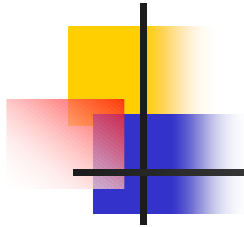


**Le colonie cresciute sul PIA o AS dopo 24 h a 30°C  
sono identificate con Api 20 C AUX.**

## Interpretazione del risultato

specie	glucosio	glicerolo	trealosio
<b>P.zoopfii</b>	+	+	-
<b>P.wickerhamii</b>	+	+	+

# Ricerca di micoplasmi



I micoplasmi sono batteri appartenenti alla famiglia dei *Mycoplasmatales*. Aerobi obbligati o aerobi/anaerobi facoltativi comunque crescono bene in atmosfera modificata con il 5-10% di CO<sub>2</sub> su terreni specifici. Il diametro è di 0,2-0,3 µm ed hanno la particolarità di non essere dotati di parete cellulare.

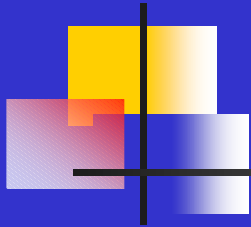
Responsabili di mastiti sia dei bovini che degli ovini.

Negli ovini il principale agente eziologico è il *M.agalactiae*, responsabile dell' "Agalassia Contagiosa".

Nei bovini viene frequentemente isolato *M.bovis*.



# IMMAGINI : MICOPLASMI







# Procedura di isolamento

---

- Seminare il latte sospetto “agalattico” in terreni specifici: Hay Flyck Modificato (HFM) broth e agar.
- Incubare in termostato a 37°C il brodo in aerobiosi e l’agar in CO<sup>2</sup> per 2-3 gg.
- Leggere le piastre al microscopio prima con obiettivo 4x e una volta individuate le colonie sospette con obiettivo 20x per evidenziare le caratteristiche colonie a “uovo fritto”.
- In caso di mancata crescita dopo 3-7 giorni allestire una subcoltura.
- *L’esito negativo si può confermare fino a 21 giorni dalla prima semina*
- *N.B. Se il brodo risulta inquinato, filtrare sterilmente con un filtro da 0.45 micron in un nuovo brodo e seminare una nuova piastrina.*



# Metodi biomolecolari: PCR

---

- PCR di specie per la determinazione di *M. agalactiae* e *M. bovis*
- amplificazione simultanea di un frammento di 176 bp e di un frammento di 317 bp appartenenti al gene *ma-mp81* che codifica per una lipoproteina di membrana (P80) specie-specifica appartenente a *M. agalactiae* (Multiplex PCR)
- Amplificazione di un frammento di 447 bp appartenente al gene *mb-mp81* che codifica per una lipoproteina di membrana (P80) specie-specifica appartenente a *M. bovis*.

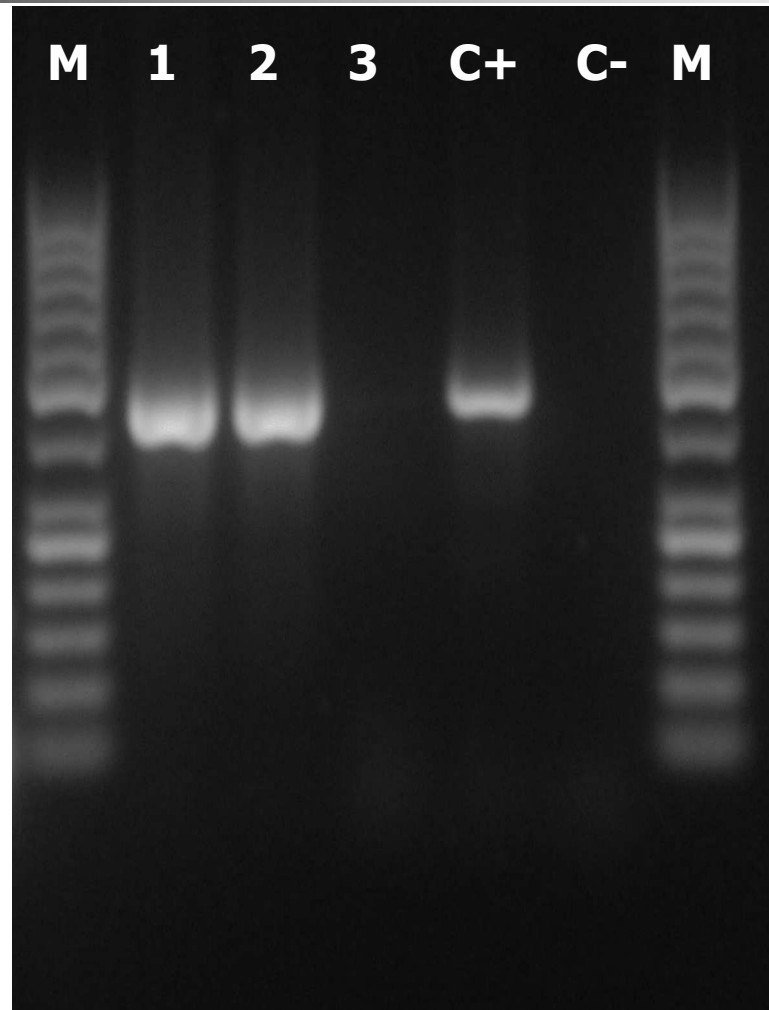


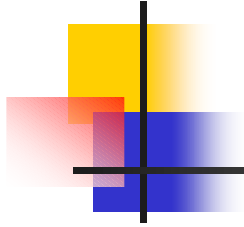
# Metodi biomolecolari: applicazioni

---

- determinazione rapida di *M. agalactiae* e *M. bovis* da campioni di latte: estrazione del DNA genomico a partire dalle brodocolture di prearricchimento dopo 24-48 h di incubazione mediante kit di estrazione
- identificazione di specie delle colonie tipiche di *Mycoplasma spp* isolate a seguito dell'esame batteriologico

# Metodi biomolecolari: PCR



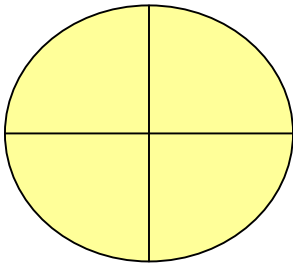


**RICERCA CONTAGIOSI :  
S.coagulasi positivi e  
Str. agalactiae**

## RICERCA CONTAGIOSI : S.coagulasi positivi e Str. agalactiae

### S.coagulasi positivi

BP-RPF  
24 h a 37 ° C Lettura

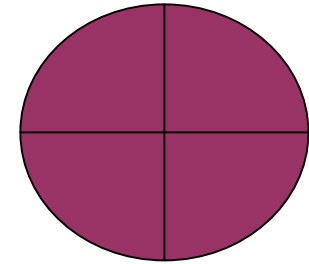
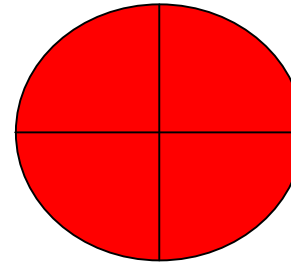


A.sangue da colonie SCP  
24h a 37 ° C Lettura

eventuale Api Staph ed ABG.  
24h a 37 ° C Lettura

Tempi di identificazione: 72 h

### Str.agalactiae



CAMP test,\* ATE, A.sangue  
24 h 37 ° C Lettura

Se CAMP+ ATE -, eseguire  
tipizzazione con API STREP ed  
eventuale ABG.

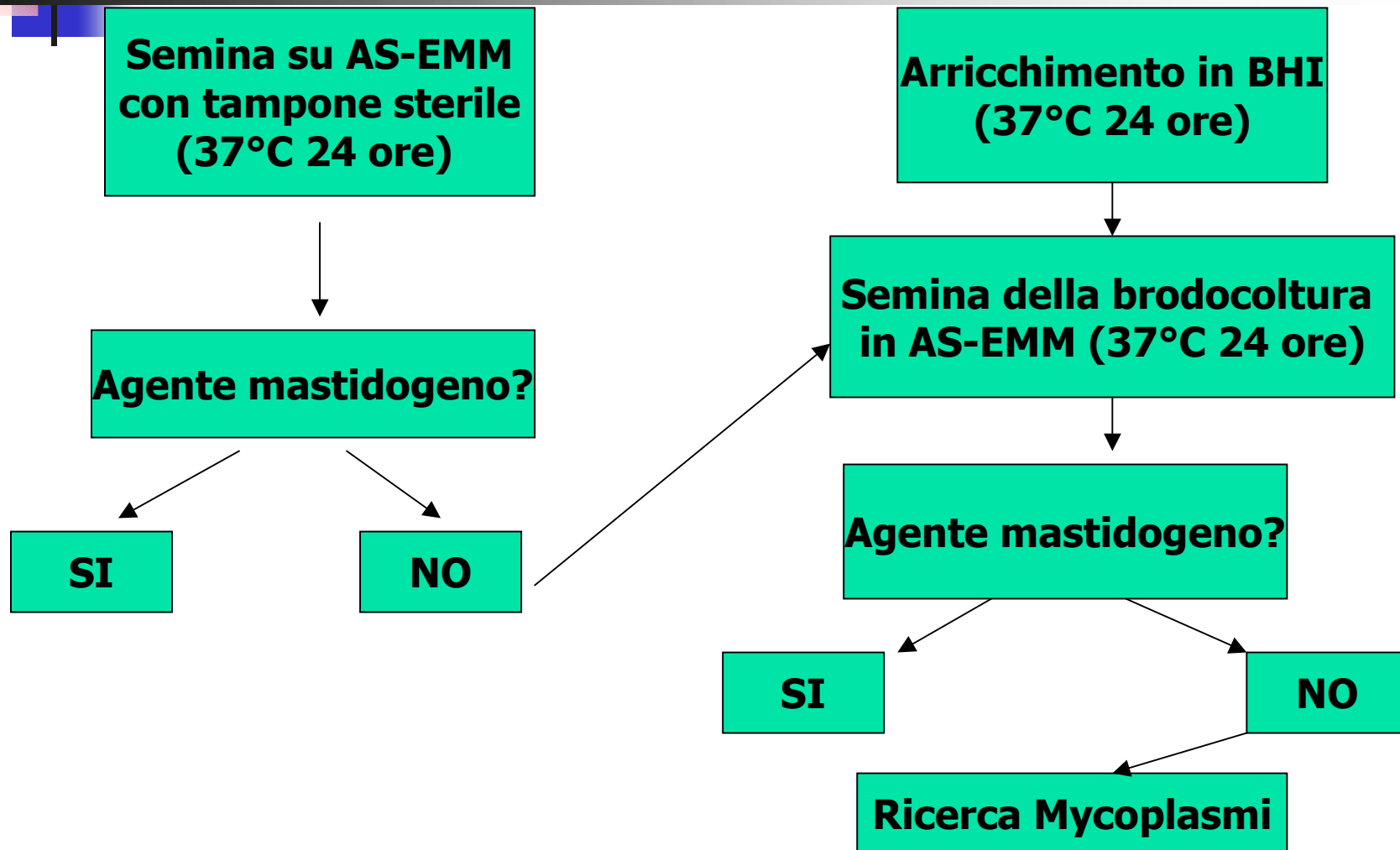
24 h 37 ° C Lettura

\**Alcuni ceppi di S.uberis possono  
essere **CAMP+***

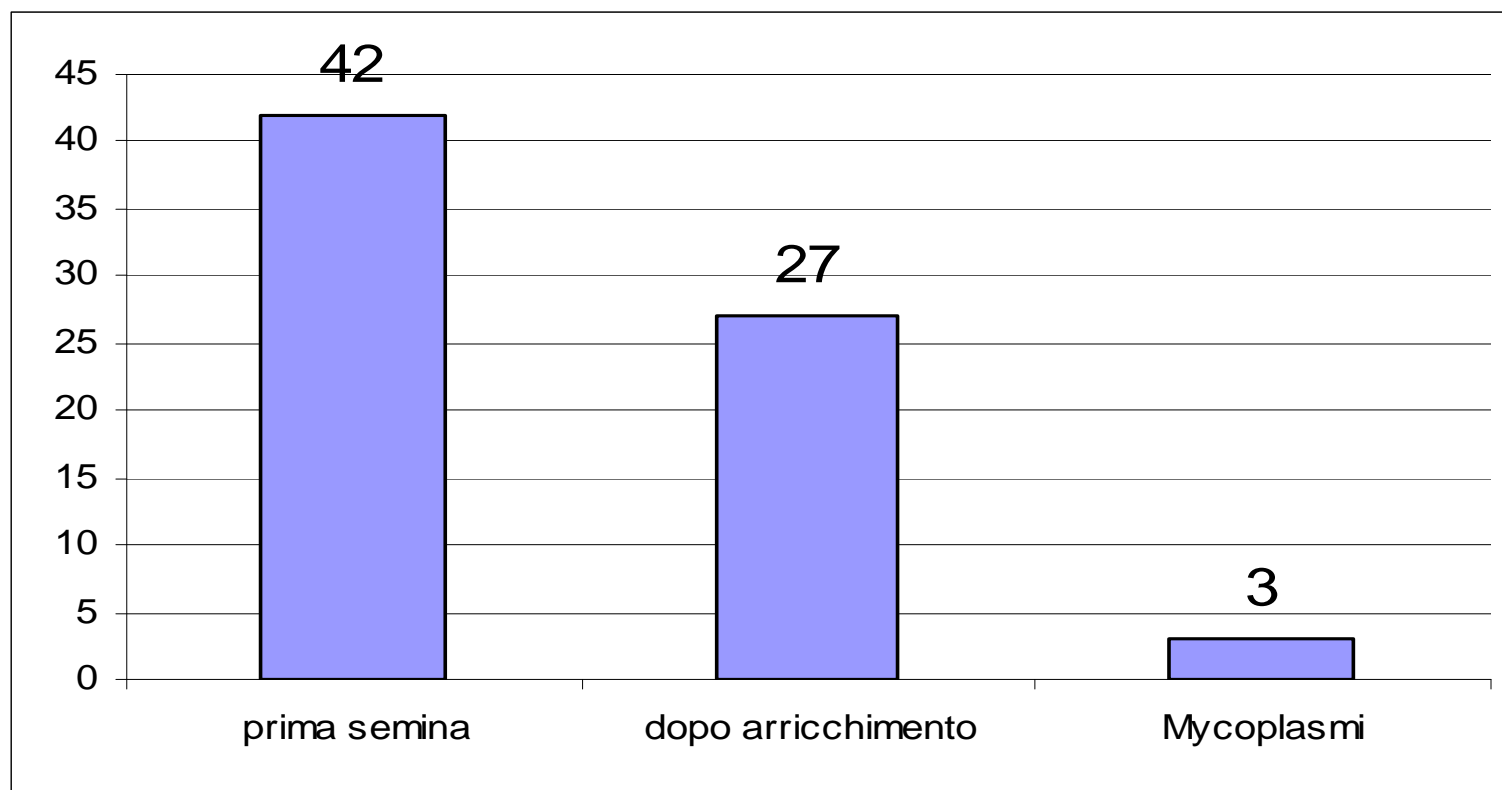
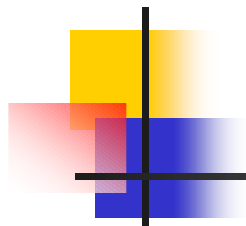
Tempi di identificazione: 48 h

PROCEDURE  
RAPIDE

# Gestione del campione alterato

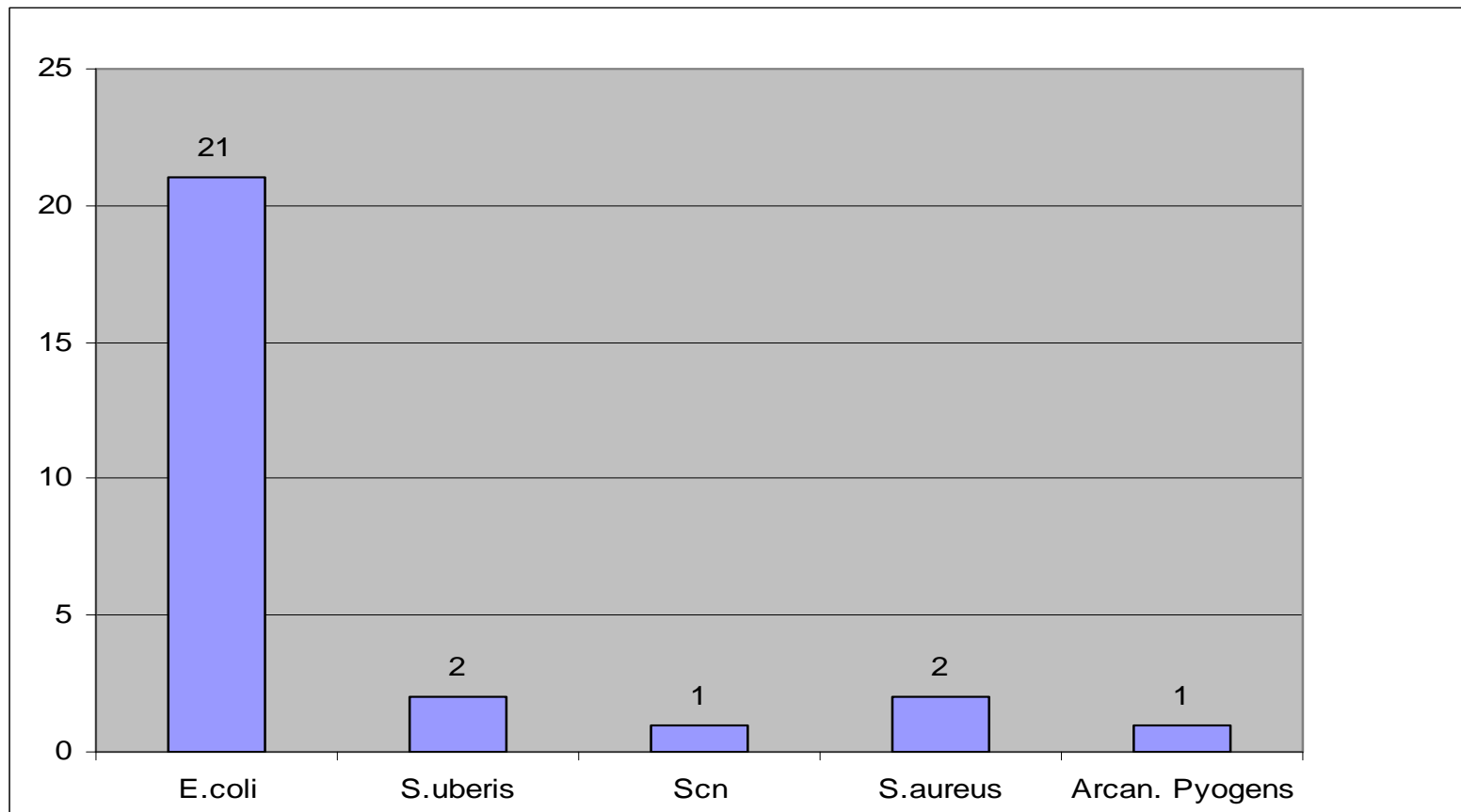
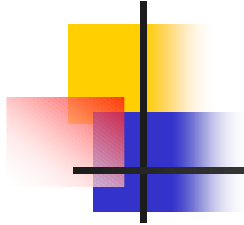


# Risultati di 72 campioni alterati pervenuti da Marzo a Agosto 2011





# Agenti mastidogeni isolati dopo arricchimento in BHI





# Esame batteriologico su campioni di massa

---

- **Quando eseguirlo:**

- quando non si hanno informazioni di tipo microbiologico dell'azienda
- quando si vuole predisporre un piano di monitoraggio e controllo aziendale

- **Quali informazioni si possono ottenere?**

- Principalmente valutare la presenza di agenti contagiosi quali *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*
- La ricerca di tipo quantitativo può fornire indicazioni, approssimative, circa il livello di infezione presente in azienda.



# COME PROCEDERE

---

- **Ricerca S.aureus:**

- allestire due diluizioni da ogni campione:
  - -1 e -2
- 1 cc di ogni diluizione è seminato per inclusione con terreno BPRPF. Incubare a 37 ° C per 24 ore

- **Ricerca St.agalactiae:**

- allestire una diluizione da ogni campione: -1
- 0,1 cc di latte tal quale e 0,1 cc della diluizione alla -1 sono seminati per spatolamento su agar sangue e EMM. Incubare a 37 °C per 24 ore

**Ricerca Prototheca:** seminare 0.1cc di latte per spatolamento su terreno PIA incubare a 30°C per 72 ore



# Circuiti interlaboratorio

---

## **Veterinary Laboratories Agency (VLA)**

- Arrivo semestrale nella DO CIP di 3 simulati di latte mastitico bovino
- Ricostituzione del simulato con 2.5 ml di brodo nutritivo
- Semina nei comuni terreni di coltura per la diagnosi delle mastiti
- Invio dei risultati e confronto con quelli attesi

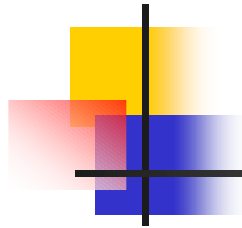


# Circuiti interlaboratori

---

## **IZSLT**

- 2 campioni di latte UHT contaminati artificialmente con agenti batterici mastidogeni conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$
- Invio annuale alle sezioni territoriali che eseguono diagnosi di mastiti (8 sezioni)
- Registrazione dei risultati ottenuti
- Invio del report finale



# Circuiti interlaboratori

## Invio 2009

Risultato atteso: campione 1 - S.aureus  
campione 2 - S.uberis

Risultati delle sezioni: identificazioni conformi nel 100%

## Invio 2010

Risultato atteso: campione 1 – S.agalactiae+ **Arcanob. pyogenes**  
campione 2 – S.marcescens + E.coli emolitico

	<b>S.agalactiae</b>	<b>A.pyogenes</b>	<b>S.marcescens</b>	<b>E.coli emolitico</b>
<u>Risultati conformi</u>	100%	12,5%	62,5%	37,5%



# GESTIONE CEPPOTECA

---

Conservazione ceppi dal 2005 ad oggi  
circa 2000 isolati batterici di campo  
conservati in Microbank a  $-70^{\circ}\text{C}$

Ceppoteca annuale:

- caratteristiche microrganismo
- tipologia campione e specie animale
- dati aziendali
- antibiogramma
- eventuale PCR

# CONSERVAZIONE CEPPI

## **Microbank:**

è una provetta sterile contenente sfere porose che fungono da supporto per i microrganismi.

Conservazione ottimale

-70°C

Tra -20° e -70°C





# CONSERVAZIONE CEPPI

## **Cryotube con Glicerolo:**

provetta sterile contenente  
brodosiero + glicerolo al 20%

Conservazione ceppi più “delicati” come:

Pasteurella spp

Corynebatteri

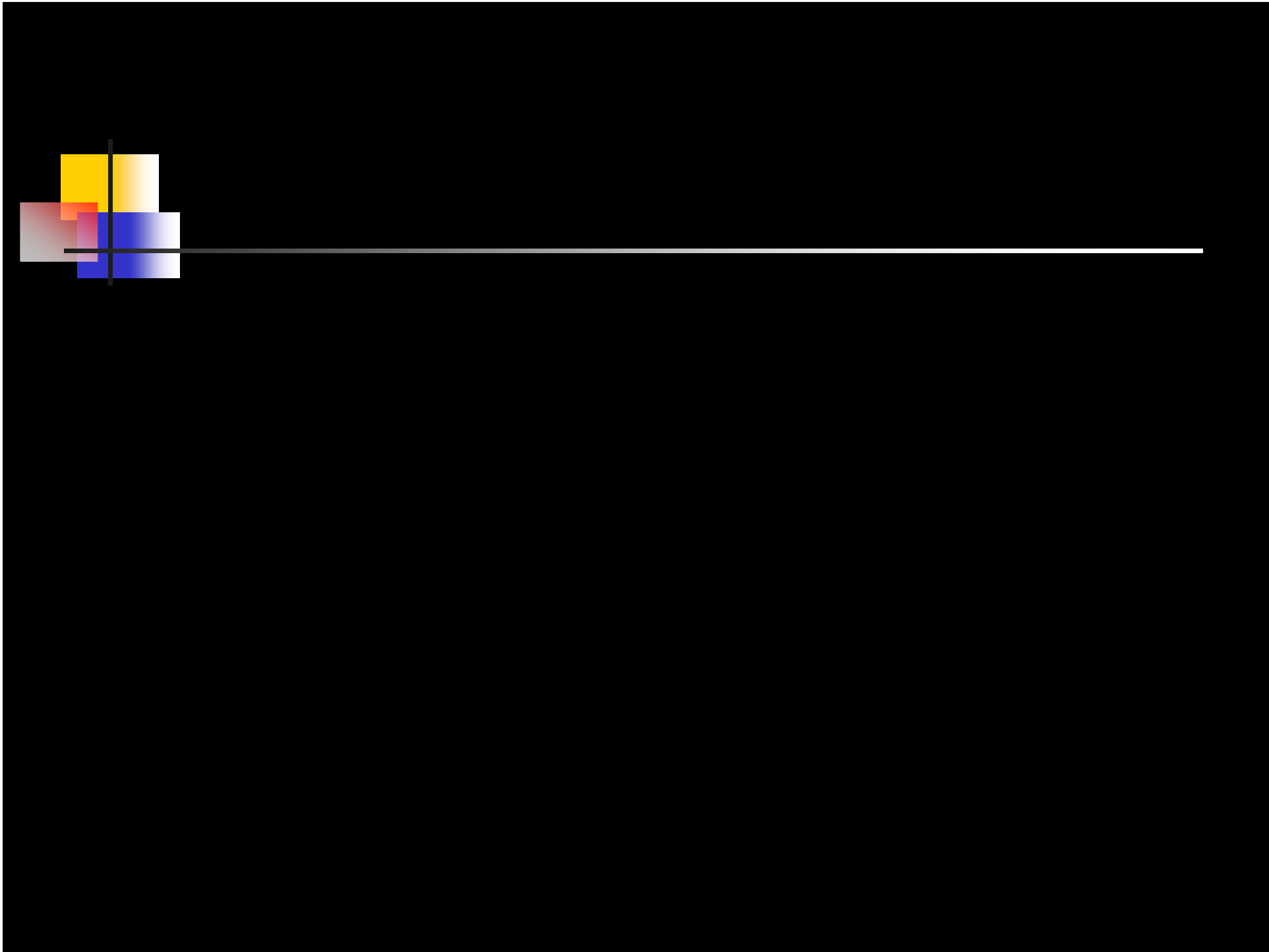
Prototheca spp

S.agalactiae



**GRAZIE PER L'ATTENZIONE !!!!**





# Agar Sangue Biomerieux



# Agar Sangue

altre ditte....

